

乳牛におけるルーメンマット構造の定量とその形成に関する研究

泉 賢 一*

Studies on quantitative determination and formation of the ruminal mat in dairy cows

Kenichi IZUMI*
(Accepted 8 July 2016)

目 次

1. 緒言	3.2.2. 材料と方法
1.1. 研究の背景と目的	3.2.3. 結果
1.2. 従来の研究	3.2.4. 考察
1.2.1. ルーメン内容物の階層構造	4. 非粗飼料繊維源の給与とルーメンマット形成およびその機能との関係
1.2.2. ルーメンマットの機能	4.1. 非粗飼料繊維源としてのアン粕給与がルーメンマット性状と乳生産に及ぼす影響 (試験3)
1.2.3. ルーメンマット物性の定量化	4.1.1. 目的
1.2.4. peNDF理論と乳牛の生理反応およびルーメンマット形成の関連	4.1.2. 材料と方法
1.2.5. 非粗飼料繊維源とルーメンマット形成の関連	4.1.3. 結果
2. ルーメンマットの定量方法の検討	4.1.4. 考察
2.1. 目的	4.2. ルーメンマット形成と高タンパク醸造副産物給与の関係 (試験4)
2.2. 土壌の貫入抵抗測定法	4.2.1. 目的
2.3. ルーメン内貫入抵抗測定装置の開発	4.2.2. 材料と方法
2.4. ルーメン内貫入抵抗測定手順および解析方法	4.2.3. 結果
2.5. ルーメンマット定量法の検証	4.2.4. 考察
2.5.1. 目的	4.3. 非粗飼料繊維源および併給牧草種がルーメンマット形成に及ぼす影響 (試験5)
2.5.2. 材料と方法	4.3.1. 目的
2.5.3. 結果および考察	4.3.2. 材料と方法
3. 飼料中 peNDF 含量の違いがルーメンマット形成に及ぼす影響	4.3.3. 結果
3.1. 飼料の粒度がルーメンマット形成に及ぼす影響 (試験1)	4.3.4. 考察
3.1.1. 目的	5. 総合考察
3.1.2. 材料と方法	5.1. ルーメンマット定量法の確立
3.1.3. 結果	5.2. ルーメンマットの物理的性状とその機能
3.1.4. 考察	5.3. peNDF とルーメンマット形成
3.2. 給与飼料中粗濃比の違いとルーメンマット性状の関係 (試験2)	5.4. ルーメンマット機能を応用した泌乳牛繊維要求量算出モデルの提案
3.2.1. 目的	6. 結論
	要約
	謝辞

* 酪農学園大学農食環境学群

College of Agriculture, Food and Environment Sciences, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido, 069-8501, Japan

本稿は北海道大学審査学位論文である。

参考文献

Summary

1. 緒 言

1.1. 研究の背景と目的

近年、乳牛の遺伝的改良にともなう高能力化は著しい。我が国の経産牛1頭あたり乳量の全国平均は2008年に8,012 kgと初めて8,000 kgを越え、2012年には8,154 kgと過去最高値を記録している(農林水産省 畜産統計および牛乳乳製品統計)。さらに乳用牛群能力検定(乳用牛群検定全国協議会, 2013)によるとホルスタイン種の305日検定成績は9,294 kgと10,000 kgに迫ろうとしている。一方で、過去10年間の乳量の増加量でみると2003年~2012年ではわずか193 kgしか増加しておらず、それ以前の10年間の増加量869 kgと比べて著しく低い(乳用牛群検定全国協議会, 2013)。このような増加量の違いは過去および現在の酪農情勢を反映している。

昭和から平成にかけての時代は、人工授精や牛群検定の普及に伴い急速に遺伝的改良が進む一方で、海外からの安い穀物を大量に利用する飼養体系が定着した。乳牛の高泌乳化は生産者の所得向上をもたらしたが、それと引き替えに飼料自給率は低下を続けた。2011年度の飼料自給率は26%であり(農林水産省, 2013)、畜産飼料の7割以上を海外に依存する事態となっている。

一方、約10年ほど前からの化石燃料逼迫に伴う国際的なバイオエタノール生産の増加、中国をはじめとした新興国での畜産物生産の急伸、米国やオーストラリアといった主要穀物生産国を襲う大規模な干ばつなどによって、国際穀物相場は変動を続けている。このような情勢の変化が、輸入穀物飼料に依存した我が国の酪農経営を圧迫し、乳生産量の伸び率鈍化の主因となった。

安価な穀物飼料の入手が困難になった現代以降は酪農生産システムの転換期であり、粗飼料、食品製造副産物あるいはこれまで廃棄されてきた未利用資源といった国産自給飼料を最大限に活用した持続的酪農生産システムへの回帰が求められている(阿部, 2000; 名久井, 2008)。土地を耕し、牧草やトウモロコシといった自給粗飼料を作り、あるいは人々の口に入らない食品製造副産物を利用して牛を飼い、乳を搾り、糞尿は土地に還元する、このような持続可能な循環型酪農を再評価しなくてはならない。

循環型酪農を目指し高泌乳牛を穀物多給から自給飼料多給の飼養体系に転換する上で問題となるのは、いかにして乳生産に要するエネルギー要求量を

充足させるかということである。高泌乳牛がその要求量を満たすためには多量の乾物を摂取しなければならないが、ルーメンの容積には限界があり、内容物がルーメン容積の最大値に到達すると採食は停止してしまう。このため高泌乳牛の乾物採食量(DMI)はルーメンの物理的な充満で規定されるという考えが一般的である(Okamoto *et al.*, 1990; Dado and Allen, 1995; Allen, 1996)。ルーメン内の充満で中断した採食を再開させるためには、その充満を解消し、飼料の入り込む空隙を生み出さなくてはならない。

反芻家畜のルーメン内部は気体層(ガス層)、固体および液体からなり、固体と液体をあわせたものを内容物という。ガス層は背嚢上部に存在し、その下に内容物が存在する。内容物は階層構造を有しており、固体のうち繊維などの比重が軽く粒度の大きな飼料片はルーメン背嚢部から中心部にかけて堅いマット状に詰まった固層を形成しており、腹嚢部には比重の重い小飼料片や液体からなる液層が存在する(岡本, 1991)。この堅く詰まった固層部分は一般にraftあるいはルーメンマットと称されており、ルーメンの充満に関与していると考えられている(Van Soest, 1994)。

牛は本来草食動物であり繊維質を与えてはいけない。繊維源としては粗飼料と食品製造副産物や農産副産物に含まれる非粗飼料繊維源が一般的であるが、粗飼料由来の繊維は容積が大きい上に発酵速度が遅いので、多給しすぎるとルーメン内部に長時間滞留し、結果としてDMIやエネルギー摂取量を抑制してしまう。一方で、非粗飼料繊維源は中性デタージェント繊維(NDF)で表される一般的な繊維の他にグルカン、フルクタンおよびペクチンといった可溶性繊維を豊富に含み、その粒度も細かいものが多い。したがって、ルーメン内の発酵速度も速く、繊維源としてのみならず濃厚飼料の代替エネルギー源としても利用される。しかし、繊維源の大半を、粗剛な粗飼料から発酵速度の速い非粗飼料繊維源に置き換えると、ルーメン内容物の階層構造が維持できず、ルーメンマットが形成されない可能性が指摘されている(Mertens, 2000)。

そのうえ、食品製造副産物にはビートパルプや豆類の皮に代表される高繊維含量副産物から、ビール粕や酒粕のように高タンパク質含量であるが繊維含量はそれほど高くない醸造副産物に至るまで、その種類は多岐にわたる。そのような非粗飼料繊維源のタイプの違いによってもルーメン内容物の階層構造は影響を受けると予測される。

ルーメンマットの機能としては、ルーメン内の充

満に伴う採食の調節に加え、反芻の誘発と小飼料片をマット内へ取り込むことによる発酵促進があると考えられている (Van Soest, 1994; Zebeli *et al.*, 2012)。ルーメンマットがルーメン背囊粘膜上皮や筋柱に存在する受容器に対して接触刺激をもたらすことで反芻が発現する (Iggo and Leek, 1970; Baumont *et al.*, 1990; Dado and Allen, 1995)。ルーメンマットの接触による機械受容器への刺激によって、第二胃から始まりルーメン後方へと続いていく収縮運動 (A運動) を誘起し、反芻の第一段階である吐き戻しへと続く一連の反射を引き起こす (山崎, 1998)。

反芻の主要な役割は飼料の微細化とルーメン内への唾液の流入である。ルーメン内飼料片がルーメンから下部消化管へ流出するためには 1.18 mm 以下まで粒度縮小する必要があり (Poppi *et al.*, 1980)、大飼料片の微細化に対する反芻時咀嚼の寄与率は 50% に達すると報告されている (McLeod and Minson, 1988)。繊維質のように遅発酵性の飼料片は、反芻時咀嚼によって通過可能なサイズまで微細化される過程により、微生物の付着面積が増大し、その結果発酵が促進する。また、濃厚飼料や微細化された繊維のような小飼料片はルーメンマットに取り込まれることでルーメンからの通過が遅延し、消化率が向上すると考えられている (Tafaj *et al.*, 2004)。このような現象は filter bed 効果と呼ばれ、ルーメンマット機能の一部であると認識されている (Zebeli *et al.*, 2012)。

ルーメン内での飼料の発酵によって揮発性脂肪酸 (VFA) などの有機酸が大量に生成するが、これらの酸が除去されずに蓄積してしまうとルーメン pH が低下し、亜急性ルーメンアシドーシス (SARA) の発生リスクが高まる (Krause and Oetzel, 2006)。VFA はルーメン壁から吸収されるか唾液中に含まれる重炭酸塩による中和、重炭酸、リン酸および酢酸等の緩衝物質による緩衝作用、あるいはルーメン壁からの吸収や流出によって過度の濃度および酸度上昇が抑えられる (岡本, 1979)。しかし、ルーメン絨毛が未発達であったり唾液の流量が少なければルーメン pH は低下してしまう。唾液の流量は休息時や採食時よりも反芻時が多いので (Balch, 1958; Bailey and Balch, 1961; Beauchemin and Eriksen, 2008)、反芻時間が延びるほどルーメンへの唾液流入量も増加し、ルーメン pH を適正範囲に維持するのに役立っている (Okamoto, 1976)。したがって、SARA を予防しルーメン環境を適正に保つためには、ルーメンマットの形成とそれに伴う十分な反芻

時間の確保が必要となる。

このように繊維質はルーメンマットを形成し、反芻活動を活性化する反面、過剰に給与するとルーメン内部での長時間滞留によって DMI を減少させてしまうので、乳牛への適切な繊維給与量の検討がなされてきた (Sudweeks *et al.*, 1981; Mertens, 1997)。

反芻誘発刺激には飼料粒度と飼料中繊維含量が関連していることから、Mertens (1997) は物理的有効繊維 (physically effective NDF : peNDF) という概念を提唱した。peNDF とは飼料中 NDF 含量と物理的有効度 (physical effectiveness factor : pef) の積で表されることから、飼料の化学的要素 (NDF) と物理的構造 (粒度) を組み合わせた指標となっている (Allen, 1997; Mertens, 1997)。pef は 0 から 1 までの範囲であり、0 とは粉碎濃厚飼料由来の NDF のように物理的有効度が一切ないことを意味し、pef が 1 とは荒く切断した乾草由来 NDF のように物理的有効度が最大限であることを意味する。pef が大きいほどルーメン内容物の階層化、咀嚼活動およびルーメン内の緩衝能が促進されると想定されている (Allen, 1997; Mertens, 1997)。

peNDF 含量は簡便に測定でき、飼料の物理的有効度を客観的に把握できるので、乳牛の飼料設計に組み込むことによって、繊維給与量の適正値を決定する有効な手段になる可能性を秘めている (Zebeli *et al.*, 2012)。繊維あるいは peNDF の適正給与量を定めることは、高泌乳牛のように大量の穀類を摂取した場合の SARA 発症リスクを低減するうえで重要である。

peNDF は繊維含量や飼料片粒度を考慮した指標であるので、ルーメンマットの形成に関与していると考えられている (Mertens, 1997)。peNDF を適正量含む飼料を摂取した乳牛のルーメン内容物は階層化し、ルーメンマットと非マット層の二層に分かれると認識されている。peNDF はルーメンマット形成に関連があると認識されているものの、これを証明した研究はない。ルーメンマットの性状については一部の研究者が測定を試みているに過ぎず (Hidari, 1979, 1981; Welch, 1982)、マットの階層構造を把握した研究はこれまでに存在しない。このため、peNDF がルーメンマット形成に関連するという一般的認識は実は仮説に過ぎない。ルーメン内容物は階層構造を有しており、ルーメン背囊部に 'raft' (=ルーメンマット) が浮かんでいるという古くから定着した概念 (Kennedy and Murphy, 1988) を検証するためには、ルーメンマットとその下側に

位置する液層部を分離し、それらの二層性を把握しなければならないが、マットの厚さや非マット層の深さを検討した研究はこれまで行われてこなかった。

peNDF 摂取量の増加によってルーメン内環境が健康に保たれるということは、peNDF がルーメンマット形成と関連のある証拠であるかもしれない。一方で、最近の総説 (Zebeli *et al.*, 2012) では飼料中 peNDF 含量や peNDF 摂取量と乳牛の咀嚼活動、ルーメン pH あるいは乳生産といった反応の間にばらつきがあることが指摘されている。これは飼料によってルーメンマットの形成状況が異なることを反映しているのかもしれない。繊維源として粗飼料を用いる場合と綿実殻や大豆皮のような食品製造副産物を用いる場合ではルーメン生理に及ぼす peNDF の効果が異なる可能性がある (Zebeli *et al.*, 2012)。

以上のように、乳牛への繊維源の適正給与量を求めるために peNDF は優れた指標であると考えられるが、「peNDF 摂取→ルーメンマットの形成→反芻誘起→ルーメン環境の適正化」といった一連の流れにおける、ルーメンマットの形成とその機能に関して詳細な検討がなされないまま用いられてきた。ルーメンマット形成にとって飼料中 peNDF 含量がどの程度関与しているのか、またルーメンマットは反芻活動を活発化することでルーメン pH を適正に保つ機能を有するのか、これらの未解決な課題を検証することは高泌乳牛の繊維要求量を定める上で不可欠である。そのためには、これまで注目されてきたものの定量化されてこなかったルーメンマットの構造を把握しなくてはならない。

そこで本研究ではルーメンマット構造の実態を把握し、飼料の違いがルーメンマット形成に及ぼす影響を明確にすることを目的とし、以下の3点を検討課題とした。

1. ルーメンマットの立体構造の定量法確立
2. 飼料中 peNDF 含量とルーメンマット形成の関係
3. 粗飼料由来繊維源および非粗飼料繊維源の給与とルーメンマット形成の関係

1.2. 従来の研究

1.2.1. ルーメン内容物の階層構造

反芻動物の最大の特徴は、連続発酵槽であるルーメンが発達していることである。ルーメンは成牛では 150 L にも達する巨大な器官である (Forbes, 1988)。内容物には多種多様な微生物が生息しており

(Ogimoto and Imai, 1981)、反芻動物はそれら微生物による発酵産物を主要なエネルギー源として利用している。ルーメン微生物には繊維分解酵素を産生する種が多く存在するので (Bowman and Firkins, 1993)、反芻動物は人間が消化できない草資源をエネルギー源として生産活動を行うことが可能である。

ルーメン内部はガス層と内容物に分けられる。背囊部の上部空間には主に二酸化炭素とメタンからなるガス層が位置する (岡本, 1991)。ガス層下部に位置する内容物はルーメン内部で均一に存在しているわけではなく、ルーメン背囊から腹囊に向かって階層構造を有するといわれている (岡本, 1991)。

飼料摂取によって新規にルーメンに流入した飼料片は第二胃内に浮かび、第二胃収縮によってルーメン背囊に押し出される (Wyburn, 1980)。牛では摂取されたばかりの飼料片はルーメン背囊に送りこまれ、ルーメン腹囊に沈んだ既に存在していた飼料片は第二胃に送られる (Evans *et al.*, 1973)。この新規に取り込まれた粒子径が大きく、比重の軽い飼料片はルーメン背囊部で堅く絡まり合ってルーメンマットを形成する (Van Soest, 1994)。ルーメンマットの構造は飼料の影響を強く受けると考えられており、低品質な粗飼料主体の給与下では厚く、堅いマットとなり、高品質な飼料が多くなるにつれマットの厚みが減じ、ペレットや濃厚飼料のみの給与ではマットは消失すると考えられている (Welch, 1982)。

これまでにルーメン内の階層構造を把握するためにつかの取り組みがなされてきた。Deswysen and Ehrlein (1981) は、めん羊に硫酸バリウムでコーティングしたイネ科サイレージを摂取させて嚙下食塊と内容物の階層化についてモニタリングした (図 1-1)。その結果、比重の軽いサイレージ食塊は噴門部に貯留することなく、第二胃および前筋柱の収縮によって速やかに背囊あるいは後腹盲囊に送られることが確認された。

Martin *et al.* (1999) はルーメン内の3つの異なる部位から内容物を採取し、固層付着微生物の繊維分解活性を調べている。その結果、ルーメン内容物の階層構造は給与する飼料によって変化し、その変化に応じて微生物の分布も変動することを認めた。微生物相が変動すると繊維分解活性も変化することから、内容物の階層構造は飼料の消化や通過にも影響を及ぼすと推測される。

Tafaj *et al.* (2001, 2004) はルーメン内容物採取器具を考案し (図 1-2)、異なる深度の内容物を採取し、その性状を調べている。ルーメン内容物を上端の表層から 5-10 cm および 25-35 cm の深さ、お

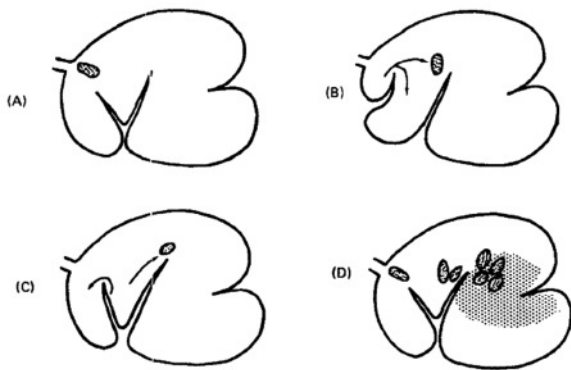


Figure 1-1 Movement of food boli from the reticulum into the rumen. (A) Food bolus in the reticulum immediately after swallowing; (B) displacement of the bolus from the reticulum into the cranial sac of the rumen by the diphasic reticular contractions; (C) upwards movement of the bolus over the cranial pillar and backflow of fluid contents into the relaxing reticulum by the contraction of the cranial sac of the rumen; (D) accumulation of coarse food particles in the dorsal rumen, in the middle of the rumen and in the caudoventral blind sac of the rumen (Deswysen and Ehrlein, 1981).

よび腹囊の底から5-10 cm 上側の3層に分けて採取し、布袋に入れて手で搾った結果、上層部内容物は袋内に残る固体割合が高く、下側になるほど液体割合が多くなった。さらに、pH、VFA および重炭酸塩濃度などの発酵性状も上層、中層および下層内容物でそれぞれ異なることが明らかとなった。

これらの研究は、ルーメン内容物の階層を明確に示しており、ルーメンマットが存在することを示唆しているが、ルーメンマットとその下層に位置する液層（非マット層）との境界については論じてはいない。いくつかの研究では (Martin *et al.*, 1999; Tafaj *et al.*, 2001; Tafaj *et al.*, 2004), ルーメンの背囊側から中心部にかけて異なる深度でルーメン内容物の性状を検討しているが、それらの結果がルーメンマットの情報なのか、その下側の非マット層までを含んだ情報なのかを区別することはできない。Tafaj *et al.* (2004) は、自らの装置 (図1-2) のサンプリング精度に問題があることを認め、ルーメン内の階層構造を把握するための新たな測定法の開発を求めている。そのためには、ルーメンマットと非マット層の境界を定める必要がある。

1.2.2. ルーメンマットの機能

ルーメンマットは、ルーメン内飼料片の滞留時間の延長とそれに伴う消化の促進 (Poppi *et al.*, 1980; Poppi *et al.*, 2001) や反芻の誘起 (Baumont *et al.*, 1990) といったように、生産性に直接的に作用する機能を持つと考えられている。さらに、ルーメンマット自体が飼料片の絡まり合った巨大な塊であり、その容積がルーメン内部空間を占有することから、採食量の物理的調節にも重要な役割を果たしているとの認識が一般的である (Jarrige *et al.*, 1986; Dado and Allen, 1995; Forbes, 1995)。

Poppi *et al.* (2001) はバミューダグラスの茎葉をマーカーとして育成雌牛のルーメン背囊に挿入することで、飼料片がルーメン背囊から離脱するまでの速度、ルーメン腹囊から背囊へ飼料片が再度取り込まれる速度、およびルーメン腹囊から第三胃以降へ流出する速度を数学的モデルを用いて算出した。モデルの解析結果から、ルーメン背囊に取り込まれた飼料片はそこから離脱するまでに長時間を要するが、ひとたび腹囊に移行すると速やかに第三胃へ流出してしまい、再び背囊へ戻ることは困難であるという結論が得られた。さらに、Tafaj *et al.* (2004) は、ルーメン内容物中の乾物と液体の比率は上層部の方が中層部や下層部よりも高く、内容物乾物はルーメン上層部に偏って存在することを報告してい

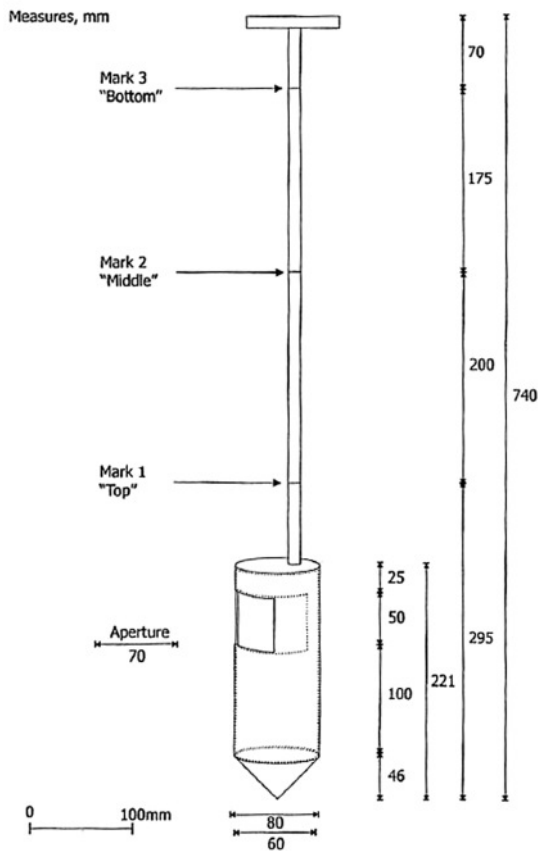


Figure 1-2 Sampling device for dairy cow rumen digesta (Tafaj *et al.* 2001).

る。

これらの結果は filter bed 効果 (Kennedy and Murphy, 1988) と称されるルーメンマット内部への飼料片取り込み機能の存在を示唆するものである。穀物は一般に比重が重いので (Siciliano-Jones and Murphy, 1991), 未発達のマット層では filter bed 効果が機能せず, 速やかに腹嚢部へと沈み, 未消化のまま下部消化管へと流出してしまうと考えられている (Faichney, 1980)。このようにルーメンマットの filter bed 効果については広く認識されているものの (Callison *et al.*, 2001), これまでルーメンマットを含むルーメン内の階層構造の実態把握が実現していなかったために, 定量的に検討されたことはなかった。

ルーメンマットはルーメン背嚢壁に存在する機械受容器を刺激することによって反芻を誘引すると推測されている (Iggo and Leek, 1970; Colvin *et al.*, 1978)。Colvin *et al.* (1978) によると, 葉部割合の高い柔軟な開花前アルファルファ生草先端部を給与したときよりも, 堅いエン麦乾草を給与したときの方がルーメンの収縮が強いことが確認されている。Baumont *et al.* (1990) はめん羊のルーメン背嚢に浮かぶように直方体のポリスチレンキューブを多数投入したところ反芻時の胃運動が活発化したことから, 液層に浮遊するルーメンマットによって背嚢面に加えられる物理的な刺激が中枢に集積し, 反芻の開始が促されると考察した。

このようにルーメンマットの機能は乳牛の生産性に対して大きな役割を担っており, また飼料の特性によってその働きも変動すると考えられている。しかし, このように重要な機能を有するルーメンマッ

トであるが, その構造や形成状況の定量化を試みた研究は一部に限られる。

1.2.3. ルーメンマット物性の定量化

ルーメンマット物性の定量化についての試みはいくつかの研究で試みられているにすぎない。Hidari (1979, 1981) は, めん羊のルーメン内容物を攪拌する際に生じる抵抗から堅さを測定し, 採食行動の日内周期との関係を考察することにより, ルーメンマットの物理性を評価することが可能であると報告した (図 1-3)。こうして測定した抵抗値はルーメン内容物乾物量と高い相関があり, 採食終了時には高くなり, 飲水や反芻によって堅さは低下した。この事実は採食終了に対して, 堅さで表される内容物の物理的性状が強い影響を及ぼしていることを示唆している (左, 1979)。この方法は内容物を取り出すことなく内容物の堅さを測定できる点で優れていたが, ルーメンカニューレに装着するトルクメーターはシャフトの長さが 70 mm であるので, 堅さの測定はルーメン内容物の左方上部表層に限定されており, 飼料片の取り込みや滞留などに影響するルーメンマットの厚さを計測することは不可能であった。

ルーメンの底部に沈めた小さな重りをルーメンカニューレを介して牛体外部につり下げた大きな重りに結びつけ, 大きな重りで小さな重りを引き上げる際の表層まで浮上するまでの時間や速度 (ascension rate, cm/min) でルーメンマットの堅さを評価した研究もある (Welch, 1982; Vaage and Milligan, 1993) (図 1-4)。Welch (1982) はタイプの異なる飼料で浮上時間を計測したところ, イネ科乾草: 300-900 秒, コーンサイレージ: 90-200 秒, アルファル

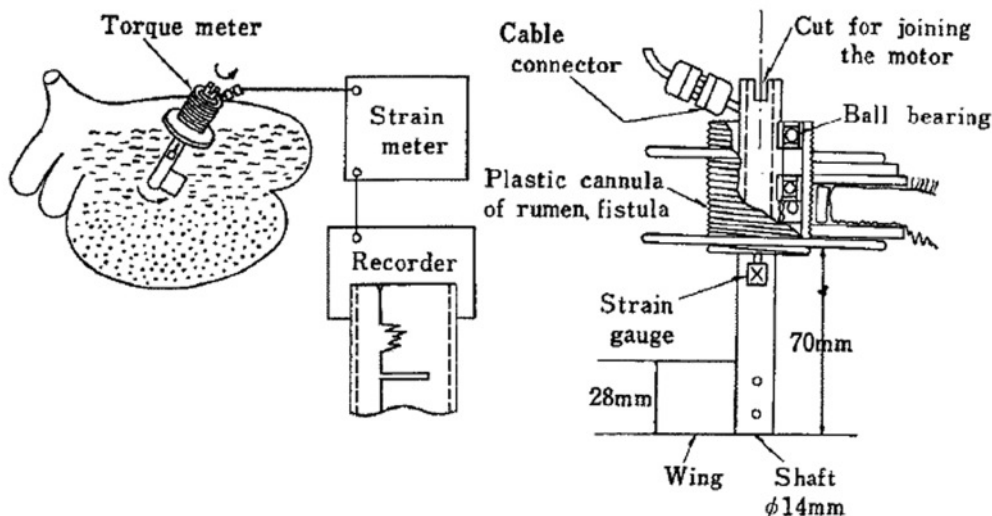


Figure 1-3 Specification of torque meter and block diagram of measuring instruments (Hidari 1979).

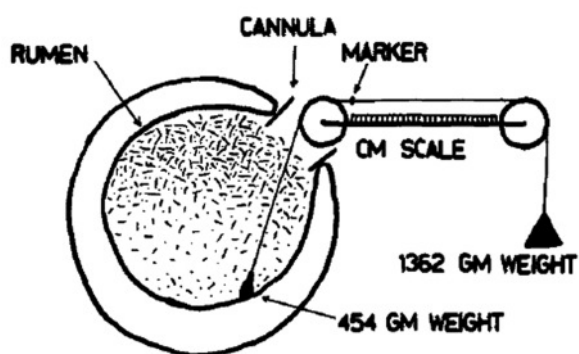


Figure 1-4 Device used to measure rumen ingesta consistency. Diagram shows positions at time zero. Support for the 1,362 g weight is removed and the 454 g weight ascends through the rumen contents. The thicker and tighter the rumen ingesta pack, the longer the ascension time. Satisfactory measurements were made in tureen contents ranging from liquid to tightly packed hay masses (Welch 1982).

ファペレット：4–21 秒，配合飼料：60–130 秒となり，イネ科乾草のように粗い飼料ではルーメン内容物が堅く詰まっていることが示された。この装置を用いたルーメンマットの評価はその後いくつかの研究で応用されている (Weidner and Grant, 1994; Allen and Grant, 2000; Zebeli *et al.*, 2007)。非粗飼料繊維源である大豆皮 (Weidner and Grant, 1994) あるいは生コーングルテンフィード (Allen and Grant, 2000) を多給した飼料に乾草を加えたり，乾草の切断長を長くすることで (Zebeli *et al.*, 2007)，重りの浮上速度減少，すなわちルーメン内容物の堅さが増すことが認められた。この手法に関しても前述したトルクメーターと同様にルーメン内容物の堅さを評価できるが，マット層と非マット層からなる階層構造を分割できないので，得られたデータは内容物全体の堅さになり，ルーメンマット自体の堅さとはいえない。また，階層構造の分割ができない以上，マットの厚さを把握することもできない。したがって，仮に重りの浮上速度が速かったとして，それが堅いマットであるが薄いために速やかに浮上したのか，マットの厚みはあるが全体として軟らかいためにそうなったのか判断することができない。

この他に，ルーメン内容物を直接採取することでルーメンマットを評価した試みもみられる。Robinson *et al.* (1987) や Zebeli *et al.* (2007) は，ルーメンカニューレ装着牛からルーメン内容物を全量採取する際に，手をつかんで取り出せる部位までをルーメンマット，手ではつかみ取れず容器ですくわ

ねばならない部分については非マット層と定義した。ルーメンマットと非マット層を分離する意味では意義深い，客観的に分離できているとはいえ，再現性に乏しいという欠点がある。

ここまで述べてきたように，従来の方法はルーメン内容物の堅さを推測することはできても，ルーメン内容物を階層構造という観点からマット層と非マット層に分離することができなかった。したがって，得られた結果がルーメンマットのみの堅さであるか否かを判断できない。さらにルーメンマットの厚さ自体をデータとしてとらえることも不可能であるという問題も付する。堅さだけではなくマットの厚さに関する情報が揃うことで初めてルーメンマット機能の総合的な評価が可能になると考えられる。すなわち，ルーメンマットの立体構造を階層として把握するための手法の開発が必要である。

1.2.4. peNDF 理論と乳牛の生理反応およびルーメンマット形成の関連

乳牛の給与飼料の粒度を大きくすると一般的には咀嚼活動が促進され，その結果，緩衝能のある唾液分泌量が増えるのでルーメン pH が安定化する (Okamoto, 1976)。つまり飼料粒度の上昇は咀嚼活動を介して SARA 予防に効果的である。一方で，ビートパルプのような食品製造副産物に含まれる非粗飼料繊維源は粒度が細かいものが多く，同じ NDF 含量で比べた場合に粗飼料由来の繊維と同等の咀嚼刺激効果は望めない (Allen, 1997)。このような背景のもと，高泌乳牛の適切な繊維要求量を定めるためにルーメン内の分解性と咀嚼を刺激する物理的有効度を考慮した指標として peNDF 理論が提唱されるようになってきた (Mertens, 1997)。

peNDF はルーメン発酵やそれにとまう酸の産生や中和，緩衝のバランスを安定化させるために，化学的特性 (NDF) と物理的構造 (粒度) の二つの要因を組み合わせたものであり，ルーメンマット形成を促進することを期待される繊維成分のパラメーターでもある (Mertens, 1997)。peNDF 理論が Mertens (1997) によって提唱されて以来，北米を中心として測定手法の開発や乳牛の生理反応に及ぼす影響について精力的に研究がなされるようになってきている (Lammers *et al.*, 1996; Buckmaster *et al.*, 1997; Kononoff *et al.*, 2003a; Grant *et al.*, 2005)。

peNDF 理論が普及し研究が進むと，乳牛の生産性や生理反応が報告間で異なることが明らかとなってきた (Grant *et al.*, 2005; Zebeli *et al.*, 2012)。た

例えば、peNDF 摂取量の増加によって咀嚼活動は促進されるが、ルーメン pH に対しては効果がないことがコーンサイレージ主体飼料 (Kononoff and Heinrichs, 2003b; Beauchemin and Yang, 2005) やアルファルファヘイレージ主体飼料 (Kononoff and Heinrichs, 2003a) で報告されている。一方で、peNDF は咀嚼活動と SARA の指標として信頼できるという報告も少なくない (Krause *et al.*, 2002b; Beauchemin *et al.*, 2003; Teimouri Yansari *et al.*, 2004)。さらに、採食量、消化率および乳生産に対する peNDF の影響についても多くの研究者が報告しているが (Krause *et al.*, 2002a; Kononoff *et al.*, 2003b; Plaizier *et al.*, 2004; Yang and Beauchemin, 2005), 統一的な結論を得ることができていない。このような結果の不一致が生じるのは、peNDF とルーメン機能との間には、採食量、咀嚼活動、ルーメン内飼料片の通過速度、ルーメン発酵など、それぞれ複雑で非直線的な関係が介在するからであろう (Tafaj *et al.*, 2005; Zebeli *et al.*, 2006; Tafaj *et al.*, 2007)。

また、混合する粗飼料の切断長が長すぎると乳牛は飼料中の微細な構成成分を選択的に採食することが報告されている (DeVries *et al.*, 2007; Park and Okamoto, 2008)。微細飼料片には穀物が多く含まれるため、peNDF 含量が高すぎると選択採食が助長され、結果的にルーメン pH 低下といった悪影響が懸念される (Miller-Cushon and DeVries, 2009)。

飼料中 peNDF 含量や peNDF 摂取量とルーメンマット形成との関連を検討した研究は見当たらない。厳密な peNDF とは異なるが Zebeli *et al.* (2007) は飼料を湿式篩別し、1.18 mm 以上篩に残留した乾物 ($DM_{>1.18mm}$) を物理的有効度を有した分画であると想定し、咀嚼活動やルーメンマット性状との関連を考察した。彼らのルーメンマットの定義方法は前述したルーメン内容物を全量採取する際に手で取り出せる固体をルーメンマットとしたものである。試験の結果、総内容物重量に対するルーメンマット重量の割合は高粗濃比飼料で増加したが、飼料粒度の違いとは無関係であった。また、飼料中 $DM_{>1.18mm}$ 含量と総内容物に占めるルーメンマット割合との間には直線的な関係は認められなかった。彼らの研究では、ルーメンマットの定量法に検討の余地があることに加え、peNDF とルーメンマットを含むルーメン内容物の階層構造との関係は未検討である。

1.2.5. 非粗飼料繊維源とルーメンマット形成の関連

食品製造副産物や農産副産物 (以下、副産物) に含まれる非粗飼料繊維源は乳牛の炭水化物源として重要である。非粗飼料繊維源は繊維としての特性に加え、発酵速度が速いためにエネルギー源として穀物飼料との代替が可能である。しかし、非粗飼料繊維源は粒子が細かく、易発酵性の繊維であることから、粗飼料と比べて咀嚼時間 (Mooney and Allen, 1997) や乳脂率 (Swain and Armentano, 1994) を維持するための物理的有効度は低いと考えられている。

複数の研究者が粗飼料の一部を副産物で置き換えると不十分なルーメンマットしか形成されないと考えており (Weidner and Grant, 1994; Grant, 1997; Zebeli *et al.*, 2012), それが事実であれば適切なルーメン発酵を維持することは困難である (Zebeli *et al.*, 2012)。

副産物を非粗飼料繊維源として用いることによる乳牛の生産性に関する反応については研究によって結果が異なる。粗飼料を非粗飼料繊維源で置き換えることによって咀嚼活動の減少 (Clark and Armentano, 1997; Mooney and Allen, 1997), あるいは乳脂率 (Swain and Armentano, 1994; Clark and Armentano, 1997) やルーメン pH (Zhu *et al.*, 1997; Kononoff and Heinrichs, 2003b) の低下といった反応がみられた一方で、乳生産や乳成分率に対して何ら影響しなかったとする報告もある (Allen and Grant, 2000)。

このように副産物の給与と乳牛の生産性の関係については依然不明な点が多いが、これにはルーメンマット形成程度の違いが関係しているかもしれない。実際、Weidner and Grant (1994) は、Welch (1982) の重りの浮上速度を用いた方法によってルーメン内容物の堅さを計測し、アルファルファサイレージおよびコーンサイレージの 40% を大豆皮 25% で置き換えたところ、給与 6 時間後にルーメンマットの堅さが 57% 減少したと報告している。その他、非粗飼料繊維源として綿毛のついた全粒綿実とアルファルファ乾草やワラを比較した研究 (Eastridge *et al.*, 2009) や生コーングルテンフィードとアルファルファサイレージおよびアルファルファ乾草を比較した研究 (Allen and Grant, 2000) においても、Welch (1982) の方法を用いてルーメン内容物の堅さが計測され、同様に非粗飼料繊維源を多給するとルーメンマットの堅さが減少すると述べられている。しかし、これら欧米の研究はルーメンマット

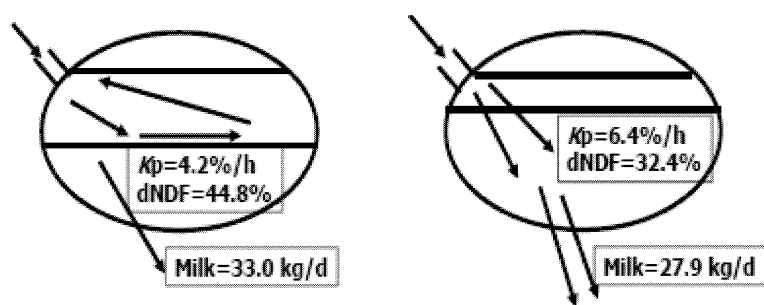


Figure 1-5 Effect of rumen digesta mat on passage of small particles of non-forage sources of fiber (adapted from Allen and Grant, 2000). Left-hand panel represents well-formed rumen mat whereas right-hand panel represents inadequate rumen mat (Grant and Cotanch, 2012).

形成を厳密に把握していない上に、粗飼料としてアルファルファを用いており、我が国で一般的に用いられるイネ科牧草を粗飼料源とした検討はなされていない。

Grant and Cotanch (2012) は、Allen and Grant (2000) を引用し、非粗飼料繊維源を多給するとルーメンマットが薄くなり、ルーメンからの飼料片通過速度が早まり、結果的には乳生産にまで影響が及ぶと論じた (図 1-5)。彼らは、ルーメンマットの厚さや堅さといった物理性が飼料片の通過や消化に影響を及ぼすであろうことを重要視し、今後開発される飼料設計プログラムにおけるルーメン内繊維消失動態モデルには、ルーメンマットの形成状況をパラメーターとして組み込むべきであると提案している。

上記の研究はいずれも非粗飼料繊維源を多給することでルーメンマットの階層構造が不安定になり、生産性にまで悪影響が及ぶことを推察するものである。この論理は一見すると的を射ているように感じられるが、前提となるルーメンマットの定量法に問題があり、ルーメン内容物の階層構造把握が適切であるとは言い切れない。ルーメンの底に沈めた重りが内容物表層まで浮上する時間や速度ではルーメン内の階層構造を正確に把握できないからである。高泌乳牛用飼料として非粗飼料繊維源の重要性は増していることから、その給与とルーメンマット形成の関係については精査する必要がある。

2. ルーメンマットの定量方法の検討

2.1. 目的

ルーメンマットは乳牛の消化生理上極めて重要な存在であると考えられているが、その物理的構造把握は不十分なまま取り残されてきた。ルーメン内容

物の階層構造を壊すことなく、何らかの物理的指標を用いて内容物を背囊部から腹囊部に向けて垂直方向に表現することが困難であったからである。

従来の手法ではルーメン内容物全体の堅さについてはある程度の評価は可能であったものの、ルーメンマットとその下側の非マット層を分離し、それぞれの厚さや堅さについて論じることは不可能であった。Hidari (1979, 1981) の手法はルーメンマットの堅さを数値で表せることは優れているが、その情報はルーメンフィステルに隣接した内容物表層に限られていた。内容物表層の堅さにとどまらず、その堅さの分布をルーメン背囊から腹囊にかけて縦断的に評価できれば、ルーメン内容物の階層構造を把握することが可能となり、マット層の厚みやルーメン内容物の消失動態を検討する上で有意義な情報が得られると予想される。

本章ではルーメン内容物の堅さや深さを経時的かつ簡便に測定する目的で、土壌硬度の評価指標である貫入抵抗の測定原理 (吉田, 1989) に着目し、ルーメン内容物貫入抵抗測定装置の開発と検証に取り組み、得られたデータの解析方法について検討した。

2.2. 土壌の貫入抵抗測定法

土壌の硬軟の程度を土壌硬度といい、土壌硬度を測定する際に多く用いられる手法として山中式土壌硬度計を用いた硬度測定法 (山中式, 図 2-1) やコーンペネトロメータを用いたコーン貫入抵抗測定法 (コーンペネ法, 図 2-2) が代表的である (吉田, 1989; 古賀, 2004)。

山中式は、高さ 40 mm、底径 18 mm、頂角 $12^{\circ}40'$ の円錐部を土壌断面に完全に押し込んだ際の表面硬度を測定するのに対して (群馬県農政部, 2004)、コーンペネ法は通常は 1 m のロッド (コーン) を土層に

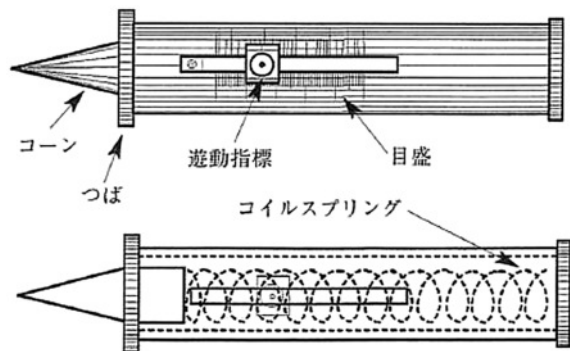


Figure 2-1 Structure of Yamanaka type soil hardness meter (Koga 2004).

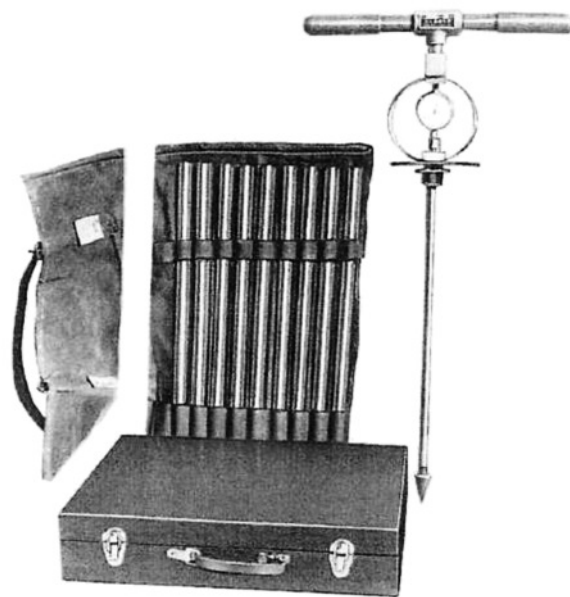


Figure 2-2 Cone penetrometer (MARUTO Testing Machine Company; Koga 2004).

直接深く貫入したときの抵抗を測定するものである(古賀, 2004)。前者は土壌の構造・緻密さを直接反映した堅さを測定していることになるが、後者は土層に直接貫入したときの抵抗を測定するので、コーンは側方からの土圧(摩擦抵抗)を受けることになってしまい、力学的内容はやや複雑になる(吉田, 1989)。コーンペネ法におけるロッドと土の間の摩擦抵抗が増えると、コーン貫入抵抗値(q_c 値)が過大になる可能性があるため、これを避けるために二重管式コーンペネトローメータが用いられる場合もある(古賀, 2004)。

2.3. ルーメン内貫入抵抗測定装置の開発

本研究では、最初に土壌の貫入抵抗測定法を応用して、ルーメン内容物の堅さ測定の可能性を検討した。当初、上述した既製の土壌硬度測定計をルーメ

ン内容物の堅さ測定に転用できないかと検討したが、山中式ではコーン全長が短いため測定深度が浅すぎることに、逆にコーンペネ法ではロッドサイズが大きいかつ鋭すぎるため牛への適用は危険であると判断した。そこで、土壌硬度測定法の原理を活用した独自のルーメン内貫入抵抗測定装置の開発を行った。

ルーメンマットの性状を計測するために必要な情報は堅さとロッドが侵入した深度であるので、装置を構成するセンサーとしてひずみゲージ式の圧力計と変位計を選択した。装置開発において重要視した点は、ルーメンカニューレ装着牛のフィステルを介して貫入抵抗と貫入深度の測定を並行して実施可能であることであった。ルーメンの最大深度は50 cmから1 m程度と想定されることから、ルーメン内容物表層から腹囊底部にかけて堅さと深度を連続測定するために、100 mm ストロークの変位計を用いて、内容物表層から底部に到達するまで100 mm ごとに断続的に貫入を繰り返し測定する装置を開発した。すなわち、圧力計でロッド貫入時の内容物の堅さを、変位計でロッドの深度を連続して測定しようとするものである。

装置の構造を図2-3に、外観を図2-4に示した。本体部分はひずみゲージ式荷重変換器(LMA-A-50 N型; 共和電業, 東京)とひずみゲージ式変位変換器(ストローク: 100 mm, DTH-A-100型; 共和電業, 東京)からなり、本体から伸びるプッシュ・プルケーブル(4.5 m, HI-LEX; 日本ケーブル・システム株式会社, 兵庫)を介してルーメン内挿入用のロッド(1 m)へとつながる。ロッドを貫入する際のルーメン内容物との摩擦抵抗を除去するために、外筒を装着した二重管式構造とした。本体部のハンドルを回すことによりプッシュ・プルケーブルの先端とそれにつながるロッドが最大100 mm 伸張し、ロッド先端の貫入抵抗荷重と変位(貫入深度)を感知する。得られたアナログ信号をひずみ電圧計測ユニット(NR-500, NR-ST04; キーエンス, 東京)でデジタル信号に変換し、コンピューターに入力させた。貫入抵抗荷重と貫入深度はリアルタイムでコンピューターディスプレイに表示され、同時にデータとして記録された。単位は荷重がN(ニュートン)、深度がmm(ミリメートル)である。PCへのデータサンプリング間隔は0.5秒とした。なお、貫入抵抗荷重にはプッシュ・プルケーブル自体が持つ抵抗荷重も含まれるので、測定に先立って空中で複数回ブランク測定を行い、実際の測定データからブランク荷重の平均値を差し引くことで補正を行った。

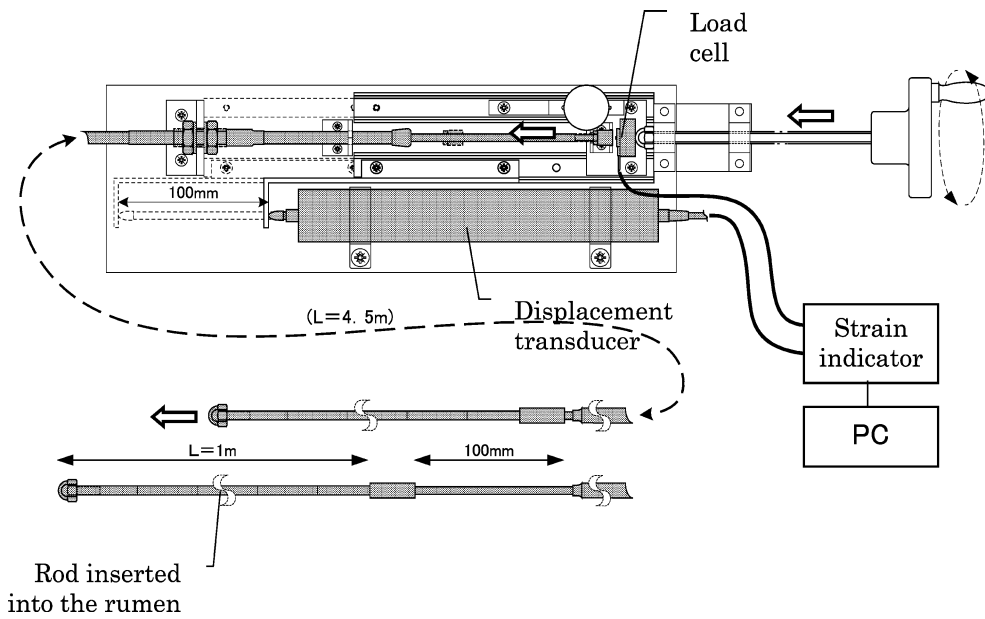


Figure 2-3 Structure of the device for measuring penetration resistance and depth of rumen digesta.

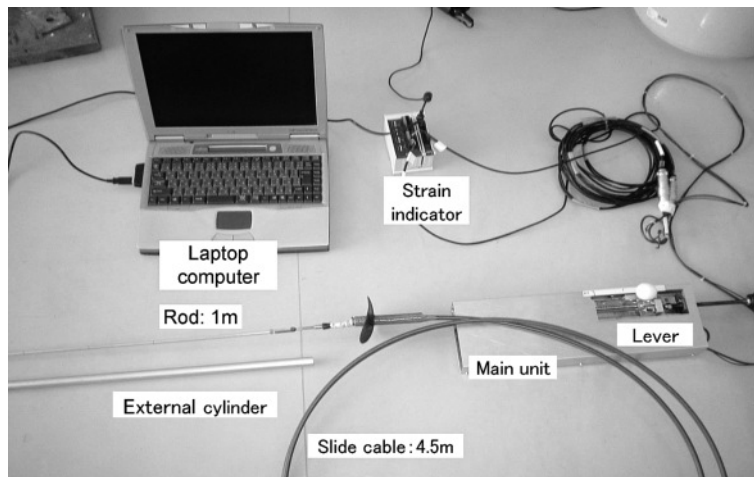


Figure 2-4 View of the device for measuring penetration resistance and depth of rumen digesta.

装置の開発と平行して、ルーメン内貫入抵抗測定試験をルーメンフィステル装着ホルスタイン種乳牛を用いて、繰り返し試行した。試行を繰り返す中で不具合が見つかり、測定方法が確立するまでにいくつかの改良を加えることとなった。

当初、本測定装置はロッド単独で貫入を行う構造であったが、コーン先端のみの抵抗を検知可能とするために外筒を取り付けた二重管式とした。また、貫入過程においてロッドがぶれることを防ぐために、ルーメンカニューレにロッドを固定するガイドを取り付けた。さらに大きな検討課題として、当初はロッドの挿入が直接手押しするレバー式であったことから、挿入速度を一定にすることが出来ず、圧

力に高低のばらつきがみられた。そこで、新たにレバーを押し込むためのハンドルを装着し、ハンドルを回しながらレバーを押し込む方式に変更することで速度の不均一さを解決した。しかし、ハンドル方式にすることでハンドルを巻き戻すための時間がかかるため、釣具用リールを応用した器具を製作して、押し切ったハンドルを素早く戻すことを可能にした。

2.4. ルーメン内貫入抵抗測定手順および解析方法

ルーメン内貫入抵抗測定は二人でおこない、一人が牛の側面に立ちロッド先端をルーメンカニューレ



Figure 2-5 Techniques for measuring cone penetration resistance in rumen digesta.

を介して内容物表層に固定し、もう一人が測定装置本体のハンドルを回してロッドを貫入させた (図 2-5)。

1 回当たり 100 mm の貫入となり、1 貫入終了後はその場でロッド先端が動かないように固定したままハンドルを戻し、再び測定可能な状態に戻した。ハンドルを回す速度 (貫入速度) によってロッド先端の荷重が変化するので、貫入速度は毎秒 3 mm 程度とした。ロッド先端がルーメン腹囊の底に到達するまで貫入動作を繰り返した。貫入開始から終了までに要する時間はおよそ 10 分弱であった。ロッドはルーメンカニューレからルーメン腹囊の底に向けて挿入したので、挿入角度は垂直にはならず、地面に対しておよそ 70~75 度であった。ルーメン内容物の深さは測定の直前に定規をルーメンカニューレより挿入することにより計測した。定規の挿入角度についてもロッドと同様であった。なお、内容物の堅さを正確に測定するためにロッドの挿入は定規挿入部位からずらして挿入し、挿入中に第一・二胃収縮が生じた際には測定を一旦中断し、収縮過程が終了した後に再開した。

貫入抵抗測定時の典型的な波形データを図 2-6 に示した。画面上段の波形がコーン貫入抵抗荷重、下段の波形がコーン先端部の変位を表す。1 回の貫入

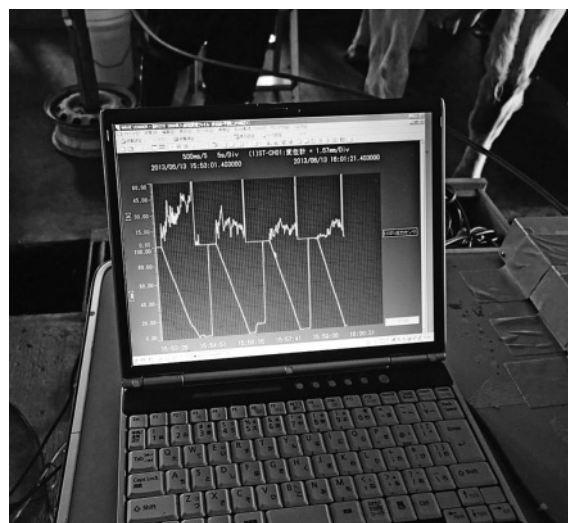


Figure 2-6 Typical result obtained by the cone penetration resistance test in rumen digesta.

は 100 mm で終了し、準備のためのインターバルを経た後、その深度から次の貫入を行った。測定直前に定規で計測した深度と荷重の増加からルーメン腹囊に達したことを判断し、操作を終了した。ルーメン底部にロッド先端が到達すると荷重が急増するので、荷重が増す直前までを測定データとして採用した。図 2-6 では、画面左から右に向かってルーメン深度が増していき、それに伴い画面上段の波形の高さが低下、すなわち抵抗荷重が弱まっていくことが示されている。

得られた貫入抵抗荷重からコーン貫入抵抗値 q_c を計算した。計算式は次式の通りで、単位は N/cm^2 で表した (古賀 2004)。

$$q_c = \frac{F}{A}$$

ここで、 F は貫入抵抗荷重 (応力, N)、 A はコーン断面積 (cm^2) を表す。 F については、前述した通り測定結果からブランク荷重を差し引いて補正した。また、ロッド先端のコーンに相当する部材として本測定装置では、ルーメン壁を傷つけないために先端が球状になっている六角袋ナット M5 (ナットの 1 辺の長さ: 4.6 mm) を用いたので、コーン断面積 (A) は $0.55 cm^2$ となった。

q_c 値は 100 mm ごとに集計し、その区間の平均を算出した (以下、 cm で表す)。たとえば、ルーメンの深度が 65 cm であれば、 q_c 値は 0~10 cm , 10~20 cm , 20~30 cm 、60~70 cm の 7 個得られる。ルーメン上部に位置するマット層とその下部に存在するスラリー状の非マット層の二層性を確認するために、測定ごとに q_c 値と深度の関係を図示し、大塚と

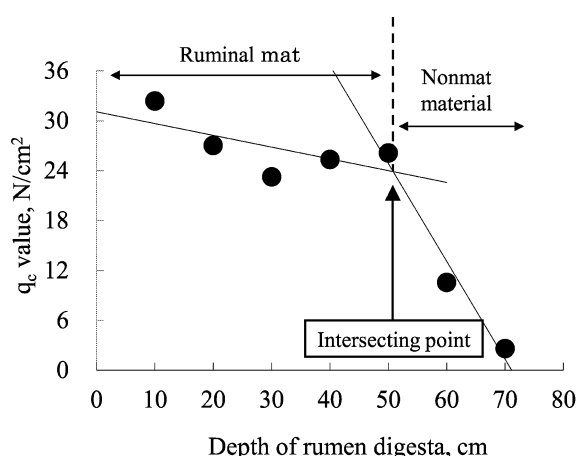


Figure 2-7 Method for defining the ruminal mat. q_c : Cone penetration resistance.

吉原 (1975) の折れ線モデルをあてはめて折曲点の算出を試みた。折れ線モデルは区間 (x_1, x_{j-1}) でひかれた第 1 直線と、区間 (x_j, x_k) でひかれた第 2 直線がともに傾斜している場合のタイプ 3 を採用し、二つの直線の交点 (折曲点) の x 座標 I が区間 (x_{j-1}, x_j) の中にあるとして解析を行った (大塚と吉原, 1975)。折曲点が存在した場合には、折曲点より上部 (q_c 値の大きい部分) をマット層、下部 (q_c 値の小さい部分) を非マット層と定義した。折曲点が区間内に取まらない場合にはマット層と非マット層を区分する明瞭な境目が存在しないと判断した。

ルーメンマットと非マット層を分割するための q_c 値と深さの関係を図 2-7 に示す。たとえば図 2-7 では、直線 1 を 0 cm から 50 cm、直線 2 を 50 cm から 70 cm としたとき、両直線の残差平方和が最低となり最もあてはまりが良かった。この場合に実際の 2 本の直線の交点 (折曲点) I を求めると深さが 50.8 cm となり、そのときの q_c 値は 23.9 N/cm² となった。

2.5. ルーメンマット定量法の検証

2.5.1. 目的

前節までに開発したルーメン内貫入抵抗測定装置を用いて、ルーメンマット定量法の検証を行った。

非泌乳牛に対して、ルーメン内容物の階層構造に影響を与えると想定される特徴の異なる 4 種の飼料を摂取させ、ルーメン内貫入抵抗測定試験を実施し、ルーメン内容物の物理的性状の違いやルーメンマット形成状況の把握が可能であるか評価した。

2.5.2. 材料と方法

本研究は酪農学園大学附属農場において実施し

た。

2.5.2.1. 供試動物

ルーメンカニューレを装着したホルスタイン種非泌乳牛 2 頭を供試した (平均体重 957.9 kg)。

2.5.2.2. 供試飼料

飼料は①放牧地草 (GG)、②放牧地草+イネ科主体ロールベールサイレージ (GG+GS)、③イネ科主体ロールベールサイレージ (GS) および④高泌乳牛用混合飼料 (TMR) の 4 通りとした。TMR は乳量 37 kg/日、乳脂肪率 4.0% で設計し (TDN 74.4%, CP 15.4%, NDF 36.3%), バンカーサイロで調製したイネ科細切サイレージ、コーンサイレージ、配合飼料、ビートパルプ、圧べんトウモロコシ、大豆粕、醤油粕、アン粕を混合したものであった。全ての飼料は自由採食とし、水と固形塩は自由摂取であった。放牧地草を除く各飼料は午前 10 時を目安に毎日 1 回給与した。

2.5.2.3. 試験設計と飼養管理

GG 給与期および GG+GS 給与期は放牧地での昼夜放牧とし、GS 給与期は乾乳牛用フリーバーン、TMR 給与期は自動搾乳牛舎のフリーストールでそれぞれ舎飼い飼養した。各期いずれも酪農学園大学附属農場の通常管理下で行ったために、供試牛以外の一般管理牛も混在する牛群であった。貫入抵抗測定試験は各飼料給与開始から 10 日間以上の馴致期間を経た後に実施した。

2.5.2.4. 測定項目

ルーメン内貫入抵抗測定試験は飼料給与直前と給与後 3 時間の 2 度実施した。GG 飼料については朝の採食が活発になる 5 時を給与直前と設定した。GG+GS 飼料は GS の給与時刻を起点とした。測定項目はルーメン内容物の堅さ (q_c 値) と深さ (cm) とした。測定方法および貫入抵抗値の算出法は先に述べた通りであった。

各測定日に合わせて給与飼料のサンプリングも行った。

2.5.2.5. 化学分析および解析方法

飼料はすべて 60°C で 48 時間送風乾燥した後に粉碎し、分析に供した。乾物 (DM) および粗タンパク質 (CP) の分析は、AOAC (1999) に準拠した。中性デタージェント繊維 (NDF) は Van Soest *et al.* (1991) の方法に従った。表 2-1 に飼料の化学成分含

Table 2-1 Chemical composition of diets

	GG	GS	TMR
DM, %	24.0	75.5	42.4
CP, % DM	22.2	15.1	15.4
NDF, % DM	45.3	58.9	36.3
TDN ¹ , % DM	72.4	57.6	74.4

GG: grazing grass; GG+GS: grazing grass and grass silage; GS: grass silage; TMR: total mixed ration for high yielding lactating cow

DM: dry matter; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber; TDN: total digestible nutrients.

¹ TDN was analyzed by the Agricultural Product Chemical Research Laboratory in the Tokachi Federation of Agricultural Cooperatives using estimated equations of NRC (2001).

量を掲載した。

貫入抵抗測定試験の集計結果を用いてルーメンマットと非マット層に分割し、それぞれの深度を算出した。算出方法については前述した通りであった(図2-7参照)。各飼料給与時の貫入抵抗測定時のPC表示波形データの一部を図2-8に、堅さと深さの関係に対して折れ線グラフをあてはめたルーメンマットの検出結果の一部を図2-9に示す。

2.5.3. 結果および考察

各測定日におけるルーメン内貫入抵抗測定試験の結果を表2-2にまとめた。ルーメン総内容物の堅さはGS, GG+GS, GGの順で低下し、TMRは極端に低い値となった。内容物の深さについてはGGのみが他の3処理よりも若干浅くなる傾向を示した。

ルーメンマットの堅さはGSが最も強く、GGとGG+GSがそれに続く値となり、TMRはGSのおよそ1/3ほどの堅さであった。ルーメンマットの厚さはGG+GSが最も厚くなり、GGとTMRがほぼ等しい値で、GSがその他の処理と比べやや薄かった。非マット層の堅さはGS, GG, GG+GSそしてTMRの順で軟化した。総内容物やルーメンマットほど処理間の差は大きくはなかった。深さについては、GSが最も深く、TMR, GG, GG+GSの順で浅くなった。最大値であったGSと最小値のGG+GSの差は2倍以上となり、総内容物やルーメンマットでみられた処理間の差よりも大きくなる傾向を示した。

牧草のみを給与したGG, GG+GSおよびGSではGSの摂取比率が増すと総内容物およびルーメンマットの堅さが増す傾向にあった。GSは完全に出穂が完了した一番草であり、低水分のほぼ乾草に近い品質であった。GSが粗剛であったことはNDF含量にも反映されており、そのことがGS給与によって総内容物およびルーメンマットの堅さが増した原因であると考えられる(図2-10)。

一方、TMR摂取牛はルーメンマットと非マット層の2層性は確認されたものの、ルーメン内容物全体あるいはルーメンマットの q_c 値が極めて低く、形状としては液体あるいは粥状であり、強固なルーメンマットができていない状態であった(図2-11)。これは、本試験で用いた供試牛は養分要

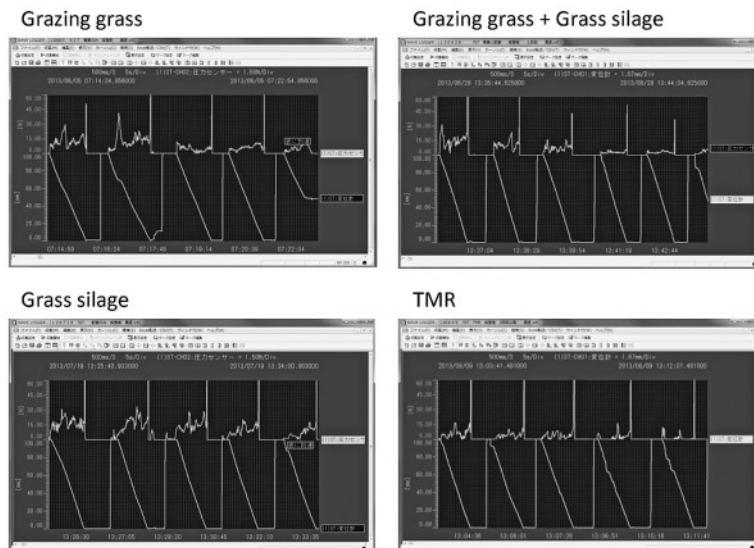


Figure 2-8 The effect of four diets on the penetration resistance test in non-lactating cows. The wave pattern data show that they become deep in the rumen towards the right from left. N (upper part): consistency of rumen digesta; mm (lower part): depth of the digesta. N: newton

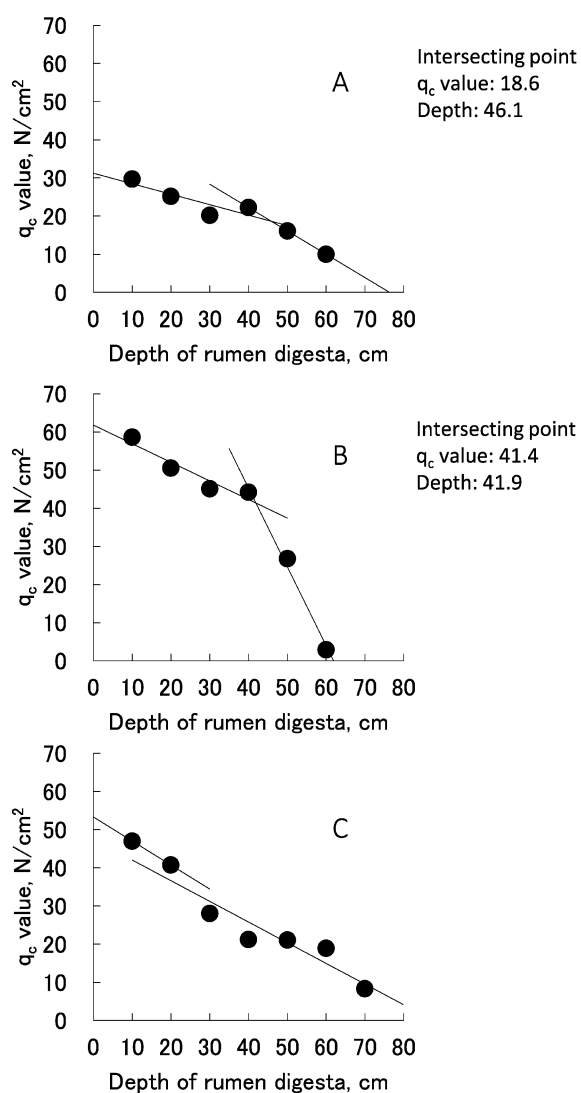


Figure 2-9 Results of ruminal mat definition. Ruminal mat was defined in A and B. In C, ruminal mat was not defined. q_c: Cone penetration resistance.

求量の少ない非泌乳牛であったので、栄養価の高い高泌乳牛用 TMR を摂取したことにより、採食量がルーメン内の物理的制約ではなく、代謝的な調節要因で制御されたためであると推測される (Gill *et al.*, 1988; Mbanya *et al.*, 2007)。

ルーメンマットと比べて非マット層の堅さは処理による差が小さかったが、ルーメン腹囊部は液状を呈しており、固形内容物が少ないという点では 4 飼料で共通していた。

ルーメンマットの堅さと厚さの関係では、GG と GG+GS のように堅さが同じでも厚さが異なるケース、堅いがそれほど厚くない GS のようなケース、あるいは TMR のように軟らかいものの適度な厚みを有しているケースなど、飼料ごとにそれぞれ

特徴が異なった。さらに、ルーメン内容物全体の深さは 4 飼料とも数 cm の差しかなかったにもかかわらず、ルーメンマットと非マット層に分割すると、その差は最大で 15 cm 以上に広がった。このことはルーメン内容物を全体として一つのデータで表現すると飼料間の違いを明確にはできず、階層構造的に解析する重要性を示している。

本試験により、土壌硬度の測定方法を応用したルーメン内貫入抵抗測定装置を用いると、簡易な操作でルーメン内容物の堅さと深さを調査でき、同時にルーメンマットやその他の物理的性状を測定できることが明らかになった。ルーメン内容物の量や粒度といった従来の指標に加え、ルーメン内容物の物理的性状を評価する新たな概念として q_c 値は利用できると考えられた。牛に悪影響をもたらすことなく、従来の研究ではなし得なかったルーメンマットの堅さと厚さを階層構造として定量的に測定可能とした点に本法の価値が存在するだろう。

3. 飼料中 peNDF 含量の違いがルーメンマット形成に及ぼす影響

飼料中 peNDF 含量に影響を及ぼす主な要因としては飼料の切断長と粗濃比が上げられる。切断長が短くなるか、粗濃比が低下すると、一般的には peNDF 含量も低下する。そのような peNDF 含量が低い飼料においては、ルーメンマット形成が不十分になり、反芻の微弱化やルーメン pH の低下、マットへの飼料片取り込み機能の低下から第三胃以降への通過速度の上昇や消化率の低下が懸念されてきた (Grant and Cotanch, 2012)。しかし、これまでに、それらの関連性について実測値を持って検証されることはなかった。

そこで本章では、飼料中 peNDF 含量とルーメンマット形成の関連を検討する目的で、飼料の切断長と粗濃比に着目して二つの試験を実施した。

3.1. 飼料の粒度がルーメンマット形成に及ぼす影響 (試験 I)

3.1.1. 目的

飼料の粒度が反芻活動とルーメン pH に影響を及ぼすことは古くから指摘されている (Okamoto, 1976)。Okamoto (1976) は、梱包乾草に比べてヘイキューブでは反芻活動が減少し、ルーメン pH 低下の程度は大きいことを認めている。飼料の粒度や peNDF 含量が減少すると咀嚼活動の減少と SARA 発症のリスクが高まるという想定のもとに、乳牛を用いた多くの研究がなされている。しかしながら、

Table 2-2 Summary of penetration resistance test in cows.

	GG	GG+GS	GS	TMR	SE
Total rumen digesta					
q _c value ¹ , N/cm ²	9.1	10.2	13.0	4.5	2.6
Depth, cm	52.8	59.9	61.0	59.5	1.3
Ruminal mat ²					
q _c value, N/cm ²	10.4	10.9	15.8	5.5	3.1
Thickness, cm	36.8	48.9	32.5	35.1	4.0
Non-mat material ³					
q _c value, N/cm ²	7.39	5.88	8.18	4.30	1.19
Depth, cm	16.0	11.2	28.5	22.2	4.1

¹ q_c = F_c/A_c, q_c: Cone penetration resistance, F_c: The force acting on the cone, A_c: The projected area of the cone.

² Values are the means in the area above the point at which the 2 regression lines for the relationship between the q_c value and depth of the rumen digesta intersected.

³ Values are the means in the area below the point at which the 2 regression lines for the relationship between the q_c value and depth of the rumen digesta intersected.

GG: grazing grass; GG+GS: grazing grass and grass silage; GS: grass silage; TMR: total mixed ration for high yielding lactating cow
SE: Standard error

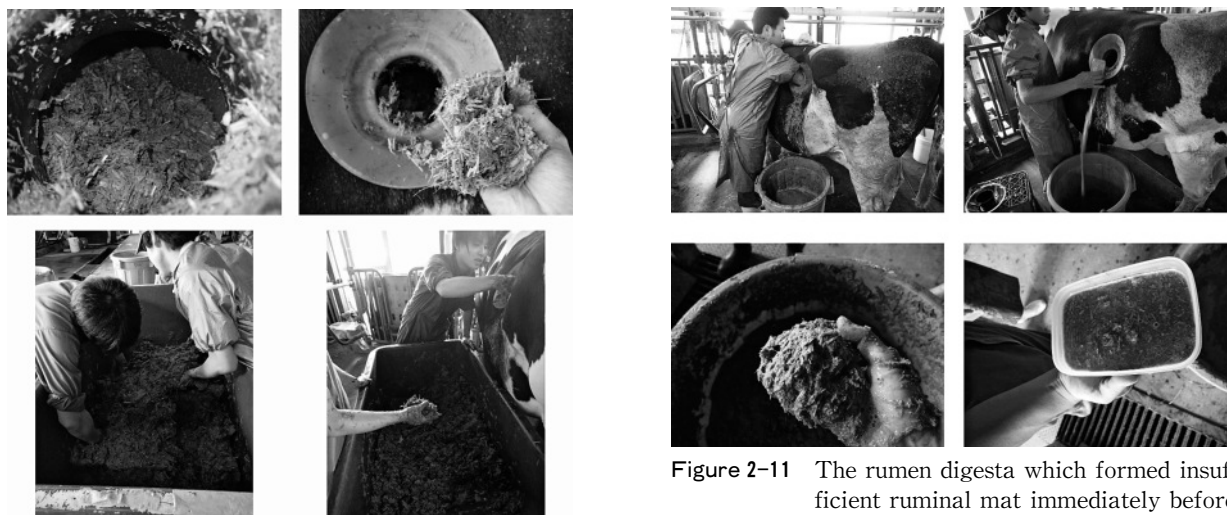


Figure 2-10 The hard packed ruminal mat observed at 3 hour after feeding in non-lactating cow receiving long chopped grass silage *ad libitum*.

Figure 2-11 The rumen digesta which formed insufficient ruminal mat immediately before feeding in non-lactating cow receiving TMR for high yielding lactation cow *ad libitum*.

飼料の粒度や peNDF 含量の違いがルーメン pH や乳生産に及ぼす影響については一貫した結果が得られてはいない。

飼料粒度の縮小によってルーメン pH が低下した場合と (Krause *et al.*, 2002b; Beauchemin *et al.*, 2003; Teimouri Yansari *et al.*, 2004), 何ら影響がみられなかった場合 (Kononoff and Heinrichs, 2003b; Kononoff *et al.*, 2003b; Yang and Beauchemin, 2006) が報告されている。乳脂率は飼料切断長を短縮することで低下するという結果がいくつかの研究で得られているが (Kononoff and

Heinrichs, 2003b; Krause and Combs, 2003; Teimouri Yansari *et al.*, 2004), 切断長短縮の影響は認められないとする報告も少なくはない (Beauchemin *et al.*, 2003; Kononoff and Heinrichs, 2003a; Bhandari *et al.*, 2007)。このような結果の不一致については、ルーメン内微生物による飼料分解能の変動が考えられる他、粗飼料源および濃厚飼料源の違いや給与飼料中の peNDF 含量の違いが影響しているのではないかと指摘がある (Bhandari *et al.*, 2007)。逆に飼料切断長が長すぎることによって、牛による微細構成成分の選択的な採食が生じ、乳脂率が低下することも報告されている (Park and

Okamoto, 2008)。

上述した研究において、ルーメン内容物の物理性を評価しているのはわずかに Kononoff and Heinrichs (2003a, b) に限られる。しかし、彼らはルーメン内容物を全量採取し、DM および NDF プールサイズを計測しているものの、それらがルーメン pH や乳生産に及ぼす影響については言及していない。

そこで本節では、飼料中の peNDF 含量の違いがルーメンマットの性状に及ぼす影響について評価するために粒度の異なる TMR を用いて試験を実施した。化学成分を変えずに peNDF 含量の異なる TMR を用意するために、調製済みの TMR を粗飼料切断機で切断し、元の TMR と切断後の TMR を泌乳牛に給与した際のルーメンマット性状、ルーメン内発酵状況、咀嚼活動および乳生産について検討した。

3.1.2. 材料と方法

3.1.2.1. 供試動物

酪農学園大学附属農場で飼養されているルーメンカニューレを装着したホルスタイン種泌乳牛 4 頭を用いた (平均体重 623.1 kg, 平均分娩後日数 65.8 日, 平均産次 1.8 産)。搾乳は毎日 5 時 30 分と 16 時の 2 回とし、ミルクパーラーで行った。供試牛は飼槽重量計を装備したタイストールで飼養し、ゴムチップマットレスにおが屑と麦稈を敷料として用いた。

3.1.2.2. 供試飼料

供試飼料は細切調製したグラスサイレージ (乾物給与割合: 28.0%, 以下同様)、破碎処理したコーンサイレージ (18.6%), アルファルファロールペールサイレージ (6.6%), 搾乳牛用配合飼料 (TM7: 32.6%, ルミバランス 18: 7.7%; 雪印種苗株式会社, 札幌), 大豆粕 (1.9%), ビートパルプ (3.9%), ミネラル添加剤 (スーパーマグ 55: 0.6%; 東洋電化工業株式会社, 高知県高知市), ビタミン添加剤 (ビタファーム 102E: 0.1%; 日本全薬工業株式会社, 福島県郡山市) を混合した混合飼料 (TMR) を対照区 (Control) とした。対照区の TMR を切断して給与した区を細断区 (Chop) とした。飼料の切断にはトラクタから動力を得る粗飼料切断機 (飼料カッター FC22C; スター農機, 千歳) を使用し、設定切断長 10 mm で対照区 TMR を 2 度切断した。

TMR の飼料設計については、日本飼養標準・乳牛 (1999 年版) に付属している養分要求量計算シート

と飼料計算シートを使用した。計算に用いた前提条件は分娩後日数 150 日, 産次 1.9 産, 体重 640 kg, 乳量 33 kg, 乳脂率 4.3% とした。これらの飼料を 1 日 1 回給与し, 自由採食となるよう前日の原物採食量の 1.2 倍量を与えた。水および固形塩は自由に摂取させた。

3.1.2.3. 試験設計および飼養管理

試験は予備期 10 日間, 本試験期 12 日間を 1 期とする 2 期反転法とした。供試牛は 2 頭一組とし, いずれかの処理に割り当て, 1 期終了後に反転した。

本試験期間中の 1 ~ 3 日目に採食量, 乳生産および採食行動および反芻活動調査, 4 ~ 8 日目にルーメン内貫入抵抗測定, 9 日目と 12 日目にルーメン内容物全量採取をおこなった。

3.1.2.4. 測定項目およびサンプル採取

試験期間を通じて給与量と残飼量を毎日計測し, 採食量を測定した。給与量は, 飼槽重量計の液晶画面に表示された飼料の重さを記録した。残飼は給与 30 分前に扉を閉めて, 給与量と同じ方法で計量した後に, 除去した。給与飼料のサンプリングは採食行動調査期間中の毎日, 残飼のサンプリングは内容物採取の回復期を除いた毎日おこない, それぞれのサンプルごとにビニール袋に入れて試験終了まで冷蔵庫内で保管した。

採食行動は試験ストールに設置されている飼槽重量計を用いた。飼槽重量計は 24 時間モニタリングされており, データは牛舎 2 階のパソコンに取り込まれた。それを基に CSV ファイルを作成し採食行動のデータを得た。採食行動の集計にあたっては, Metz (1975) および粕谷と藤田 (1991) の方法に従い, Kolmogorov-Smirnov の一試料検定を用いて個体ごとの採食の中断持続時間より採食期を定義した。解析の結果, 採食中断時間が 4 分を超える場合に一つの採食期が終了したとみなした。

反芻活動は, 朴ら (2005) の方法に従い, 高感度ワイヤレスマイクの送受信機 (CX-01; ファースト電子開発, 東京) を用いて計測した。送信機を頭絡に取り付け, 牛の顎部分に接触するように加工した。送信機から送られる咀嚼音を受信し, ひずみ電圧計測ユニット (NR-500, NR-ST04; キーエンス, 大阪) を介してコンピューターに取り込み, 解析した。搾乳のためミルクパーラーに移動している時間についてはデータ受信が困難になるため, 人による行動観察を 2 分間隔で行なった。

ルーメン内容物の堅さを測定するため, 貫入抵抗

測定試験を行った。方法の概略は2章で述べた通りである。貫入抵抗測定は給与直前（0時間）から給与後22時間まで2時間ごとに12回実施した。測定頻度は供試牛への負担を考慮して1日に付き4回以下、測定間隔も6時間以上開くように配慮し、12回の測定を4～8日目の5日間に分けて実施した。また、貫入抵抗測定と同時にルーメン液をルーメン腹囊上部より採取した。ルーメン液はルーメンカニューレより自作のスポイトで吸引し、ガーゼで濾してサンプルボトルに約50 ml採取した。採取後直ちにpHを測定した後、アンモニア態窒素およびVFA濃度の分析まで-30℃で凍結保存した。なお貫入抵抗測定期間中の飼料給与時刻は、測定の重複をさけるため4頭の供試牛のうち2頭の給与時刻を1時間繰り下げた。

ルーメン内容物のプールサイズおよび飼料片粒度分布を計測するために全量採取を行った。内容物採取は飼料給与直前（0h）と給与2時間後（2h）に実施した。牛への負担を考慮して、内容物採取終了後は2日間の回復期を設けた。ルーメン内容物はカニューレから固層部分については素手で採取し、液相部分についてはカップですくい取った。採取したルーメン内容物は計量後、分析用として適量を試料として保存し、残りの内容物は直ちにルーメン内に戻した。

ルーメン内容物サンプルは約30～50 gずつ5～6回湿式篩別した。湿式篩別には、目開きの大きさが2.36 mm, 1.18 mm, 0.60 mm, 0.30 mm, 0.15 mmの6段階に分かれている篩を用いた。サンプルを上段に入れた後に振幅2 mmで水をシャワー状にふりかけながら20分かけて篩別した（SIEVE SHAKER, MRK-RETSCH）。目開きが2.36 mm以上の篩に残留したものを大飼料片、2.36 mm篩を通過し0.15 mm以上篩に残留したものを小飼料片、0.15 mm未満でふるいを通過してしまったものを微細飼料片とした。大飼料片と小飼料片については、5～6回分のサンプルをひとまとめにして封筒に入れ、60℃で48時間送風乾燥した。その後、粉碎した後に乾物重量を測定した。各分画の飼料片乾物重量を湿式篩別に用いた総サンプルの乾物重量で除して粒度分布を算出した。

乳量は試験期間を通して毎日ミルクンバーラーで自動計測されたデータを用いた。乳成分については、本試験期の1日目夕方から4日目の朝にかけて6搾乳連続で乳サンプリングをおこなった。乳成分の分析は北海道酪農検定検査協会に依頼して、近赤外線分光分析法により行った。

3.1.2.5. 化学分析および解析方法

飼料およびルーメン内容物はすべて60℃で48時間送風乾燥した後に粉碎し、分析に供した。乾物（DM）、粗タンパク質（CP）、粗脂肪（EE）および粗灰分（Ash）含量の分析はAOAC（1999）に準拠した。中性デタージェント繊維（NDF）および酸性デタージェント繊維（ADF）はVan Soest *et al.*（1991）の方法に従った。非繊維性炭水化物（NFC）はNRC（2001）の式にしたがって算出した。

$$\text{NFC} = 100 - (\text{Ash} + \text{CP} + \text{NDF} + \text{EE})$$

給与TMRのDM含量は44.7%であった。その他の化学成分含量（DM中）はCP：14.8%、NDF：39.3%、ADF：20.7%、EE：3.2%、Ash：6.7%、NFC：36.1%であった。

給与TMR飼料片の粒度分布をPenn State Particle Separator（PSPS）を用いて計測した（Lammers *et al.*, 1996）。本研究で用いたPSPSは2段の篩（目開き19 mmおよび8 mm）と受け皿から成るものであった。給与TMRをPSPSで篩別した際に、上側2段の篩上に残留した乾物飼料片割合の合計値をphysical effectiveness factor（pef）とし、pefに給与TMR中の乾物中NDF含量を乗じてphysically effective fiber（peNDF）含量を算出した（Beauchemin and Yang, 2005）。

ルーメン液を解凍後、アンモニア態窒素濃度の分析は水蒸気蒸留法（AOAC, 1999）でおこない、VFA濃度の分析はガスクロマトグラフ（GSG3810；柳本製作所、京都）で実施した（Erwin *et al.*, 1961）。

3.1.2.6. 統計処理

統計処理にはJMP7（SAS 2007）のフィットモデルプロシージャーを用いた。試験期と牛を変量効果、処理の影響を固定効果とした。 $P < 0.05$ で有意差あり、 $P < 0.10$ で傾向ありとした。

3.1.3. 結果

3.1.3.1. 供試飼料

対照区TMR、細断区TMRでそれぞれpefは0.53および0.38、peNDF含量は21.0%および14.9%であった（表3-1-1）。

3.1.3.2. 採食量、咀嚼活動および乳生産

表3-1-1から、1日当たりのDM摂取量（DMI）およびNDF摂取量（NDFI）は両処理とも同様であったが、peNDF摂取量（peNDFI）は細断区で有意に減少した（ $P < 0.01$ ）。

Table 3-1-1 Particle size distribution, physical effectiveness factor (pef) and physically effective fiber (peNDF) contents of total mixed ration (TMR¹) and voluntary intake, eating behavior, rumination activity and milk production in cows

	Control ¹	Chop ²	SE	P-value
Particle size distribution ³ , % DM retained on sieves				
19.0mm	13.9	5.1	—	—
8.0mm	39.4	32.8	—	—
Pan	46.7	62.1	—	—
pef ⁴	0.53	0.38	—	—
peNDF ⁵ , % DM	21.0	14.9	—	—
Intake				
DMI, kg/day	19.7	19.7	2.3	NS
NDFI, kg/day	7.45	7.67	1.01	NS
peNDFI, kg/day	3.85	2.91	0.43	0.002
Chewing activity				
Eating time, min/day	329.6	310.2	32.9	NS
No. of meals, /day	11.2	11.9	1.8	NS
Duration of meals, min	34.6	30.5	4.3	NS
Eating rate, gDM/meal	55.5	62.2	2.7	0.09
Rumination time, min/day	500.5	525.7	14.4	NS
No. of rumination periods, /day	13.5	13.5	1.4	NS
Duration of rumination periods, min	36.4	40.3	4.5	NS
Total chewing time, min/day	830.1	836.0	33.5	NS
Total chewing time/DMI, min/kg	43.6	43.9	4.3	NS
Total chewing time/NDFI, min/kg	117.9	111.6	12.4	NS
Milk production				
Milk yield, kg/day				
Actual	27.9	27.1	3.6	NS
4% FCM	28.1	28.5	3.6	NS
Milk fat, %	4.08	4.34	0.12	NS
Milk protein, %	3.42	3.46	0.14	NS
Milk SNF, %	9.02	9.08	0.21	NS
MUN, mg/dL	7.73	8.24	1.45	NS

¹ TMR had DM contents of 44.7%, and chemical compositions (DM basis) of 93.3% for OM; 14.8% for CP; 39.3% for NDF; 20.7% for ADF; and 3.2% for EE; 36.1% for NFC; and 58.8% for TDN, respectively. DM: dry matter; OM: organic matter; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber; EE: ether extract; NFC: nonfiber carbohydrates; and TDN: total digestible nutrients.

² Chop: the ration prepared by twice-chopping the control TMR using a forage chopper.

³ Particle size distribution of TMR was measured using a Penn State Particle Separator (Lammers et al. 1996).

⁴ Physical effectiveness factor determined as the proportion of particles with DM > 8mm.

⁵ Physically effective NDF measured as the NDF content of TMR multiplied by pef.

SE: Standard error

採食時間、採食期の回数や持続時間に処理による差はなかった。一方、採食期の採食速度は対照区に比べ細断区が速い傾向にあった ($P < 0.10$)。一日の総反芻時間、反芻期の回数および持続時間は処理による差はみられなかった。

産乳量は対照区 27.9 kg/日、細断区では 27.1 kg/日となった。4%FCM、乳脂肪率、乳タンパク質率、無脂乳固形分率 (SNF) および乳中尿素態窒素濃度 (MUN) にはいずれも差はなかった。

3.1.3.3. ルーメン内容物およびルーメンマット性状

ルーメン内容物量、内容物の粒度分布および貫入抵抗測定試験の結果について表 3-1-2 に示した。ルーメン内 DM および NDF 量はサンプリング時刻にかかわらず飼料間で差はなかった。内容物の各粒度プールサイズは両区ともに 0 h では小飼料片が大飼料片および微細飼料片をやや上回る傾向を示したが、2 h では大飼料片と小飼料片がほぼ等しくなった。0 h および 2 h のいずれにおいても粒度分

Table 3-1-2 Rumen digesta characteristics and mean retention time (MRT) of feed particles in lactating cows

	Control	Chop ¹	SE	<i>P</i> -value
Total rumen digesta				
DM weight, kg				
0h ²	10.9	11.5	1.0	NS
2h	14.5	14.1	1.0	NS
NDF weight, kg				
0h	7.20	7.67	0.64	NS
2h	8.69	8.75	0.48	NS
Ruminal particle pool size, kg DM				
0h ²				
Large particles(>2.36mm)	3.38	3.73	0.60	NS
Small particles(>0.15mm)	4.00	4.31	0.51	NS
Fine particles(<0.15mm)	3.50	3.51	0.37	NS
2h ²				
Large particles(>2.36mm)	5.10	4.94	0.32	NS
Small particles(>0.15mm)	5.27	5.13	0.36	NS
Fine particles(<0.15mm)	4.16	4.08	0.44	NS
Penetration resistance test				
Total rumen digesta				
q _c value ³ , N/cm ²	25.2	24.8	0.6	NS
Depth, cm	53.1	53.2	1.7	NS
Ruminal mat ⁴				
q _c value, N/cm ²	32.4	29.6	1.5	0.09
Thickness, cm	31.4	37.0	2.4	0.04
Non-mat material ⁵				
q _c value, N/cm ²	23.4	21.6	1.5	NS
Depth, cm	20.5	17.1	3.3	NS

¹ Chop: the ration prepared by twice-chopping the control TMR using a forage chopper.

² Hours after feeding.

³ $q_c = F_c/A_c$, q_c : Cone penetration resistance, F_c : The force acting on the cone, A_c : The projected area of the cone.

⁴ Values are the means in the area above the point at which the 2 regression lines for the relationship between the q_c value and depth of the rumen digesta intersected.

⁵ Values are the means in the area below the point at which the 2 regression lines for the relationship between the q_c value and depth of the rumen digesta intersected.

SE: Standard error

布に処理間差は認められなかった。貫入抵抗試験の結果、総内容物および非マット層は堅さおよび深さに飼料間で差はなかった。ルーメンマットの堅さは有意ではなかったものの対照区が細断区よりも堅くなる傾向を示し ($P < 0.10$)、厚さは対照区よりも細断区が上回った ($P < 0.05$)。

ルーメン内容物、ルーメンマットおよび非マット層の堅さおよび深さの日内推移を図 3-1-1~3-1-3 に示した。ルーメン内容物は堅さ、深さともに大きな日内変動はみられなかった (図 3-1-1)。ルーメンマットの堅さは対照区に比べて細断区で変動が大きくなる傾向を示した (図 3-1-2)。ルーメンマットの厚さは細断区の給与 6 時間後を除き、おおむね 20 cm から 40 cm の範囲で推移した (図 3-1-2)。非

マット層の堅さは両飼料ともに大きな変動はみられなかった (図 3-1-3)。一方、非マット層の深さは給与 2 および 14 時間後では細断区が対照区よりも深くなる傾向を示し ($P < 0.10$)、給与 20 時間後では対照区の方が深くなる傾向を示した ($P < 0.10$)。

3.1.3.4. ルーメン発酵

表 3-1-3 にルーメン液の発酵性状についてまとめた。ルーメン液 pH は処理による差はなかった。総 VFA、酢酸、プロピオン酸の各濃度は細断区で高い値となる傾向を示した ($P < 0.10$)。その他の VFA およびアンモニア態窒素濃度には処理による差はなかった。

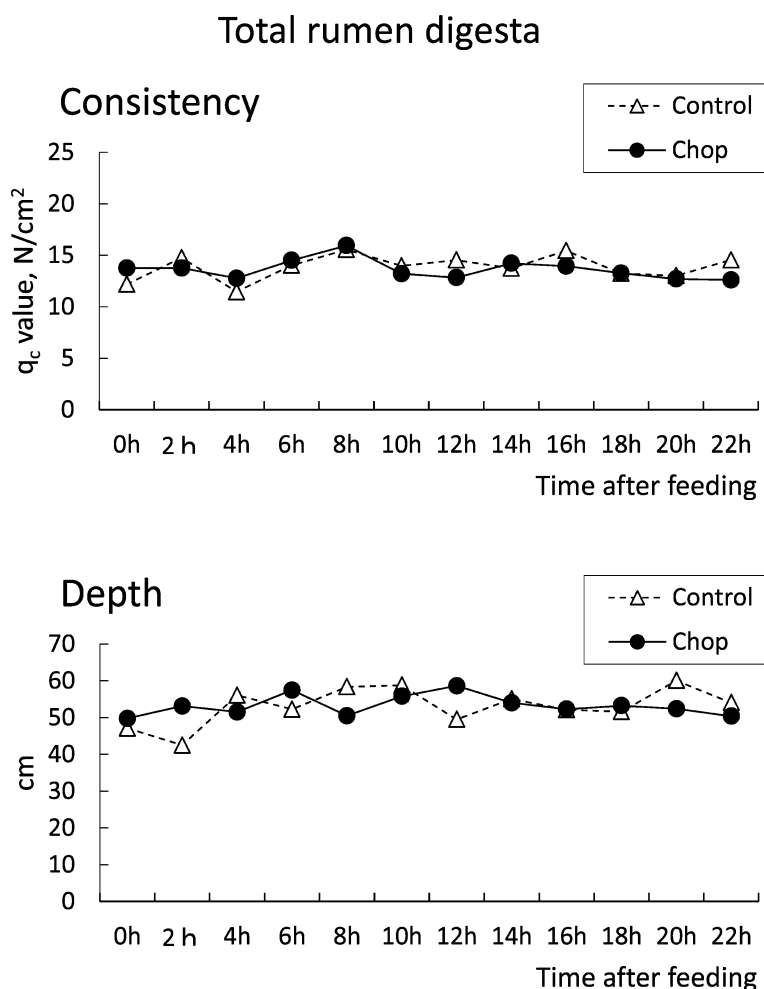


Figure 3-1-1 Effects of particle length of TMR on diurnal variation of the consistency and the depth of total rumen digesta. q_c : Cone penetration resistance.

3.1.4. 考察

3.1.4.1. 飼料切断長とルーメンマット性状の関係

細断区は対照区と比べて飼料中 peNDF 含量が 6% 以上低下し、peNDFI も少なかったことから、対照区よりも飼料の物理的有効度が低いと判断できた。それにもかかわらず、ルーメンマットの堅さは対照区との間に有意な差はなく、むしろ細断区ではマットの厚みが有意に増すことが示された。その他、採食期の採食速度も細断区で増加傾向にあった ($P < 0.10$)。反芻動物における採食時の咀嚼は飼料片の微細化よりもむしろ嚥下可能な食塊を形成するために費やされており、飼料粒度や繊維含量が増加すると採食時間も延長すると考えられている (Wilson and Kennedy, 1996)。したがって、採食速度が示しているとおりに、細断区では短時間で対照区とほぼ同量の飼料を摂取したことになり、そのため食塊

を形成するための咀嚼回数が少なかったと考えられる。

採食速度が速く、嚥下までの咀嚼回数が減少すると、ルーメンに流入する大飼料片割合が高まると考えられる (Lee and Pearce, 1984)。流入直後の大飼料片は細胞壁内の空隙が多く残っており比重が軽いので、ルーメン上部に浮遊してルーメンマットの主要構成要素となる (Van Soest, 1994)。比重の軽い大飼料片が短時間に大量に流入したことが細断区におけるルーメンマットの厚みの増加に結びついたと推測される。

反芻活動に関しては細断による影響は認められなかった。ルーメンマットはルーメン壁と接触することで反芻を引き起こすと考えられており (Iggo and Leek, 1970)、その接触刺激の強弱にはマットの堅さが関係しているとされている (Zebeli *et al.*, 2012)。この点から判断すると、本試験ではルーメンマット

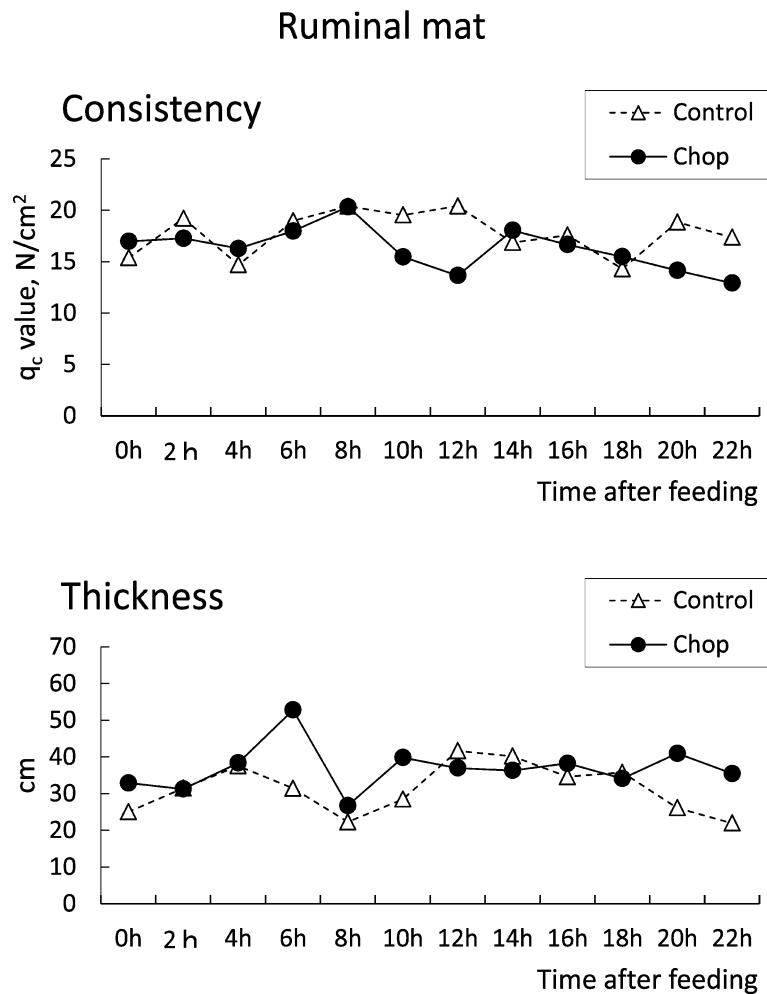


Figure 3-1-2 Effects of particle length of TMR on diurnal variation of the consistency and the thickness of ruminal mat. q_c: Cone penetration resistance.

の堅さは対照区が細断区をやや上回ったが ($P < 0.10$), 反芻活動を促進するだけの機械刺激増加に結びつくほどではなかったと推測された。一方で、マットの厚さは細断区の方が厚かったものの ($P < 0.05$), 厚さの違いも反芻時間に影響することはない。

Yang and Beauchemin (2007a) はアルファルファサイレージの粒度を変えることで給与飼料中の peNDF 含量を 13.9% と 19.8% の 2 種類に設定した (粗濃比 60 : 40)。この peNDF 含量と粗飼料割合は本試験と類似する構成であったが、彼らの試験では peNDF 含量と 1 日の採食、反芻および総咀嚼時間との間には有意な正の関係は認められなかった (いずれも $P < 0.10$)。Beauchemin and Yang (2005) は粗飼料源として粒度の異なるコーンサイレージを用いて試験を実施したが、同様に peNDF 含量と咀嚼時間には正の直線関係を認めなかった (採食、反

芻および総咀嚼時間いずれも $P > 0.10$)。本試験においても、飼料中 peNDF 含量を変えることでルーメン内容物の物理性も変化した。反芻活動を促進するだけの強度ではなかった。上述した報告はいずれもルーメンマットの性状や形成程度については測定していないが、peNDF 含量の変化量ほどにルーメンマットの物理性は変化していなかったのかもしれない。これらの結果は、反芻活動との関連を検討する際には、peNDF 含量をとらえるだけでは不十分であることを示唆している。

細断区のルーメン発酵性状は、pH の低下を伴わずに、VFA 濃度は高い値となる傾向を示した。ルーメンに流入した飼料片は反芻による再咀嚼によって植物組織構造が破碎され、質量当たりの表面積が増大し、微生物の付着を容易にすることで発酵・分解の効率上がる (一戸と関根, 2004)。細断区では、反芻時咀嚼を受けずとも繊維粒度が縮小していたの

Non-mat material

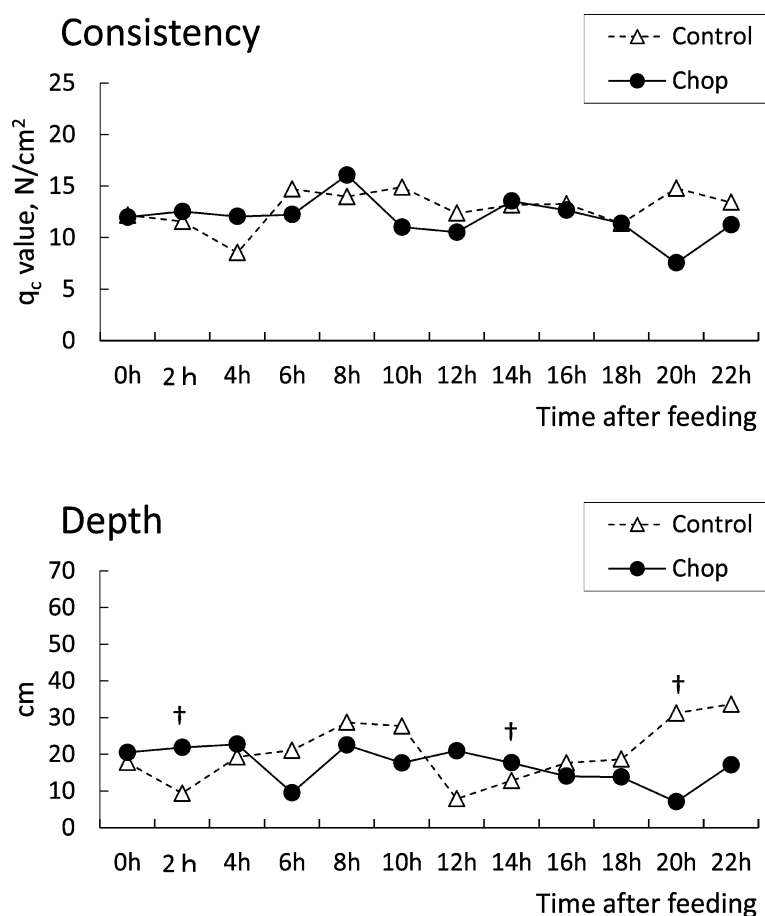


Figure 3-1-3 Effects of particle length of TMR on diurnal variation of the consistency and the depth of non-mat material. qc: Cone penetration resistance. †: $P < 0.10$

Table 3-1-3 Ruminal pH, VFA, and NH₃-N for each diet in lactating cows

	Control	Chop ¹	SE	P-value
pH	6.21	6.16	0.06	NS
VFA				
Total, mM	125.3	147.6	7.7	0.09
Acetate (A), mM	75.3	87.6	5.6	0.09
Propionate (P), mM	23.6	29.9	2.7	0.06
Butyrate, mM	18.6	21.3	1.4	NS
A:P	2.77	2.87	0.21	NS
NH ₃ -N, mg/dL	6.73	7.06	0.71	NS

¹ Chop: the ration prepared by twice-chopping the control TMR using a forage chopper.
SE: Standard error

で、微生物の植物組織内部への付着および侵入が容易になり、結果的に発酵が促進された可能性がある。細断区のルーメンマットは対照区よりも軟らかい傾向にあったが、反芻活動を減じるほどではなく、発

酵促進の効果と合わせ考えるとむしろ理想的な堅さであったと言えるかもしれない。ルーメンマットが堅すぎることで、反芻活動が抑制されることはないと考えられるが、ルーメン発酵の遅延から飼料片の

滞留時間が延長し、結果的に DMI が減少してしまうかもしれない。ルーメンマットの堅さの至適水準についてはさらなる検討が必要である。

3.1.4.2. TMR 粒度とルーメンマット物理性の関係

一般的に、TMR 調製時に粗飼料投入後のミキサー攪拌時間が長くなるにつれ、飼料同士の磨砕によって繊維が摩耗したり、カッティング機能付きのオーガでは繊維の切断が進み、飼料の物理的有効度が低下すると考えられている。このような想定から、TMR ミキサーの攪拌時間は各飼料が混合される限りにおいては短い方が良いとされている (Heinrichs, 1999)。しかし、本試験では、細断区でみられたように TMR 切断長が短縮してもルーメンマットの反芻誘起に対する物理的有効性が低下することではなく、むしろマットの厚みは増すことが示された。ルーメンマットの厚みが増すことにより、ルーメンマットへの小飼料片絡め取り効果による飼料の利用効率向上が期待できる (Grant and Cotanch, 2012)。細断区でマットの堅さが有意に低下しなかった原因として、今回供試した TMR のように比較的粗飼料割合の高い飼料 (粗飼料割合 53.2%) では切断することで牧草の茎部やトウモロコシ子実の芯などが破碎され、マット内部への充填密度が高まったためではないかと推測される。粗濃比の高い TMR ではサイレージの切断長を短くすると DMI と乳脂補正乳量 (FCM) (Beauchemin *et al.*, 1994) あるいは乳脂率 (Park and Okamoto, 2008) が増加するという報告があるが、そのような結果に対してルーメンマットの物理性がどのように関与しているのか興味を持たれる。

以上、細断区でルーメンマットの物理性低下が認められなかったことから、peNDF 含量とルーメンマットの物理性の間には従来認識されてきたような直線的な関係だけでは説明できないメカニズムが存在することが示唆された。

3.1.4.3. まとめ

従来、飼料粒度の縮小がルーメンマットの形成不全をもたらし、ルーメン環境に悪影響を及ぼすと認識されてきた。しかし本試験では、給与飼料の peNDF 含量が低下し、peNDFI が有意に減少したにも関わらずルーメンマットの堅さは緩やかな軟化にとどまり、逆に厚みが増すことでマットの物理性低下は抑制された。その結果、咀嚼活動および乳生産に悪影響は及ぼさず、ルーメン発酵はむしろ改善す

る傾向が認められた。これは、peNDF 含量とルーメンマットの物理性との間には必ずしも正の直線関係がないことを示唆するものである。

3.2. 給与飼料中粗濃比の違いとルーメンマット性状の関係 (試験 2)

3.2.1. 目的

高泌乳牛は高乳生産を充足させるためのエネルギー要求量が高く、要求量を充足させるためには大量の可消化有機物を与える必要がある。そのためには、飼料の粗濃比を下げ、テンブ源を多給しなくてはならない。しかし、そのような飼料設計では飼料中 peNDF 含量も低下してしまい、ルーメンマットを含むルーメン内の階層構造を形成できず、結果的にルーメン pH を適切に保つことが困難になると想定されている (Okamoto, 2000; Yang and Beauchemin, 2009)。Okamoto (2000) によると、粗濃比 70:30 の牛群では反芻時間 450 分/日、乳脂率 3.78%であったのに対して、粗濃比 32:68 の牛群では同 310 分/日、3.08%といずれも極めて低い値であったことが報告されている。一方で、このことを防ぐために飼料中 peNDF 含量を増やしすぎると粗濃比が過度に上昇し、飼料中の可消化有機物量を確保できなくなることから、最低限かつ最適な繊維供給量の検討が求められている (Yang and Beauchemin, 2009; Grant and Cotanch, 2012)。

このような観点から、peNDF 含量と粗濃比を変えた 2 要因試験が何度か実施された (Yang and Beauchemin, 2007a, b; Yang and Beauchemin, 2009)。これらの試験では粗濃比の高低によって peNDF 含量とルーメン pH の関係が異なることが示唆されている (Yang and Beauchemin, 2007a; Yang and Beauchemin, 2009)。粗濃比の高い飼料では peNDF 含量の変化に対するルーメン pH の反応は鈍かったが、粗濃比の低い飼料では peNDF 含量を高めることによってルーメン pH も上昇した (Yang and Beauchemin, 2007a)。後者の飼料では、peNDF 含量を高めることでルーメンマットの形成が促進されたためであると推察されたが、その実態についての検証はなされていない。

このように、飼料中の粗濃比と peNDF 含量の関連は乳牛の生産性やルーメン環境に影響を及ぼすと考えられるが、粗濃比の違いがルーメン内の物理的階層構造にどのように影響しているのかは未解明である。

そこで本試験ではコーンサイレージ (CS) とグラスサイレージ (GS) の給与比率を変えることで、粗

濃比と peNDF 含量の異なる 2 種類の TMR を調製した。これらの飼料を給与した泌乳牛において、粗濃比の違いがルーメンマットの物理的性状、ルーメン内発酵、採食反芻活動および乳生産に及ぼす影響について検討することを目的とした。

3.2.2. 材料と方法

3.2.2.1. 供試動物

酪農学園大学附属農場で飼養されているルーメンカニューレを装着したホルスタイン種泌乳牛 4 頭を用いた（平均体重 657.0 kg, 平均分娩後日数 129.8 日, 平均産次 2.0 産）。搾乳は毎日 5 時 30 分と 16 時の 2 回とし、ミルクパーラーで行った。その他の飼養環境は試験 1（3 章 1 節）と同様であった。

3.2.2.2. 供試飼料

供試飼料は破碎処理したコーンサイレージ (CS), 細切調製したグラスサイレージ (GS), 粗く切断したアルファルファロールベールサイレージ (AS), 搾乳牛用配合飼料 (TM7, ルミバランス 18; 雪印種苗株式会社, 札幌), 大豆粕, ビートパルプを混合した TMR を用いた。TMR の飼料設計については、日本飼養標準・乳牛 (1999 年版) に付属している養分要求量計算シートと飼料計算シートを使用した。計算に用いた前提条件は分娩後日数 150 日, 産次 2.0 産, 体重 650 kg, 乳量 34 kg, 乳脂率 4.0% とした。

CS, 牧草サイレージ (GS+AS) および濃厚飼料の乾物給与割合を 17.0:24.9:58.1 と 47.5:11.1:41.4 の 2 通りとし、前者を粗濃比 40:60 (実際の粗濃比は 41.9:58.1), 後者を粗濃比 60:40 (同 58.6:41.4) とした。これらの飼料を粗濃比 40:60 では 10 時 30 分に、粗濃比 60:40 では 10 時に 1 日 1 回給与した。残飼については、給与 30 分前に除去した。給与量は自由採食となるように前日の原物採食量の 1.2 倍とした。固形塩および水は自由摂取とした。表 3-2-1 に粗飼料の化学成分, 表 3-2-2 に飼料の乾物給与割合および化学・物理成分含量を掲載した。

飼料の調製には、粗濃比 40:60 はリール式の牽引型ミキサー (リールアーギーミキサー, KUHN KNIGHT, アメリカ) を使用し、粗濃比 60:40 はオーガ式の定置型ミキサー (SUPREME, 土谷特殊農機製作所, 帯広) を使用した。粗濃比 40:60 は毎日調製し、粗濃比 60:40 は数日分をまとめて調製した。調製した粗濃比 60:40 TMR は一日の使用分ずつビニール袋 (厚さ 0.05 mm 横 120 cm×縦 190 cm) を 2 重にかぶせた 200 L のポリバケツに入れて

Table 3-2-1 Chemical composition of forage

	Corn silage	Grass silage	Alfalfa round bale silage
DM, %	30.9	21.5	70.6
OM, % DM	95.7	89.5	90.1
CP, % DM	6.7	11.7	13.8
NDF, % DM	41.1	63.6	57.3
ADF, % DM	23.8	32.9	42.3
TDN ¹ , % DM	72.2	59.2	58.8

DM: dry matter; OM: organic matter; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber; TDN: total digestible nutrients.

¹TDN was analyzed by the Agricultural Product Chemical Research Laboratory in the Tokachi Federation of Agricultural Cooperatives using estimated equations of NRC (2001).

踏圧し、さらに掃除機を用いて内部の空気を抜いた。その後トワインで袋を縛り、大型の冷蔵庫内で最長 6 日間保存した。

3.2.2.3. 試験設計および飼養管理

試験は 1 期 21 日間 (予備期 9 日間, 本試験期 12 日間) の 2 期反転法により実施した。供試牛は 2 頭一組とし、1 試験期終了後にそれぞれ飼料を反転した。処理によって飼料の構成割合が大きく変化するので、I 期と II 期の間に 3 日間の移行飼料給与期 (移行期) を設けた。移行期の飼料は粗濃比 40:60 と粗濃比 60:40 の TMR を 50% ずつ混合したものであった。なお、供試牛 1 頭にサンプリング時のアシシメントがあったため I 期の本試験期間を 3 日間延長した。それに伴い他の供試牛 3 頭の II 期の予備期間を 3 日間延長した。

採食量調査は本試験中に毎日、採食・反芻行動および乳量・乳成分調査を 1~4 日目に、ルーメン内貫入抵抗およびルーメン内滞留時間 (MRT) の測定を 4~8 日目に、ルーメン内容物全量採取を 9 日目と 12 日目におこなった。

3.2.2.4. 測定項目およびサンプル採取

給与 TMR 飼料片の粒度分布を PSPS を用いて計測した。pef および peNDF 含量の算出は試験 1 と同様とした。採食量、採食行動および反芻活動の測定方法は試験 1 と同様であった。

ルーメン内容物の堅さを測定し、ルーメンマットを定義するために貫入抵抗測定を実施した。試験 1 と同様の手法であったが、測定時刻は飼料給与直前を起点 (0 時間) とし 2 時間ごとに 22 時間までの 12 回とした。1 日の測定は 4 回以内とした。なお貫入抵抗測定期間中の飼料給与時刻は、測定の重複をさけるため粗濃比 40:60 区の 2 頭は 11 時に給与し

Table 3-2-2 Ingredients and chemical and physical composition of the total mixed ration (TMR) diets (DM basis)

Ingredients, %	Forage: concentrate (F:C)	
	40:60	60:40
Corn silage	16.8	46.8
Grass silage	21.8	8.20
Alfalfa round bail silage	2.86	2.76
Concentrate mixture A ¹	25.0	9.28
Concentrate mixture B ²	21.2	13.0
Beet pulp	7.69	7.43
Soybean meal	3.85	11.14
Mineral supplement ³	0.64	1.24
Vitamin supplement ⁴	0.13	0.12
Actual F:C ratio	41.9:58.1	58.6:41.4
Chemical and physical composition of TMR		
DM, %	43.0	40.1
NDF, % DM	37.3	37.5
NDF from forages, % NDF	64.5	73.6
Particle size distribution ⁵ , % DM retained on sieves		
19.0mm	7.27	14.3
8.0mm	43.0	44.4
Pan	49.8	41.3
pef ⁶	0.50	0.59
peNDF ⁷ , % DM	18.8	22.0
ADF, % DM	20.3	21.3
CP, % DM	16.0	15.9
TDN, % DM	73.7	72.7

¹ Contains 68% grains, 19% oil meals, 12% brans, and 1% others.

² Contains 51% grains, 30% oil meals, 14% brans, and 5% others.

³ Contains 240, 100, and 60 g/kg of Ca, P, and Mg, respectively.

⁴ Contains 10,000 IU, 2,000 IU, and 10 mg/g of vitamins A, D₃, and dl- α -tocopherol acetate, respectively.

⁵ Particle size distribution of TMR was measured using a Penn State Particle Separator.

⁶ Physical effectiveness factor determined as the proportion of particles with DM > 8mm.

⁷ Physically effective NDF measured as the NDF content of TMR multiplied by pef.

た。また給与直前の測定をする場合は、両飼料ともに通常より1時間給与時刻を繰り下げた。貫入抵抗測定と同時に、ルーメン液を12回採取した。ルーメン液の採取およびその後の処理は試験1と同様の手法で行った。

プールサイズおよび飼料片粒度分布を計測するために、ルーメン内容物の全量採取を行なった。採取時刻は給与直前(0h)と、給与してから2時間後(2h)の2回とした。牛への負担を考慮して内容物採取終了後は2日間の回復期を設けた。内容物採取に関するその他の手法は試験1と同様であった。粒度分画測定法(湿式篩別法)に関しては、1.18mm以上の篩に残留したものを大飼料片とした以外は、試験1(3章1節)と同様の手法で実施した。

ルーメン内MRTを測定するために、本試験期4日目の飼料給与前に希土類元素で標識したCSおよびGSマーカーをルーメンカニューレより単投与し

た。希土類元素標識マーカーは、Mader *et al.* (1984)の方法に従い、0.5%溶液に24時間浸漬することで調製した(CS:Yb; GS:La)。浸漬終了後、各マーカーは流水で1時間洗浄し、送風乾燥した。マーカー投与7時間後から直腸糞採取を行い、以後4~6時間おきに計15回糞を採取した。採取した糞は60℃で48時間以上送風乾燥させ、計量後粉碎した。これらの糞サンプルのうち一部を、リグニンを不消化マーカーとして消化率を算出するために混合してプール糞とした。

乳量は試験期間を通じてミルクングパーラーで自動計測されたデータを使用した。乳成分については、本試験期の1日目夕方から4日目の朝にかけて6搾乳連続で乳サンプリングをおこなった。サンプルは夕方と翌朝を一日分とし混合した。計3日分のサンプルを、乳成分の分析は北海道酪農検定検査協会に依頼して、近赤外線分光分析法により行った。

3.2.2.5. 化学分析および解析方法

飼料、ルーメン内容物およびプール糞の分析は試験1と同様である。消化率算出のため、飼料およびプール糞については酸性デタージェントリグニン(ADL)含量を分析した(AOAC, 1999)。消化率の算出は一戸(2004)の方法に従った。

- ・各成分排泄量 = 各成分採食量 × (飼料中リグニン含量 ÷ 糞中リグニン含量)
- ・各成分消化率 = (1 - 各成分排泄量 ÷ 各成分採食量) × 100

MRT算出用の個別糞サンプルは硝酸と過塩素酸で湿式灰化した後に、希土類元素濃度をICP発光分析装置で定量した。各マーカーのMRTはPond *et al.* (1988)のtwo-compartment modelを用いて算出した。

ルーメン液を解凍後、アンモニア態窒素濃度およびVFA濃度の分析を試験1と同様に実施した。

3.2.2.6. 統計処理

統計処理にはJMP7 (SAS 2007)のフィットモデルプロシージャーを用いた。試験期と牛を变量効果、処理の影響を固定効果とした。 $P < 0.05$ で有意差あり、 $P < 0.10$ で傾向ありとした。

3.2.3. 結果

3.2.3.1. 供試飼料

飼料の化学成分はNDF, ADF, CPおよびTDN含量がいずれも飼料間で近似した値となり両飼料の栄養価は類似していた(表3-2-2)。ただし、粗濃比40:60では粗飼料由来NDF含量が低下した。

一方、飼料の物理性についてみると、粗濃比40:60と比べて粗濃比60:40は目開き19mm以上の篩残留割合が高く、逆に受け皿に落下する飼料片の割合が低かった。その結果、pefおよびpeNDF含量は粗濃比40:60よりも粗濃比60:40が高い値となった。

3.2.3.2. 採食量および咀嚼活動

表3-2-3に採食量、咀嚼活動および乳生産についてまとめた。1日のDMおよびNDFIに飼料間で差はみられなかった。1日の総採食時間、採食期回数および採食期1回当たりの持続時間にも飼料による差は認められなかった。1日の総反芻時間、反芻期出現回数および反芻期1回当たりの持続時間は飼料間で類似した値となった。1日の総咀嚼時間、DMI当たりの総咀嚼時間およびNDFI当たりの総咀嚼時間に有意差は認められなかった。

乳生産に関しては、実乳量に差はなかったが、4%FCMでは粗濃比40:60よりも粗濃比60:40が高

Table 3-2-3 Intake, chewing activity, and milk production of lactating cows fed 2 different diets

	Forage: concentrate		SE	P-value
	40:60	60:40		
Intake				
DMI, kg/day	19.3	18.7	0.6	NS
NDFI, kg/day	7.17	6.94	0.21	NS
Chewing activity				
Eating time, min/day	259.6	260.3	24.4	NS
No. of meals, /day	10.0	8.7	0.9	NS
Duration of meals, min	29.2	37.1	6.2	NS
Rumination time, min/day	519.3	526.0	46.5	NS
No. of rumination periods, /day	14.1	14.5	0.5	NS
Duration of rumination periods, min	37.0	36.5	2.4	NS
Total chewing time, min/day	778.9	786.3	58.3	NS
Total chewing time/DMI, min/kg	40.6	42.1	3.6	NS
Total chewing time/NDFI, min/kg	108.8	113.0	7.8	NS
Milk production				
Milk yield, kg/day				
Actual	20.9	21.7	3.3	NS
4% FCM	22.8	24.7	3.4	0.099
Milk fat, %	4.19	4.46	0.14	NS
Milk protein, %	3.73	3.69	0.06	NS
Milk SNF, %	9.23	9.06	0.17	0.052
MUN, mg/dL	8.43	7.32	1.39	NS

SE: Standard error

くなる傾向を示した ($P < 0.10$)。乳成分に関しては、乳脂肪率、乳タンパク質率および MUN に処理間差はなかったが、無脂乳固形分率は粗濃比 40 : 60 が粗濃比 60 : 40 よりも高い傾向を示した ($P < 0.10$)。

3.2.3.3. ルーメン内容物およびルーメンマット性状

ルーメン内容物量、ルーメン内飼料片の粒度別プールサイズおよび貫入抵抗試験結果を表 3-2-4 にまとめた。ルーメン内 DM 量および NDF 量は飼料給与直前および 2 時間後いずれも処理間差はなかった。また、給与からの 2 時間で DM 量は粗濃比 40 : 60 で 3.3 kg、粗濃比 60 : 40 で 4.7 kg 増加し、NDF 量では粗濃比 40 : 60 では 1.6 kg、粗濃比 60 : 40 では 2.7 kg 増加した。ルーメン内飼料片の粒度別プールサイズは給与直前および 2 時間後いずれも処理間で差はなかった。給与前後の増加量では、両処理と

も大飼料片と微細飼料片の増加の程度が大きく、小飼料片プールの変化は小さかった。貫入抵抗測定の結果から、総内容物、ルーメンマットおよび非マット層いずれも q_c 値および深度に処理による差はなかった。

3.2.3.4. ルーメン発酵

ルーメン液の発酵性状について表 3-2-5 に示した。pH は両処理で差はなく、値も正常範囲であった。総 VFA 濃度、各 VFA 濃度および AP 比についても処理間差はなかった。アンモニア態窒素濃度は粗濃比 40 : 60 が粗濃比 60 : 40 よりも有意に高い値となった ($P < 0.05$)。

3.2.3.5. ルーメン内飼料片の滞留時間および飼料の消化率

ルーメン内飼料片の MRT と成分別の全消化管

Table 3-2-4 Rumen digesta characteristics in lactating cows

	Forage: concentrate		SE	P-value
	40:60	60:40		
Total rumen digesta				
DM weight, kg				
0h ¹	9.51	9.89	0.90	NS
2h	12.8	14.6	1.2	NS
NDF weight, kg				
0h	5.94	6.61	0.70	NS
2h	7.56	9.32	0.82	NS
Ruminal particle pool size, kg DM				
0h ¹				
Large particles (> 1.18mm)	4.08	4.46	0.40	NS
Small particles (> 0.15mm)	2.26	2.60	0.24	NS
Fine particles (< 0.15mm)	3.17	2.84	0.32	NS
2h ¹				
Large particles (> 1.18mm)	5.77	6.70	0.65	NS
Small particles (> 0.15mm)	2.90	3.21	0.31	NS
Fine particles (< 0.15mm)	4.12	4.72	0.87	NS
Penetration resistance test				
Total rumen digesta				
q_c value ² , N/cm ²	20.5	21.6	2.3	NS
Depth, cm	61.0	62.7	2.0	NS
Ruminal mat ³				
q_c value, N/cm ²	23.8	24.0	3.3	NS
Thickness, cm	34.4	36.4	3.0	NS
Non-mat material ⁴				
q_c value, N/cm ²	18.4	19.2	2.5	NS
Depth, cm	26.3	26.6	3.5	NS

¹ Hours after feeding.

² $q_c = F_c/A_c$, q_c : Cone penetration resistance, F_c : The force acting on the cone, A_c : The projected area of the cone

³ Values are the means in the area above the point at which the 2 regression lines for the relationship between the q_c value and depth of the rumen digesta intersected.

⁴ Values are the means in the area below the point at which the 2 regression lines for the relationship between the q_c value and depth of the rumen digesta intersected.

SE: Standard error

Table 3-2-5 Ruminal pH, VFA, and NH₃-N for each diet in lactating cows

	Forage: concentrate		SE	P-value
	40:60	60:40		
pH	6.12	6.27	0.12	NS
VFA				
Total, mM	123.9	111.0	7.1	NS
Acetate (A), mM	73.3	66.3	4.5	NS
Propionate (P), mM	27.5	23.3	2.5	NS
Butyrate, mM	18.0	16.5	1.0	NS
A:P	2.77	2.87	0.21	NS
NH ₃ -N, mg/dL	9.42	7.78	0.71	0.02

SE: Standard error

Table 3-2-6 Mean retention time (MRT) of ruminal feed particles and feed digestibility in lactating cows

	Forage: concentrate		SE	P-value
	40:60	60:40		
MRT, h				
Corn silage	35.8	35.4	2.7	NS
Grass silage	47.9	43.1	2.7	NS
Whole-tract digestibility, %				
DM	63.9	66.2	0.6	NS
NDF	44.5	50.1	2.1	0.01
CP	59.9	64.6	1.7	0.07
NFC	91.4	87.2	2.0	0.06

DM: dry matter; NDF: neutral detergent fibre; CP: crude protein; NFC: non forage carbohydrate.

SE: Standard error

消化率を表3-2-6にまとめた。ルーメン内MRTはCSおよびGSともに処理間で差はみられなかった。また、数値上はCSの方がGSよりもMRTが短縮する傾向を示した。全消化管消化率はDMには処理による影響は無かったが、NDF消化率が粗濃比40:60よりも粗濃比60:40が有意に高くなり($P<0.05$)、同じくCP消化率については高くなる傾向を示した($P<0.10$)。一方、NFC消化率は粗濃比40:60が粗濃比60:40よりも高くなる傾向を示した($P<0.10$)。

3.2.4. 考察

3.2.4.1. 粗濃比の違いとルーメンマット性状

飼料中の粗濃比が低下すると、濃厚飼料の給与割合が増し、peNDF含量が低下するので、ルーメンマットの堅さの軟化や、厚みの減少が予測された。その結果、咀嚼活動が減少し、ルーメン発酵が悪化する可能性も想定された。しかし、本試験の結果からは、それらの想定はいずれも認められず、ルーメン内容物の階層構造は粗濃比の違いによる影響を受けなかった。つまり、粗濃比40:60飼料では濃厚飼料の給与割合が増えたにもかかわらず、粗濃比60:

40飼料と同程度の物理性を有したルーメンマットが形成されることが示された。この点については、ルーメン内容物量やルーメン内飼料粒の粒度別プールサイズも粗濃比による影響を受けなかったことが原因であったと考えられた。ルーメン内容物の階層構造やルーメンマットの物理的性状に変化がなかったことを反映して、咀嚼活動やルーメンpHも処理間で異なることはなかった。

Yang and Beauchemin (2007a; 2009)は、粗濃比を60:40から35:65に下げると、本試験同様peNDF含量も低くなることを認めている。しかし、粗濃比低下の結果、咀嚼活動やルーメンpHも有意に減少することを確認しており、これは本試験結果とは異なる傾向であった。粗濃比は本試験と同様であったにも関わらず結果が異なった原因の一つとして、粗飼料源の違いが考えられる。彼らの研究ではアルファルファサイレージのみを粗飼料源としており、本試験ではグラスサイレージ、コーンサイレージおよびアルファルファサイレージを粗飼料源としていた。イネ科牧草はルーメンの充満によって採食が終了するが、マメ科牧草はルーメン発酵など充満以外の要因によって採食が終了するとの認識や

(Gill and Romney, 1994), イネ科乾草よりもアルファルファル乾草の方がルーメンからの消失が速いとする報告がある (Grenet, 1989; Ueda *et al.*, 2001)。これらのことから、アルファルファサイレージ (Yang and Beauchemin, 2007a; 2009) と本試験で用いたグラスサイレージを含む粗飼料源ではルーメン内の階層構造を形成する際の物理的効果が異なっていたものと推察される。つまり、本試験では階層化された強固なルーメンマットが形成されたが、Yang and Beauchemin (2007a; 2009) の研究ではその形成が不十分であり、そのことが咀嚼活動やルーメン pH の結果の変動に結びついたのかもしれない。

3.2.4.2. 粗濃比の違いと繊維消化率

ルーメン内飼料片の MRT は処理による影響を受けなかったが、NDF および CP 消化率は粗濃比 60 : 40 で高い結果となった。特に繊維消化率が粗濃比 60 : 40 で有意に高かったために、粗濃比 60 : 40 の脂肪補正乳量が粗濃比 40 : 60 を上回る傾向を示したと推察された。粗濃比の上昇にともなう繊維消化率の向上は Moorby *et al.* (2006) によっても報告されている。繊維消化率向上の理由として、彼らは高粗濃比飼料ではルーメン pH が日内で常に 6.2 以上で安定していたために繊維分解性ルーメン微生物の活性が高く維持されたためであると考察している。本試験の粗濃比 60 : 40 飼料においてもルーメン pH が 6.27 と高かったことから、ルーメン微生物による繊維消化が維持されたのかもしれない。

3.2.4.3. まとめ

ルーメンマットの性状は飼料の発酵性や粒度といった質の違いによって変化すると考えられる (Zebeli *et al.*, 2012)。しかし、本試験では TMR の粗濃比を変化させてもマット性状は変化しなかった。粗濃比と peNDF 含量が低下しても、粗濃比 40 : 60 区のようにイネ科牧草を増給することで、ルーメンマットの物理性を低下させずにルーメン環境や咀嚼活動を適正に保つことができることが示唆された。

4. 非粗飼料繊維源の給与とルーメンマット形成およびその機能との関係

乳牛の繊維源としては粗飼料以外に副産物に含まれる非粗飼料繊維源も多く利用される。非粗飼料繊維源は安価な上に、消化性も高いことから乳牛飼料として適しており (Varga and Hoover, 1983; Zhu

et al., 1997; Miron *et al.*, 2010), 粗飼料基盤の脆弱な我が国における都府県型酪農生産 (阿部, 2000) やイスラエル (Adin *et al.*, 2009) のみならず北米においてもその重要性が増している (Poore *et al.*, 2002)。

副産物飼料は、一般に peNDF 含量が低く (Marchesini *et al.*, 2011), またルーメン内での繊維の発酵も速いとみなされている (Bhatti and Firkins, 1995; Voelker and Allen, 2003b)。堅く締まり厚みを有するルーメンマットは粗剛な繊維質が集積することで形成されると考えられているので (Robinson *et al.*, 1987), 副産物の種類によってはルーメンマットを含む内容物の階層構造が脆弱化する恐れがある。また、実際の給与場面においては繊維源として副産物単体で利用することは一般的ではなく、粗飼料と組み合わせて利用する。その組み合わせる粗飼料によってもルーメン内の階層構造や咀嚼活動が変化すると考えられる (Allen and Grant, 2000; Eastridge *et al.*, 2009)。

そこで本章では高繊維質副産物としてアン粕とビートパルプを、高タンパクであるが繊維含量は中程度の副産物として酒粕に着目した。また、ビートパルプについては組み合わせる粗飼料についても検討し、それぞれの副産物を多給した場合のルーメンマット形成状況やその機能について評価することを目的とした。

4.1. 非粗飼料繊維源としてのアン粕給与がルーメンマット性状と乳生産に及ぼす影響 (試験 3)

4.1.1. 目的

我が国では様々な副産物が飼料として用いられているが、その一つであるアン粕 (小豆皮; RBH) はこし餡製造過程で排出される食品製造残渣である。RBH は繊維含量が高い上に TDN 含量も高く (独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構, 2010), 乳牛飼料に適した副産物であると考えられる。一方で、RBH の繊維は他の非粗飼料繊維源と同様に粒度が細かいので、堅く締まったルーメンマットの形成不全、咀嚼活動の減少、あるいはルーメン pH の過度の低下、といった点が懸念される。

RBH と性質が類似している大豆皮を泌乳牛に多給した試験では、ルーメン内容物の堅さが軟化し、ルーメン pH が低下したとする報告 (Weidner and Grant, 1994) がある一方で、乳量や乳脂量が増加したとする報告もあり (Miron *et al.*, 2003; Miron *et al.*, 2010), 乳牛の生産性への効果が一貫していな

い。Weidner and Grant (1994) は大豆皮の微細で発酵速度の速い繊維がルーメン内の階層構造形成に悪影響を及ぼすと考察し、Miron *et al.* (2003) は大豆皮繊維の消化されやすい特性が乳生産に正の効果をもたらしたと考察している。測定されていないので不明であるが、前者と後者ではルーメンマツトの形成状況が異なっており、それが生産性に関する乳牛の反応に変化をもたらしたのかもしれない。このことは、大豆皮やアン粕を給与した乳牛におけるルーメン内階層構造定量の重要性を示唆するものである。

そこで本節では、粗飼料の一部を RBH で置き換えることがルーメン内容物の階層化や咀嚼活動に及ぼす影響を評価するために非泌乳牛を用いた試験をおこない(試験 3-1)、同様の飼料給与時における実際の経営規模牛群の乳生産を調査するために泌乳牛群を用いたもう一つの試験を実施した(試験 3-2)。

4.1.2. 材料と方法

4.1.2.1. 供試動物

試験 3-1

酪農学園大学附属農場で飼養されているルーメンカニューレを装着したホルスタイン種非泌乳牛 4 頭を用いた(平均体重 781 kg)。飼養環境は試験 1 と同様の精密試験タイストールであった。

試験 3-2

酪農学園大学附属農場フリーストール牛舎で飼養されている 1 群 40 頭の泌乳牛を 20 頭ずつの 2 群に分割した。群の分割に当たり牛床、飼槽連動スタンション、水槽および塩場の数が等しくなるようにフリーストールペンをゲートで仕切った。群を分割する際に産次、分娩後日数、乳量および乳脂肪率が等しくなるように調整した。試験開始時の牛群平均は体重 657 kg、産次 1.9 産および分娩後 150 日であった。搾乳は毎日 5 時 30 分と 16 時の 2 回とし、ミルクングバーラーで実施した。ストールはゴムチップマットレスで覆われており、敷料として麦桿を用いた。

4.1.2.2. 供試飼料

試験 3-1

供試飼料は、粗飼料給与割合 60.1% (CS : GS : アルファルファロールベールサイレージ = 41 : 14 : 6, 乾物比) で RBH を含まない対照区と、粗飼料給与割合 51.6% (CS : GS = 37 : 15) でアルファルファサイレージ、配合飼料およびビートパルプの一部を

9.4% の RBH で置き換えた RBH 区の 2 通りとした。RBH は札幌市の製餡業者より入手したが、1 日の供給量に限度があったことから給与量をこのように設定した。

飼料は TMR として調製し、CP と TDN 含量が近似するように設計した。TMR の飼料設計については、日本飼養標準・乳牛 (1999 年版) に付属している養分要求量計算シートと飼料計算シートを使用した。計算に用いた前提条件は分娩後日数 130 日、産次 2.0 産、体重 650 kg、乳量 33 kg、乳脂率 3.8% とした。TMR は 8 時に体重の 1.25% 量を制限給与し、残飼は翌日の 7 時に取り除いた。固形塩および水は自由摂取とした。

試験 3-2

供試飼料は、粗飼料給与割合 53.4% (DM 給与割合, CS:GS : アルファルファロールベールサイレージ = 32 : 18 : 4) で RBH を含まない対照区と、粗飼料給与割合 50.3% (CS : GS = 32 : 18) でアルファルファサイレージおよび配合飼料の一部を 8.1% の RBH で置き換えた RBH 区の 2 通りとした。

TMR 設計方法や前提条件は試験 3-1 と同様であった。TMR は毎朝 10 時に給与し、自由摂取とするため残飼が 5 ~ 10% 出るように給与量を調整した。残飼除去は翌朝 9 時におこなった。固形塩および水は自由に摂取可能であった。

本試験で用いた粗飼料および RBH の化学成分を表 4-1-1 に示す。

4.1.2.3. 試験設計および飼養管理

試験 3-1

試験は 1 期 16 日間 (予備期 10 日間, 本試験期 6 日間) の 2 期反転法により実施した。1 期目に対照区飼料を給与し、2 期目に RBH 飼料を給与した。本試験期間中に採食量を毎日、ルーメン内貫入抵抗調査およびルーメン液採取を 1 ~ 2 日目に、採食行動および反芻活動調査を 3 ~ 4 日目に、ルーメン内容物全量採取を 9 日目と 10 日目に実施した。さらに飼料のルーメン内 MRT を測定するために、予備期最終日 (10 日目) の飼料給与前に希土類元素で標識した GS および圧ペン トウモロコシ (SFC) マーカーをルーメンカニューレより単投与した。

試験 3-2

試験は 13 日間おこない、最初の 10 日間を予備期、残りの 3 日間を本試験期とした。本試験期間中に牛群全体の採食量、全頭の乳量および乳成分を毎日計

Table 4-1-1 Chemical composition of forage and red bean hull

	Corn silage	Grass silage	Alfalfa round bale silage	Red bean hull
DM, %	39.9	44.5	74.1	12.4
OM, % DM	94.5	85.2	87.5	92.8
CP, % DM	8.0	15.0	17.7	17.6
NDF, % DM	41.6	49.6	51.7	81.0
ADF, % DM	25.9	41.3	34.5	63.0
TDN ¹ , % DM	70.5	54.7	53.7	59.3

DM: dry matter; OM: organic matter; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber; TDN: total digestible nutrients.

¹ TDN was analyzed by the Agricultural Product Chemical Research Laboratory in the Tokachi Federation of Agricultural Cooperatives using estimated equations of NRC (2001).

測し、1～2日目に各群より抽出した各6頭ずつの採食行動および反芻活動を調査した。全頭の体重は1日目と2日目の2回、午後搾乳終了時に計測した。

4.1.2.4. 測定項目およびサンプル採取

試験 3-1

給与飼料の粒度分布を PSPS を用いて計測した。pef と peNDF の算出方法は試験 1 と同様であった。

採食量、採食行動の測定方法については試験 1 と同様であった。反芻活動は IC レコーダーを装着した頭絡を牛に取り付け、録音された咀嚼音を PC に取り込み、その波形を解析することで計測した。

ルーメンマット定義のための貫入抵抗測定は給与直前、給与 2 時間後および 12 時間後に実施し、その他の手法については前章までと同様であった。貫入抵抗測定と同時に、ルーメン液を採取した。ルーメン液の採取およびその後の処理は試験 1 と同様の手法で行った。

プールサイズおよび飼料片粒度分布を計測するために、ルーメン内容物の全量採取を行なった。採取時刻は給与直前 (0 h) と、給与してから 2 時間後 (2 h) の 2 回とした。ルーメン内容物全量採取に先立って、ルーメン内の位置別の粒度分布を測定するために背囊上部 (マット層) の内容物を手で、腹囊底部 (非マット層) の内容物をカップでスポット採取した。内容物採取に関するその他の手法は試験 1 と同様であった。ルーメン内飼料片の粒度分画測定法 (湿式篩別法) に関しては、目開きの大きさが 5.60 mm, 2.36 mm, 1.18 mm, 0.60 mm, 0.30 mm, 0.15 mm の 6 段階に分かれている篩を用い、排水部にナイロン濾布 (目開き 47 μm) をセットした。目開きが 1.18 mm 以上の篩に残留したものを大飼料片、1.18 mm 篩を通過し 0.15 mm 以上篩とナイロン濾布に残留

したものを小飼料片、47 μm 未満でナイロン濾布を通過してしまったものを可溶性分画とした。その他の粒度分布算出法についての手法は試験 1 と同様とした。

ルーメン内 MRT を測定するために、飼料給与前に希土類元素で標識した GS および SFC マーカーをルーメンカニューレより単投与した (GS は La, SFC は Yb で標識)。投与後は 6, 10, 14, 18, 22, 26, 32, 38, 46, 54, 62, 76, 96 および 120 時間後に直腸糞採取をおこなった。それ以外の手法については試験 2 (3 章 2 節) と同様であった。

試験 3-2

給与飼料の粒度分布を PSPS を用いて計測した。pef と peNDF の算出方法は試験 3-1 と同様であった。両群の給与量および残飼量を計量し群採食量を毎日計測した。群採食量をそれぞれの群の在籍頭数 (20 頭) で除することで一頭当たりの採食量を算出した。採食行動および反芻活動の測定のために両群から 6 頭の牛を抽出した。牛の選別にあたっては乳量、乳脂肪率、産次および分娩後日数が両群でほぼ等しくなるように留意した。採食行動・反芻活動の測定法は試験 3-1 と同様に IC レコーダー装着頭絡を用いた。

乳量は毎搾乳ごとに自動計測された値を用いた。乳成分については本試験期中毎搾乳ごとに全頭サンプリングし、北海道酪農検定検査協会に依頼して近赤外線分光分析法により分析した。

4.1.2.5. 化学分析および解析方法

飼料およびルーメン内容物の化学成分は試験 1 と同様に分析した。希土類元素マーカーの調製および元素濃度の分析、MRT の算出方法については試験 2 と同様とした。ルーメン液を解凍後、アンモニア

態窒素濃度およびVFA濃度の分析をおこなった。分析方法は試験2と同様であった。

試験3-2において、NDFを指標とした選択採食の程度をNDFIの期待値に対する実測値の割合として計算した(Leonardi and Armentano, 2003; DeVries and Gill, 2012)。NDFIの期待値はDMIに給与飼料中のNDF含量を乗じた値とした。結果が100%を下回ったときは選択的に避けられていたことを示し(選択採食あり, sorting against), 逆に100%を越えたときは好んで摂取されていたことを示し(選択採食あり, sorting for), 100%となれば選択採食がなかったことを意味する。

4.1.2.6. 統計処理

統計処理にはJMP7 (SAS 2007) のフィットモデルプロシージャーを用いた。試験3-1では、試験期

と牛を変量効果、処理の影響を固定効果とした。試験3-2では、牛を変量効果、処理の影響を固定効果とした。 $P < 0.05$ で有意差あり、 $P < 0.10$ で傾向ありとした。

4.1.3. 結果

4.1.3.1. 供試飼料

表4-1-2に両試験の飼料の乾物構成割合と化学および物理組成を掲載した。TMRの粗飼料割合は試験3-1では対照区60.1%, RBH区51.6%であり、試験3-2では対照区53.4%, RBH区50.3%であった。両試験ともに粗飼料をRBHで置き換えることによってTMR中のNDFとADF含量が増加し、DMおよび粗飼料由来NDF含量、pefおよびpeNDF含量は減少した。

Table 4-1-2 Ingredients and chemical composition of the total mixed ration (TMR) diets (DM basis)

	Experiment 3-1		Experiment 3-2	
	Control	RBH ¹	Control	RBH ¹
Ingredients, %				
Corn silage	40.5	36.6	31.5	32.1
Grass silage	13.5	15.0	17.9	18.2
Alfalfa round bale silage	6.1	—	4.0	—
Red bean hull	—	9.4	—	8.1
Concentrate mixture A ²	15.9	31.1	19.2	13.7
Concentrate mixture B ³	8.7	—	7.4	7.6
Beet pulp	6.6	—	7.0	7.2
Soy sauce cake	4.2	4.8	4.4	4.5
Soybean meal	3.6	2.0	7.6	7.7
Mineral supplement ⁴	0.8	0.9	0.9	0.9
Vitamin supplement ⁵	0.1	0.1	0.1	0.1
Chemical and physical composition				
DM, %	53.4	37.5	48.7	42.2
NDF, % DM	37.3	41.7	39.4	42.9
NDF from forages, % NDF	70.6	58.0	67.4	57.6
Particle size ⁶ , % DM retained on sieves				
19.0mm	17.1	4.9	5.5	2.0
8.0mm	47.5	40.0	46.8	43.7
Pan	35.4	55.1	47.7	54.3
pef ⁷	0.65	0.45	0.52	0.46
peNDF ⁸ , % DM	24.1	18.7	20.6	19.6
ADF, % DM	21.7	25.4	17.1	20.7
CP, % DM	15.1	15.9	16.5	16.4
TDN, % DM	73.2	74.5	75.2	74.1

¹ TMR containing red bean hulls.

² Contains 68% grains, 19% oil meals, 12% brans, and 1% others.

³ Contains 51% grains, 30% oil meals, 14% brans, and 5% others.

⁴ Contains 240, 100, and 60 g/kg of Ca, P, and Mg, respectively.

⁵ Contains 10,000 IU, 2,000 IU, and 10 mg/g of vitamins A, D₃, and dl- α -tocopherol acetate, respectively.

⁶ Particle size distribution of TMR was measured using a Penn State Particle Separator.

⁷ Physical effectiveness factor determined as the proportion of particles with DM > 8mm.

⁸ Physically effective NDF measured as the NDF content of TMR multiplied by pef.

Table 4-1-3 Intake and chewing activity in dry cows (experiment 3-1)

	Control	RBH ¹	SE	<i>P</i> -value
Intake				
DMI, kg/day	8.81	8.89	0.63	NS
NDFI, kg/day	3.27	3.71	0.26	0.002
peNDFI, kg/day	2.12	1.66	0.14	0.001
Chewing activity				
Eating time, min/day	106.1	100.7	9.5	NS
No. of meals, /day	5.25	3.50	1.44	NS
Duration of meals, min	26.0	46.2	9.6	NS
Rumination time, min/day	207.7	243.7	27.5	NS
No. of rumination periods, /day	10.4	10.5	1.1	NS
Duration of rumination periods, min	20.1	23.3	2.0	0.06
Total chewing time, min/day	313.7	344.4	36.3	NS
Total chewing time/DMI, min/kg	36.8	39.8	6.3	NS
Total chewing time/NDFI, min/kg	99.8	95.5	16.4	NS

¹ TMR containing red bean hulls.
SE: Standard error

4.1.3.2. 採食量および咀嚼活動（試験 3-1）

表 4-1-3 に採食量，咀嚼活動および乳生産についてまとめた。DMI に差がなかったが，NDFI は RBH 区が対照区よりも有意に多く ($P < 0.01$)，peNDFI は逆に有意に少なかった ($P < 0.01$)。採食行動には処理による差はなかった。反芻時間や反芻期出現回数は処理による差はなかったが，反芻期持続時間が RBH 飼料で長くなる傾向を示した ($P < 0.10$)。1 日の総咀嚼時間，DMI 当たりの総咀嚼時間および NDFI 当たりの総咀嚼時間に有意差は認められなかった。

4.1.3.3. ルーメン内容物およびルーメンマット性状（試験 3-1）

ルーメン内容物量，ルーメン内飼料片の粒度別プールサイズ，貫入抵抗試験結果および飼料のルーメン内 MRT について表 4-1-4 にまとめた。ルーメン内 DM 量および NDF 量は飼料給与直前は処理による差はなかったが，2 時間後はいずれも RBH 区が対照区よりも多くなる傾向にあった（DM 量： $P < 0.10$ ；NDF 量： $P < 0.05$ ）。ルーメン内容物の粒度別プールサイズは給与 2 時間後の可溶性分画は RBH 区が多くなる傾向にあったが，その他のプールサイズは処理間で差はなかった。堅さを表す q_c 値はルーメン内容物 ($P < 0.01$)，ルーメンマット ($P < 0.05$) および非マット層 ($P < 0.05$) のいずれも RBH 区が対照区よりも大きな値となった。一方，深度についてはルーメン内容物，ルーメンマットおよび非マット層のいずれにおいても処理による差はなかった。ルーメン内飼料片の MRT は GS および SFC ともに処理による差は認められなかった。

ルーメンマットおよび非マット層の飼料片粒度分布を図 4-1-1 にまとめた。対照区，RBH 区ともにマット層の大飼料片割合は非マット層と比べて 2 倍程度高い値となった。また，マット層の大飼料片割合が対照区の給与 2 時間後に増加したことを除き，両飼料とも類似した結果となった。非マット層では，対照区はサンプリング時刻間の差はみられなかった。RBH 区のマット層では給与前の小飼料片割合が高い値を示したが，給与 2 時間後には減少し，可溶性分画割合が増加した。

4.1.3.4. ルーメン発酵（試験 3-1）

ルーメン液の発酵性状について表 4-1-5 に示した。pH，VFA およびアンモニア態窒素濃度のいずれにおいても処理による差はなかった。

4.1.3.5. 採食量，選択採食，咀嚼活動および乳生産（試験 3-2）

泌乳試験における採食量，選択採食，咀嚼活動および乳生産について表 4-1-6 にまとめた。DMI は両処理とも等しい値となったが，NDFI の絶対値は RBH 区の方が対照区よりも大きかった。一方，NDF の選択採食については，対照区では選択的に残されていたのに対し，RBH 区では逆に好んで摂取されていた。

採食行動，反芻活動および総咀嚼時間については飼料間で有意差はなかった。

乳量および乳成分についても処理による違いは認められなかった。

Table 4-1-4 Rumen digesta characteristics and mean retention time (MRT) of feed particles in dry cows (experiment 3-1)

	Control	RBH ¹	SE	P-value
Total rumen digesta				
DM weight, kg				
0h ²	4.43	4.54	0.60	NS
2h ²	9.28	11.09	1.10	0.09
NDF weight, kg				
0h	2.81	2.85	0.40	NS
2h	4.99	6.40	0.60	0.03
Ruminal particle pool size, kg DM				
0h				
Large particles (> 1.18mm)	1.44	1.57	0.22	NS
Small particles (> 0.047mm)	1.52	1.52	0.19	NS
Soluble fraction (< 0.047mm)	1.47	1.46	0.24	NS
2h				
Large particles (> 1.18mm)	3.99	4.14	0.51	NS
Small particles (> 0.047mm)	2.82	3.13	0.48	NS
Soluble fraction (< 0.047mm)	2.47	3.81	0.34	0.09
Penetration resistance test				
Total rumen digesta				
q _c value ³ , N/cm ²	5.31	8.55	0.53	0.007
Depth, cm	58.6	59.9	4.58	NS
Ruminal mat ⁴				
q _c value, N/cm ²	6.76	10.21	0.76	0.03
Thickness, cm	34.0	33.3	5.49	NS
Non-mat material ⁵				
q _c value, N/cm	3.88	7.13	0.61	0.03
Depth, cm	24.6	26.6	5.15	NS
MRT, h				
Grass silage	33.8	35.0	2.0	NS
Steamed flaked corn	33.3	35.2	1.3	NS

¹ TMR containing red bean hulls.

² Hours after feeding.

³ q_c = F_c/A_c, q_c: Cone penetration resistance, F_c: The force acting on the cone, A_c: The projected area of the cone.

⁴ Values are the means in the area above the point at which the 2 regression lines for the relationship between the PRV and depth of the rumen digesta intersected.

⁵ Values are the means in the area below the point at which the 2 regression lines for the relationship between the PRV and depth of the rumen digesta intersected.

SE: Standard error

4.1.4. 考察

4.1.4.1. 副産物飼料とルーメンマットの堅さの関係

貫入抵抗測定の結果から、RBH 区のルーメンマットは対照区よりも堅いことが示された。一方で、給与2時間後におけるルーメンマットの飼料片粒度分布から、RBH は対照区と比べ大飼料片割合が3.5ポイント低く(39.8% vs. 43.3%)、逆に小飼料片割合は3.5ポイント高い値となった(27.5% vs. 24.0%)。ルーメンマットは未消化の小飼料片を絡め取り、その滞留時間を延長する働きがあると考えられている(Welch, 1982; Poppi *et al.*, 2001)。本試験で用いたRBHは粒子が細かい繊維質飼料であるので(図4-1-2)、胃運動によってマットの空隙に入

り込み、隙間なく詰め込まれ、その結果ルーメンマットの密度が高まったために堅さが増した可能性がある。

非粗飼料繊維源の給与によるルーメン内容物の物理性増加は綿実殻を加える処理を行ったKononoff and Heinrichs (2003b)でも報告されており、その試験では細かい繊維からなる綿実殻を与えたにも関わらずルーメン内容物は対照区よりも増加し、反芻時間も変化しなかった。本試験でも同様の傾向を示し、RBH 区の給与2時間後のルーメン内容物および反芻期持続時間はともに対照区を上回った。RBH 区の反芻期持続時間が延長したのは、堅いルーメンマットの影響によるものと推察される。このような堅いルーメンマットが反芻活動を促進する

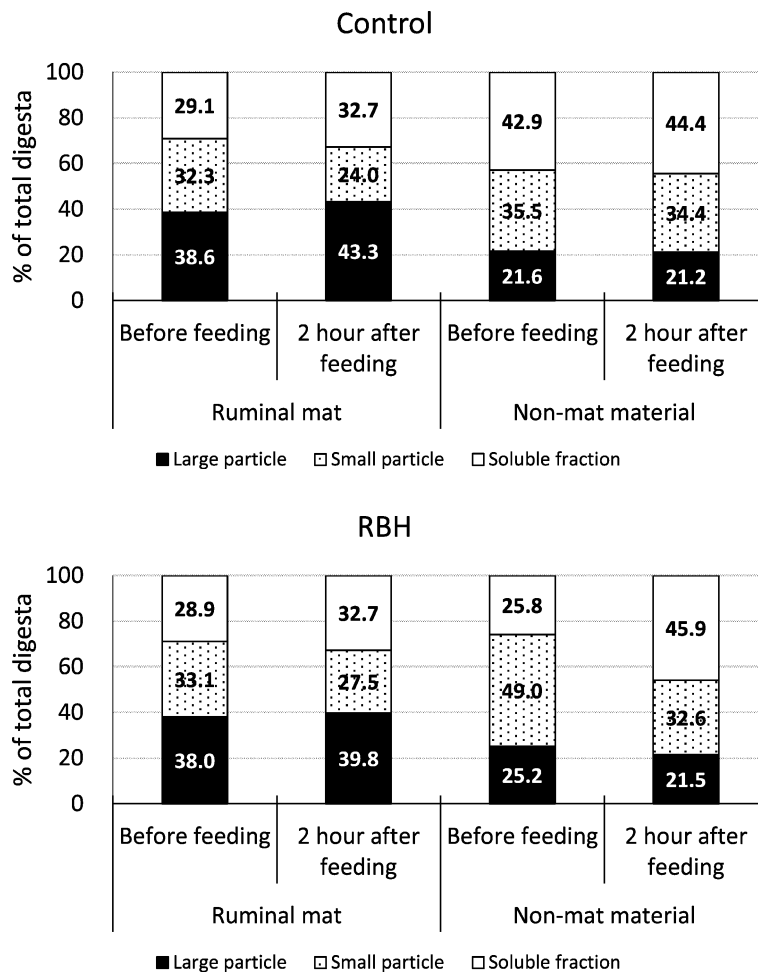


Figure 4-1-1 Particle size distribution of ruminal mat and non-mat material in cows at each sampling. Large particles: > 1.18mm; Small particles: > 0.047mm; Soluble fraction: < 0.047mm. RBH: TMR containing red bean hulls.

Table 4-1-5 Ruminal pH, VFA, and NH₃-N for each diet in dry cows (experiment 3-1)

	Control	RBH ¹	SE	P-value
pH	6.93	6.62	0.13	NS
VFA				
Total, mM	83.7	95.3	4.3	NS
Acetate (A), mM	46.9	52.7	3.2	NS
Propionate (P), mM	15.7	18.5	1.3	NS
Butyrate, mM	8.43	9.24	0.51	NS
A:P	3.11	3.02	0.09	NS
NH ₃ -N, mg/dL	13.9	14.9	1.0	NS

¹TMR containing red bean hulls.

SE: Standard error

という結果は既報 (Weidner and Grant, 1994) と一致する。

Fuma *et al.* (2012) は、RBH と性質が類似していると考えられる 2 種類のマメ外皮を飼料へ添加することで、繊維分解ルーメン細菌の増殖が促進し、

稲わらの消化を促すことを認めている。ルーメンマットには繊維分解菌の生息密度が高いと考えられており (Martin *et al.*, 1999), ルーメンマットへ RBH が取り込まれることでマット内に生息する繊維分解菌の分解活性が高まるかもしれない。このこ

Table 4-1-6 Intake, sorting, chewing activity, and milk production of lactating cows housed in a free stall barn and fed 2 different feeds (experiment 3-2)

	Control	RBH ¹	SE	P-value
Intake ²				
DMI, kg/day	22.0	22.7	—	—
NDFI, kg/day	7.3	11.3	—	—
Sorting of NDF, % ³	84.4	115.6	—	—
Chewing activity ⁴				
Eating time, min/day	307.7	342.1	19.3	NS
No. of meals, /day	6.67	6.00	0.62	NS
Duration of meals, min	54.7	62.8	4.3	NS
Rumination time, min/day	403.2	419.6	39.2	NS
No. of rumination periods, /day	13.3	12.0	1.4	NS
Duration of rumination periods, min	34.4	36.0	3.6	NS
Total chewing time, min/day	710.9	761.7	52.8	NS
Milk production ⁵				
Milk yield, kg/day				
Actual	31.4	32.3	1.4	NS
4% FCM	30.6	31.4	1.3	NS
Milk fat, %	3.88	3.81	0.10	NS
Milk protein, %	3.24	3.21	0.03	NS
Milk lactose, %	4.52	4.48	0.04	NS
Milk SNF, %	8.81	8.72	0.07	NS

¹ TMR containing red bean hulls.

² Intake was calculated as the herd's intake divided by the number of cows in each treatment (n = 20).

³ Sorting % = 100 × (NDFI/predicted NDFI), where predicted NDFI equals the product of DMI and NDF content of TMR. Values equal to 100% indicate no sorting, < 100% indicate selective refusals (sorting against), and > 100% indicate preferential consumption (sorting for).

⁴ Data are averaged for 6 cows for each treatment.

⁵ Data are averaged for 20 cows for each treatment.

SE: Standard error

とは飼料の利用効率向上や、堅く厚いマットが縮小しルーメン充満度が解消されることによる新たな採食活動の活発化など、生産性にとって有益に作用すると考えられる。本試験ではルーメン発酵に関して飼料間で差はなかったが、今後はルーメン微生物への養分供給やコロニー形成様相の観点から、ルーメンマットの物理性のみならず化学的性状についての研究も必要となるだろう。

また、RBH 区では NDF を好んで摂取する傾向が確認された(表 4-1-6)。RBH 飼料は peNDF 含量に加え乾物含量も低かったが、飼料粒子の縮小や飼料中水分含量の増加は繊維の選択採食を抑制することが認められている (Leonardi *et al.*, 2005; Park and Okamoto, 2008)。したがって、RBH の細かく、高水分な特徴によって選択採食が抑制され、ルーメンマットの主要な構成要素である繊維質の摂取量が増加したこともルーメンマットの物理性向上に関与したと推測される。

以上のことから、粒子の細かい副産物給与はルー

メンマットの階層化を妨げるとする通説とは異なり、逆にマットの堅さ向上に寄与する可能性が示唆された。

4.1.4.2. ルーメンマットと peNDF 要求量

SARA の発症や乳脂肪率の低下を防ぐために適切な peNDF 給与水準に関する研究が積み重ねられてきた (Mertens, 1997; Zebeli *et al.*, 2010a)。Mertens (1997) は、ルーメン pH を 6.0 以上に維持するためには peNDF 含量を飼料 DM 中 22% 以上とする必要があり、乳脂肪率 3.5% 以上を保つためには peNDF 含量は 20% 以上必要であると述べている。

一方、試験 3-1 では、RBH 区は対照区の 24.1% と比べて peNDF 含量が 18.7% と 5.4 ポイント減少し、peNDFI も有意に減少した。しかし、ルーメン発酵には何ら影響が及ぶことはなかった。Yang and Beauchemin (2009) は平均ルーメン pH やルーメン pH が 5.8 を下回る時間は飼料中 peNDF 含量や



Figure 4-1-2 The appearance of red bean hull.

peNDFI と強い相関があることを示した。一方で、Weidner and Grant (1994) は粒子の細かい大豆皮を泌乳牛の飼料中 25% まで増量しても、適度なアルファルファ乾草を併給することによって、ルーメンマットの堅さやルーメン発酵は適正に保たれることを報告している。後者の結果は、たとえ飼料中 peNDF 含量が低下しても、明確な構造的性を有したルーメンマットが存在すれば粒子の細かい繊維がルーメンマットに取り込まれるので、結果的に堅く締まったルーメンマットが形成され、SARA を予防できることを示唆している。

RBH 区の TMR は peNDF 含量が低いにも関わらず、ルーメンマットの堅さを維持する効果が強かった。本結果は、副産物の物理的有効度を評価する際に単に peNDF 含量のみで判断するのではなく、その飼料がルーメンマットの堅さ向上に寄与するかどうかといった観点からも判断する必要があることを示唆している。

4.1.4.3. 乳生産

乳量と 4%FCM は飼料間で差がなかったが、こ

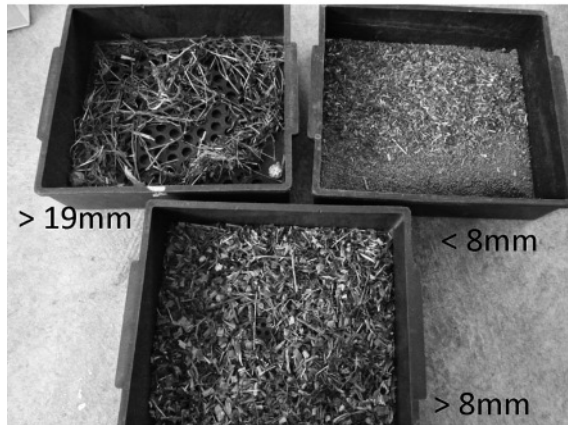
れは RBH 添加によって DMI が減少しなかったことも原因の一つであろう。DMI が減少せず、乳生産も変化しなかったという結果は、粗飼料を生コーングルテンフィードで置き換えた過去の報告と一致する (Allen and Grant, 2000)。

乳脂肪率も RBH 添加によって影響を受けなかった。この結果は綿実殻を給与しても乳脂肪率が低下しなかったとする過去の報告を支持するものである (Kononoff and Heinrichs, 2003a)。本試験では乳脂肪率に加えて、ルーメン内の MRT、pH および発酵パターンに関して飼料による違いはなかった。VFA で観察された値は両区とも高 NDF 飼料で見られる典型的なそれであり、酢酸/プロピオン酸比から判断してもルーメン内の微生物活性は好ましいものであったと推察される (Clark and Armentano, 1997)。また、粗飼料繊維を RBH 繊維で置き換えてもルーメン内 MRT が変化しなかったことから、ルーメン内の繊維消化率も影響を受けなかったと推測される。

RBH 区においてルーメン発酵が適切に保たれ、乳脂肪率が低下しなかったという事実は、堅く締まったルーメンマットが形成され、そのことによって反芻活動も活発に行われたことと関係していると考えられる。RBH 区は対照区よりも 19 mm 以上篩の残留割合が低かったが (図 4-1-3)、切断長の長い繊維を減らすことで選択採食が減り、乳脂肪率が向上することが過去に報告されている (Park and Okamoto, 2008)。Kononoff and Heinrichs (2003b) は泌乳牛のルーメン pH や発酵に悪影響を及ぼさないために必要とされてきた従来の繊維の物理性推奨値 (粒度や peNDF 含量) は過大評価の可能性があり、より少ない量でも適正値を維持できると示唆しているが、ルーメンマットの構造的性から解析した本研究の結果はこれを理論的に支持するものであろう。

乳タンパク質率も処理による違いは認められなかった。副産物給与による同様の結果が綿実殻 (Kononoff and Heinrichs, 2003a)、コーングルテンフィード、ブレンド蒸留粕 (DDG) およびフスマ (Zhu *et al.*, 1997) あるいはビートパルプ (Voelker and Allen, 2003a) を給与した際に報告されている。乳タンパク質率は飼料中のタンパク質とエネルギーのバランスに左右される (Grieve *et al.*, 1986)。本試験では DMI や VFA 濃度に処理間で差がなかったことから、粗飼料を RBH で部分的に置き換えても乳牛のエネルギーバランスは変化せず、その結果ルーメン微生物活性や増殖効率も影響を受けなかったと

Control diet



RBH diet

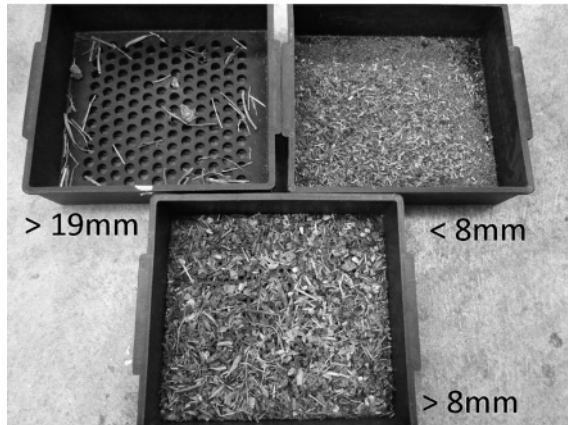


Figure 4-1-3 Distribution of particles of Control diet and RBH diet as measured by the Penn State Particle Separator. RBH: red bean hull.

考えられる。

4.1.4.4. まとめ

peNDF 含量の低い副産物である RBH を粗飼料と置き換えてもルーメン内容物の階層構造は維持され、反芻活動やルーメン発酵も適正水準に維持されることが示された。粗飼料由来繊維がルーメン内容物の階層構造の骨格を形成し、その構造体の隙間に細かい RBH 粒子が組み込まれることで強く締まったルーメンマットが形成されると推測された。そのことが粗飼料 NDF の一部を RBH の NDF に置換しても牛群全体の乳生産や乳成分率に影響しなかった原因であると考えられた。これらの結果は、反芻活動やルーメン発酵を調節するメカニズムについて理解する際にルーメンマット機能が欠かせない情報であることと、粗飼料繊維を粒子の細かい副産物繊維で部分的に置き換えた際に従来指摘されていたよ

りも容易にルーメンマットが形成され得ることを示すものであった。

RBH は多数存在する副産物の中でも繊維含量の高い飼料である（独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構，2010）。他の副産物は RBH よりも繊維含量が低いものが多く、醸造粕やジュース粕のように溶解性の繊維を含む柔軟なものも珍しくない（阿部，2000）。そこで、次なる課題としては、それら繊維含量の高くない副産物を多給した際にも本試験と同様のルーメン内階層構造が形成されるのかどうかを検討する必要がある。

4.2. ルーメンマット形成と高タンパク醸造副産物給与の関係（試験 4）

4.2.1. 目的

醬油粕やウイスキー粕のような醸造粕類は一般的にタンパク質源として利用されている。本節では日本で古来より製造されている清酒や米焼酎の醸造副産物である酒粕について注目した。酒粕は高タンパク質である上に繊維質を適度に含み（Tsutsui *et al.*, 1998）、さらに酵母の活性が消化管内の環境改善（芦田ら，1997）や粗飼料の *in vitro* 分解率の向上（山田ら，2012）に効果をもたらすとされている。酒粕を用いた泌乳試験は散見されるが（有安ら，2012）、酒粕給与下のルーメンマット形成状況との関連についての情報は存在しない。

Grant (1997) は、副産物由来の非粗飼料繊維は物理的有効度が低いために、十分な堅さを有したルーメンマットを形成することができないと述べている。そうであるならば、酒粕のように柔らかく針のような刺激を有さない副産物を多給するとルーメンマットがうまく形成されないか、あるいは形成されたとしても反芻刺激が十分に確保できず、反芻活動が減少してしまう可能性が懸念される。

ルーメンマットには反芻を促す役割と同時に、ルーメン内に入ってきた穀類飼料を絡め取り、保持する機能があると考えられており、このことは filter bed 効果とよばれている（Poppi *et al.*, 2001; Zebeli *et al.*, 2012）。分離給与システムを採用している酪農生産現場では、濃厚飼料を給与する前に粗飼料を摂取させることが推奨されている。これは、粗飼料を先に給与することで繊維質に富んだ緻密で厚みのあるルーメンマットを形成し、filter bed 効果を期待するものである（Robinson, 1989; Nocek, 1992）。この理論が正しければ、粗飼料よりも先に濃厚飼料を給与すると、filter bed 効果が弱まり、濃厚飼料のルーメン内平均滞留時間（MRT）は短縮する

ことになる。

以上の想定を検証する目的で、本試験では酒粕(SC)とイネ科乾草(GH)を基礎飼料として、①その給与比率を変えたときのルーメンマット性状および咀嚼活動への影響、②基礎飼料(SC+GH)と蒸煮圧ペントウモロコシ(SFC)の給与順序がルーメンマット内へのSFC飼料片取り込み効果に及ぼす影響、の2点についてホルスタイン種非泌乳牛を用いて検討した。

4.2.2. 材料と方法

4.2.2.1. 供試動物

酪農学園大学附属農場で飼養されているルーメンカニューレを装着したホルスタイン種非泌乳牛3頭を用いた(平均体重634.8 kg)。飼養環境は試験1と同様であった。

4.2.2.2. 供試飼料

供試飼料はイネ科乾草(GH)、米焼酎粕(酒粕, SC)、蒸煮圧ペントウモロコシ(SFC)を使用した(表4-2-1)。SCは旭川市の酒造メーカーから入手した。

GHは農用裁断機(スター農機株式会社)を用いて設定切断長10 mmの長さで切断して給与した。処理はSCの給与比率を検討する狙いから、SCとGHの乾物給与割合を35:65(SC35)にしたものと65:35(SC65)にしたものにわけた。

SCとGHを基礎飼料として体重の1.25%量を8時と17時の2回に分けて等量給与した。さらにSFCをSC35には基礎飼料の給与直前(SC35Bef)と給与1時間後(SC35Aft)に、SC65には同じく給与1時間後(SC65Aft)に与えた。これは、ルーメンマットへのSFC取り込み効果をSC給与比率の違

Table 4-2-1 Chemical composition of forage, sake cake and steamed flaked corn

	Grass Hay	Sake cake	Steamed flaked corn
Chemical, % DM			
CP	11.1	56.5	9.5
NDF	68.5	38.9	15.5
ADF	38.3	21.6	4.5
NFC	10.1	22.7	72.3
TDN ¹	67.6	78.3	79.9

DM: dry matter; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber; NFC: non-fiber carbohydrates; TDN: total digestible nutrients.

¹TDN was analyzed by the Agricultural Product Chemical Research Laboratory in the Tokachi Federation of Agricultural Cooperatives using estimated equations of NRC (2001).

いから検討するためと(SC35Aft vs. SC65Aft)、SFCと基礎飼料の給与順序の違いを検討するためであった(SC35Aft vs. SC35Bef)。したがって、本試験ではSC35Aftが対照区、その他2処理が試験区という設定であった。

SFCは1日1回原物で1 kgをSC35Befには7時45分に、SC65AftとSC35Aftには9時に給与した。残飼については7時に除去した。塩は1日50 gを基礎飼料給与時に振りかけ給与し、水は自由摂取とした。表4-2-2に各処理の給与飼料中の化学成分含量、給与量および構成割合を掲載した。

4.2.2.3. 試験設計および飼養管理

試験は1期17日間(予備期10日間、本試験期7日間)の3×3ラテン方格法により実施した。採食量は本試験中に毎日測定し、ルーメン内貫入抵抗は本試験期の1~2日目、採食・反芻行動は3~4日目、ルーメン内容物全量採取を5~7日目におこ

Table 4-2-2 Ingredients and chemical composition of the diets

	SC35Aft ¹	SC35Bef ²	SC65Aft ³
Ingredients, %			
Grass hay	59.8	59.8	31.8
Sake cake (SC)	31.6	31.6	59.9
Steamed flaked corn	8.6	8.6	8.3
Chemical composition, % DM			
CP	25.4	25.4	37.7
NDF	54.3	54.3	46.3
ADF	29.9	29.9	25.4
NFC	19.8	19.8	23.2
TDN	73.3	73.3	76.2

¹ Control diet: Feeding ratio of SC to GH was 35: 65, and SFC was fed at 1 h after both GH and SC.

² Feeding ratio of sake cake (SC) to grass hay (GH) was 35: 65, and steamed flaked corn (SFC) was fed immediately before both GH and SC.

³ Feeding ratio of SC to GH was 65: 35, and SFC was fed at 1 h after both GH and SC.

なった。

4.2.2.4. 測定項目およびサンプル採取

採食量、採食行動および反芻活動の測定方法については試験1と同様であった。

ルーメン内容物の堅さを測定し、ルーメンマットを定義するために貫入抵抗測定を実施した。試験1と同様の手法であったが、測定時刻は午前給与直前(8時)、午前給与2時間後(10時)、午後給与直前(17時)、午後給与2時間後(19時)、午後給与8時間後(翌日1時)の5回行い、1日の測定は3回以内とした。貫入抵抗測定と同時にルーメン液を5回採取した。ルーメン液の採取法およびその後の処理は試験1と同様の手法で行った。

ルーメン内容物のプールサイズ、飼料片粒度分布およびSFCのルーメン内存在部位を計測するために、本試験の5日目、6日目にルーメン内容物の全量採取を行なった。採取時刻は午前の基礎飼料給与直前(SC35BefではSFC給与直前)の8時(0h)と基礎飼料の午前給与2時間後の10時(2h)とした。また、SC35AftとSC35BefのSFC給与時刻が9時であったので、2hのルーメン内容物全量採取はSFC給与1時間後に該当した。SC35BefではSFC給与時刻が7時45分であったので、SFC給与1時間後のルーメン内容物を得るためにSC35Befについてのみ7日目の8時45分から内容物を全量採取した。

ルーメン内容物全量採取に先立って、SFC飼料片のルーメン内存在位置を測定するために内容物の背囊上部(マット層)を手で、腹囊底部(非マット層)をカップでスポット採取した。その後全内容物を採取し、均一になるように攪拌した後に代表サンプルを採取した。SFCのルーメン内存在部位を調査するために、各サンプルを湿式篩別し目開きが1.18 mm以上の篩に残留した大飼料片の中からピンセットを使い肉眼でSFCを選別した。0.60 mm以下の篩に残留した小飼料片中のSFCは選別不能であったことから解析からは除外した。ルーメン内容物の採取および粒度分画測定法(湿式篩別法)に関するその他の手法については前節(試験3)と同様とした。

予備期最終日(10日目)、基礎飼料の午前給与前に飼料のルーメン内MRTを測定するために、希土類元素で標識したGH、SCおよび2種類のSFCマーカを単投与した。SFCについてはルーメンマットへの取り込みを評価するために口から摂取させるマーカ(摂取SFC)とルーメンカニユーレを介し

てルーメンマット内へ直接挿入するマーカ(ルーメン挿入SFC)の2種類を用意した。標識に用いた希土類元素はGHがLa、SCがYb、摂取SFCがSm、ルーメン挿入SFCがDyであった。GHとSCマーカは7時45分に、摂取SFCマーカはSC35Befでは7時45分に、SC35AftとSC65Aftでは9時に摂取させた。ルーメン挿入SFCマーカは、摂取SFCマーカと同時にルーメンマット表層の直下に埋め込むように投与した。具体的には、カニユーレからひとつかみの内容物を取り出し、できた空洞部分にマーカを投入し、その後取り出した内容物で封をした。また、ルーメン挿入SFCマーカについては、咀嚼を受けた状態に類似させるために、投与直前に金槌で粗く砕き、温湯に浸した。

4.2.2.5. 化学分析および解析方法

飼料およびルーメン内容物の分析は試験1と同様である。希土類元素マーカの調製および元素濃度の分析、MRTの算出方法については試験2と同様とした。糞採取は投与日の8時を起点として6、10、14、18、22、26、30、36、42、48、60、72、84および96時間後に行った。ルーメン液を解凍後、アンモニア態窒素濃度およびVFA濃度の分析をおこなった。分析方法は試験2と同様であった。

4.2.2.6. 統計処理

統計処理にはJMP7.0.2(SAS, 2007)を用いた。本試験では3種の処理を設けたが、SC35Aftを対照区として扱い、基礎飼料とSFCの給与順序とルーメンマットへのSFC取り込みとの関係を査定するためにSC35Befを設け、SCとGHの給与比率とルーメンマットの性状や機能の違いとの関係を評価するためにSC65Aftを設けた。したがって、SFCと基礎飼料の給与順序効果をSC35AftとSC35Befとの間で、SCとGHの給与比率効果をSC35AftとSC65Aftとの間で、それぞれ比較するためにSC35Aftを対照区としてDunnnettの多重比較検定(Dunnnett, 1955)を実施した。同一処理内の摂取SFCマーカとルーメン挿入SFCマーカのMRTを比較するために、対応のあるt検定を実施した。 $P < 0.05$ で有意差あり、 $P < 0.10$ で傾向ありとした。

4.2.3. 結果

4.2.3.1. 採食量および咀嚼活動

採食量と咀嚼活動の結果を表4-2-3にまとめた。DMIに処理間で差はなかったが、NDFIはSC65AftがSC35Aftよりも有意に少なかった($P < 0.05$)。総

Table 4-2-3 Intake and chewing activity in cows

	SC35Aft	SC35Bef	SC65Aft	SE	P-value	
					SC35Aft vs. SC35Bef	SC35Aft vs. SC65Aft
Intake						
DMI, kg/day	9.54	9.54	9.56	0.31	NS	NS
NDFI, kg/day	5.29	5.31	4.66	0.15	NS	0.04
Chewing activity						
Eating time, min/day	120.9	113.5	103.6	30.8	NS	NS
No. of meal, /day	4.33	5.17	5.67	1.39	NS	NS
Duration of meal, min	34.0	27.3	22.1	2.5	NS	0.0502
Rumination time, min/day	305.2	321.7	277.3	30.1	NS	NS
No. of rumination period, /day	12.5	12.0	10.3	0.5	NS	0.0502
Duration of rumination period, min	25.5	25.7	26.9	2.4	NS	NS
Total chewing time, min/day	426.1	435.2	381.0	40.9	NS	NS
Total chewing time/DMI, min/kg	44.4	45.7	39.9	4.0	NS	NS
Total chewing time/NDFI, min/kg	80.1	82.0	81.9	7.4	NS	NS

SC35Aft, SC35Bef, and SC65Aft are defined in Table 4-2-2.

SE: Standard error

採食時間および採食期回数に処理間差はなかった。採食期持続時間は SC35Aft よりも SC65Aft で短い傾向にあった ($P < 0.10$)。総反芻時間と反芻期持続時間には処理間で差はみられなかった。SC65Aft の反芻期出現回数は SC35Aft と比べ少ない傾向にあった ($P < 0.10$)。総咀嚼時間、DMI および NDFI あたりの総咀嚼時間は飼料間で差はなかった。

4.2.3.2. ルーメン内容物およびルーメンマツト性状

ルーメン内容物の物理的性状について表 4-2-4 に示した。DM および NDF 総量は飼料間で差はなかった。給与直前の SC65Aft の大飼料片割合は SC35Aft と比べて有意に高かった ($P < 0.05$)。SC35Aft と SC35Bef では給与 2 時間後で大飼料片割合が増加し、小飼料片と可溶性分画割合が減少したが、SC65Aft では給与後の変動は小さかった。ルーメン内容物、ルーメンマツトおよび非マツト層の q_c 値および深度は処理間で差はなかった。

図 4-2-1 に総ルーメン内容物およびルーメンマツトの q_c 値、深さおよび厚さについて示した。SC35Aft と SC35Bef のルーメンマツトは給与後堅くなっていく傾向にあったが、SC65Aft では午前給与後に軟化した(図 4-2-1a)。総ルーメン内容物の深さは処理間で同様であり、給与後深くなり、時間経過とともに徐々に浅くなっていった(図 4-2-1b)。ルーメンマツトの厚さは、SC35Aft と SC35Bef では総ルーメン内容物と同様の傾向を示したが、SC65Aft では給与 2 時間後に一旦減少し、その後増加する傾向を示した(図 4-2-1b)。ルーメンマツトの厚さと総ルーメン内容物の深さの比は、SC35Aft と

SC35Bef では比較的一定で 50~70% の間で推移したのに対し、SC65Aft では 40~80% と変動の幅が大きかった(図 4-2-1c)。

4.2.3.3. ルーメン内飼料片の挙動

SFC 飼料片 (>1.18 mm) のルーメン内存在位置およびルーメン内 MRT について表 4-2-5 に示した。給与直前では、全ての処理において総内容物、ルーメンマツトおよび非マツト層のいずれにおいても SFC 飼料片はごくわずかしが存在しなかった。給与 1 時間後のルーメン背囊部のマツト層には 3 飼料ともに引き続きごく少量の SFC 飼料片がみられたに過ぎないが、ルーメン腹囊部の液層中には 19~28% という大量の SFC 飼料片が存在した。給与直前の総内容物中 SFC 飼料片プールサイズは、SC35Aft と比べて SC65Aft で多い傾向を示したが ($P < 0.10$)、各処理とも絶対量は少なかった。一方、給与 1 時間後では比較的多くの SFC 飼料片がルーメン内にプールされており、特に SC65Aft で顕著であった。

ルーメン内 MRT は各マーカーともに処理による違いがみられなかった。また、同一処理内で摂取 SFC マーカーとルーメン内挿入 SFC マーカーの MRT を比較しても、各飼料ともに有意差は認められなかった。

4.2.3.4. ルーメン発酵

ルーメン液の発酵性状について表 4-2-6 に示し、ルーメン pH の日内推移を図 4-2-2 に示した。pH および VFA の日平均には処理による差はなかった。アンモニア態窒素濃度は SFC の給与順序 ($P <$

Table 4-2-4 Rumen digesta characteristics in cows

	SC35Aft	SC35Bef	SC65Aft	SE	Effects, <i>P</i>	
					SC35Aft vs. SC35Bef	SC35Aft vs. SC65Aft
DM weight, kg						
0h ¹	5.65	5.50	7.01	0.87	NS	NS
2h ¹	9.80	9.64	10.72	0.96	NS	NS
NDF weight, kg						
0h	3.59	3.38	5.04	0.68	NS	NS
2h	5.82	6.00	6.65	0.65	NS	NS
Particle size distribution, % of total digesta DM						
0h						
Large particles (> 1.18mm)	31.5	32.1	45.1	3.1	NS	0.04
Small particles (> 0.047mm)	30.4	30.0	28.1	2.5	NS	NS
Soluble fraction (< 0.047mm)	38.1	37.9	26.8	4.5	NS	NS
2h						
Large particles	49.0	45.7	48.1	2.9	NS	NS
Small particles	22.1	23.4	22.8	2.1	NS	NS
Soluble fraction	28.9	30.9	29.1	2.3	NS	NS
Penetration resistance test						
Total rumen digesta						
q_c value ² , N/cm ²	8.41	8.58	8.55	0.94	NS	NS
Depth, cm	58.3	60.9	57.1	1.8	NS	NS
Ruminal mat ³						
q_c value, N/cm ²	10.3	10.9	11.0	1.31	NS	NS
Thickness, cm	35.2	32.5	33.1	2.2	NS	NS
Non-mat material ⁴						
q_c value, N/cm ²	6.49	6.30	7.01	0.95	NS	NS
Depth, cm	23.2	28.4	24.0	3.4	NS	NS

¹ Hours after feeding.

² $q_c = F_c/A_c$, q_c : Cone penetration resistance, F_c : The force acting on the cone, A_c : The projected area of the cone.

³ Values are the means in the upper part of the intersecting point between two regression lines for the relationship between the PRV and depth of the rumen digesta.

⁴ Values are the means in the bottom part of the intersecting point between two regression lines for the relationship between PRV and depth of the rumen digesta.

SC35Aft, SC35Bef, and SC65Aft are defined in Table 4-2-2.

SE: Standard error

0.05), SC の給与比率 ($P < 0.001$) にそれぞれ有意差が認められ、いずれも SC35Aft が低い値となった。ルーメン pH は飼料給与にともない急速に低下し、午後給与 2 時間後に最低を記録した (図 4-2-2)。SC65Aft の夕方 (17 時) の pH は SC35Aft よりも有意に低かったが ($P < 0.05$)、それ以外は処理間で差はみられなかった。

4.2.4. 考察

4.2.4.1. SC と GH の給与比率とルーメンマット性状の関係

本試験では、SC を非粗飼料繊維源として用いたが、当初は SC 給与比率を高めるとルーメンマットは形成されないか、形成されたとしても軟弱な状態であろうと推測した。しかし、SC レベルを 65% まで

高めても SC35 飼料と遜色ないルーメンマットが形成された。繊維質に富んだ大飼料片はルーメンマットの物理性を高めると考えられている (Van Soest, 1994)。SC65Aft では乾草給与量が少なかったが、ルーメン内の NDF プールサイズや大飼料片割合は SC35Aft と比べて低下しなかった。この原因は不明であるが、一つには酒粕の高いアルコール濃度や溶解すると粘度を有する特質、あるいは SC65Aft においてルーメン内アンモニア濃度が高かったことなどが、繊維分解細菌の活性に対して抑制的な影響を及ぼした可能性があるかもしれない。いずれにせよ、SC65Aft において繊維質や大飼料片のプールサイズが減少しなかったことが、ルーメンマットの物理性を保った原因であると推測する。

一方で、ルーメンマット性状の日内変動の傾向は

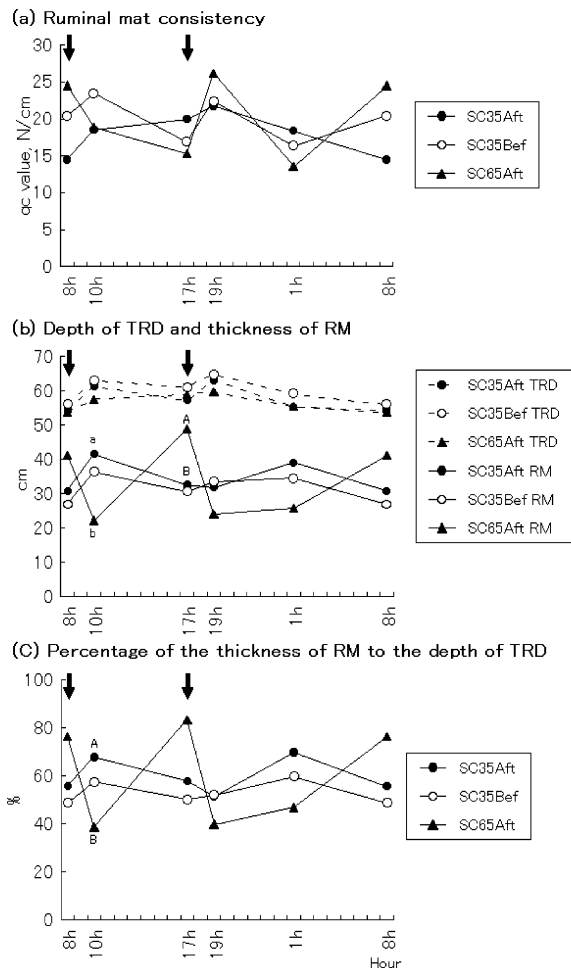


Figure 4-2-1 Diurnal variation of ruminal mat (RM) consistency, depth of total rumen digesta (TRD) and thickness of RM, and percentage of the thickness of RM to the depth of TRD in cows. * The value at second 8 h is the same as that at first 8 h. qc: Cone penetration resistance. SC35Aft, SC35Bef and SC65Aft are defined in Table 4-2-2. ↓: Time of feeding.

A, B: $P < 0.10$; a, b: $P < 0.05$

SC35Aft と SC65Aft では異なった。マットの堅さと厚さは、SC35Aft では飼料給与にともなって上昇した。対照的に、SC65Aft では総ルーメン内容物の深さが給与後に増すと、ルーメンマットは薄くなり、堅さも減少した。それゆえ、SC65Aft の総ルーメン内容物に対するルーメンマット厚さの比率は給与前の 80% から給与後 2 時間で 40% に急低下した。可能性として酒粕が有する液体に溶けやすい性質が関係していたのかもしれない (図 4-2-3)。酒粕がルーメン液中で溶解し、ルーメン内容物全体が粘度を有した粥状になり、マットが一時的に軟化した可能性がある。

ルーメン内 NDF プールサイズや大飼料片割合は飼料間で差がなかったにもかかわらず、反芻期回数は SC65Aft で少なくなる傾向を示した。加えて、ルーメン pH も SC65Aft は SC35Aft と比べて低い時間帯が存在した。ルーメンマットの堅さや厚さを日平均で見ると処理間差はなかったが、日内の変動で見ると SC65Aft は SC35Aft よりも大きく変動し、ルーメンマットの堅い状態が長時間持続しなかったと判断できる。一般的に反芻活動はルーメンマットの堅さや安定性を減じると考えられている (Zebeli *et al.*, 2007)。SC65Aft のルーメンマットが堅かったのは日内の一時期のみに限定され、堅さが長時間持続しなかったことから、SC65Aft のルーメンマットは短時間の反芻活動で容易に軟化する性質を有していたことが示唆される。言い換えると、SC65Aft のルーメンマットは SC35Aft と比べて反芻を誘発する物理性に乏しかったとも見て取れる。このことが、結果的に SC65Aft におけるルーメン内の低 pH 傾向を生んだ一因であるかもしれない。

4.2.4.2. ルーメンマットへの SFC 飼料片取り込み

総内容物に占める 1.18 mm 以上の SFC 飼料片の割合は給与直前では全ての処理において数%しか存在しなかった。SFC 給与 1 時間後では、その割合は増加したが、大半の SFC 飼料片はルーメン底部に沈んでいた。実際、湿式篩別法でルーメン背囊部内容物を篩い分けしている際に、肉眼では SFC 飼料片をほとんど観察できなかった。1.18 mm 以下の SFC 小飼料片がルーメンマット内部に取り込まれていた可能性はあるが、給与 1 時間後に大半の SFC 飼料片がルーメン腹囊部に沈んでしまっていたことは事実である。すなわち、摂取された SFC はルーメンマットにほとんど取り込まれなかったか、一旦は取り込まれたとしてもその後速やかにルーメン腹囊部に沈んでしまうことが示された。この傾向は、基礎飼料と SFC の給与順序の違い (SC35Bef vs. SC35Aft) や、SC と GH の給与比率の違い (SC35Aft vs. SC65Aft) によって左右されることはなかった。

これまで、堅いルーメンマットを形成して濃厚飼料をマット内に取り込ませるために、粗飼料を濃厚飼料よりも先に給与することが推奨されてきた。しかし、ルーメン底部に速やかに沈んでしまった SFC 飼料片から判断すると、SC35Bef のように濃厚飼料よりも先に粗飼料を給与することが必ずしも有効ではないことが示唆された。

Table 4-2-5 Location just before (0h) or 1 h after feeding in the rumen of steamed flaked corn (SFC) particles (>1.18mm) and ruminal mean retention time (MRT) of feed particles in cows

	SC35Aft	SC35Bef	SC65Aft	SE	P-value	
					SC35Aft vs. SC35Bef	SC35Aft vs. SC65Aft
DM percentage of SFC particles at 0h ¹ , %						
in total digesta	0.31	0.46	0.89	0.15	NS	0.06
in ruminal mat	0.44	0.39	0.66	0.22	NS	NS
in non-mat material	1.61	0.39	0.50	0.57	NS	NS
DM percentage of SFC particles at 1h ¹ , %						
in total digesta	4.98	4.14	6.94	1.11	NS	NS
in ruminal mat	2.88	3.40	1.66	0.60	NS	NS
in non-mat material	28.4	20.7	18.8	7.7	NS	NS
The amount of SFC particles (>1.18mm) in the rumen, g DM						
0h	20.4	24.5	65.5	13.4	NS	0.09
1h	483.1	495.6	740.9	132.0	NS	NS
MRT of particles, hour						
Grass hay	32.5	35.8	35.1	3.0	NS	NS
Sake cake	26.3	29.4	28.0	2.8	NS	NS
SFC ingested	28.9	32.7	31.3	3.5	NS	NS
SFC inserted into rumen	29.4	35.0	35.9	4.7	NS	NS

¹ Hours after feeding SFC.

SC35Aft, SC35Bef, and SC65Aft are defined in Table 4-2-2.

SE: Standard error; DM: Dry matter.

Table 4-2-6 Ruminal pH, VFA, and NH₃-N for each diet in dry cows

	SC35Aft	SC35Bef	SC65Aft	SE	Effects, P	
					SC35Aft vs. SC35Bef	SC35Aft vs. SC65Aft
pH	7.12	6.72	6.80	0.14	NS	NS
VFA						
Total, mM	92.6	105.8	92.1	5.4	NS	NS
Acetate (A), mM	56.9	68.3	51.3	5.7	NS	NS
Propionate (P), mM	17.2	18.2	17.1	1.5	NS	NS
Butyrate, mM	10.4	10.5	11.7	1.1	NS	NS
A:P	3.43	3.94	3.13	0.42	NS	NS
NH ₃ -N, mg/dL	11.6	17.7	25.0	1.3	0.03	0.001

SC35Aft, SC35Bef, and SC65Aft are defined in Table 4-2-2.

SE: Standard error

SFC 飼料片の大半が給与後最初の採食中にルーメン腹囊部に沈んでしまったという事実は、従来広く浸透していた“filter bed effect”理論 (Faichney, 1980; Kennedy and Murphy, 1988; Bernard *et al.*, 2000; Zebeli *et al.*, 2012) に疑問を呈する結果となった。本結果からルーメン内部を具体的にイメージしてみると、摂取され嚥下された SFC 食塊が堅く縮まり厚みのあるルーメンマットへ進入できずにはじき飛ばされてしまいルーメン腹囊部に沈んでしまった、という図式が推測される。

Ewing *et al.* (1986) は咀嚼されていない全粒トウモロコシをルーメンカニューレから投与したところ、ルーメン腹囊底部に速やかに沈んでしまい、そ

れ以降ルーメン背囊部に戻されたり、反芻によって吐き戻されることはなかったと報告している。Welch (1982) は微細なプラスチック片をルーメン底部に投与したところ、プラスチック片はわずか 18~38 分後には第二胃・第三胃口へ移動してしまうことを確認した。このことから、ルーメン底部に沈んでしまった小飼料片は極端に重い比重でなければ速やかにルーメンから流出してしまうと推測される。事実、Rémond *et al.* (2004) によると、トウモロコシ穀実の粒度が増すとルーメンから未消化のまま下部消化管に流出する割合も増加することが確認されている。

経口投与した SFC マーカーがルーメンマットに

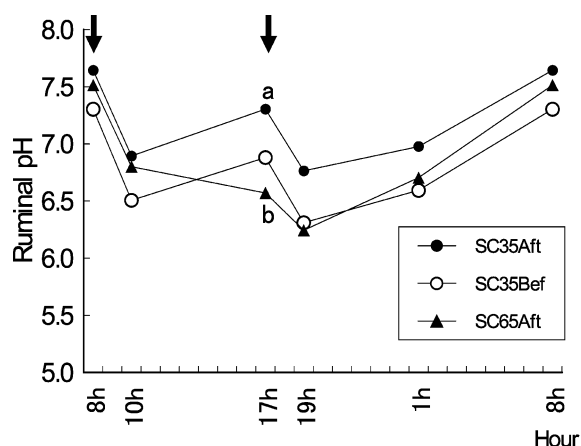


Figure 4-2-2 Diurnal variation of ruminal pH in dry cows. ※ The value at second 8 h is the same as that at first 8 h. SC35Aft, SC35Bef and SC65Aft are defined in Table 4-2-2. ↓: Time of feeding. a, b: $P < 0.05$

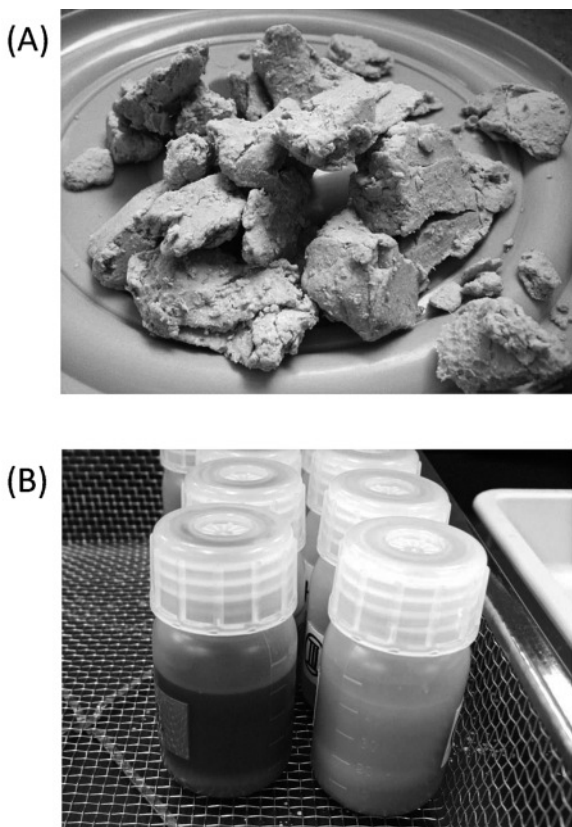


Figure 4-2-3 The appearance of sake cake (A) and the rumen fluid of SC35 diet and SC65 diet (B). The left bottle is SC35 diet, and the right bottle is SC65 diet in the picture (B).

取り込まれず、速やかにルーメン底部に沈んでしまうならば、そのルーメン内 MRT はルーメンマットへ挿入した SFC マーカーの MRT よりも短くなる

と予測した。しかし、本結果からはそのような傾向はみられず、ルーメンマットへの飼料片取り込み効果と MRT の関係は不明瞭なままであった。

ルーメン挿入 SFC マーカーは投与前に粗く砕き、温湯に浸すことで、咀嚼を受けた摂取 SFC マーカーの状態に近づける工夫をしたが、ルーメン内の挙動は実際に咀嚼を受けた経口投与マーカーとは異なっていたのかもしれない。粒度分布や可溶性分画の含量がルーメン挿入 SFC マーカーと摂取 SFC マーカーでは異なっていたのかもしれないからである。これらの理由から、SFC マーカー MRT の結果の解釈については即断を避ける必要がある。また、本試験は 3 頭の乳牛で設計したこともあるので、ルーメンマットへの穀物飼料片の取り込みとルーメンからの通過動態の関係については頭数を増やした上でさらなる検討が必要であろう。

GH と SC からなる基礎飼料と SFC の給与順序は、SFC 飼料片のルーメンマットへの取り込みに対して効果を発揮しなかった。しかし、粗飼料は濃厚飼料よりも時間を掛けて摂取されるために嚥下食塊への唾液添加量は多くなる (Balch, 1958)。これは、粗飼料を濃厚飼料よりも先に給与することで、採食時咀嚼によってルーメン内に流入する唾液量が多くなることを意味している。採食中にルーメン内に大量の唾液が流入すると、緩衝作用が強化され、その後摂取される濃厚飼料発酵に伴う pH の急低下を予防する効果があることが指摘されている (Yang and Beauchemin, 2007a)。

本試験の SFC 給与量はわずか 1 kg であったので SC35Bef と SC35Aft でルーメン pH に差はみられなかったが、大量の濃厚飼料を要求する高泌乳牛であれば、粗飼料よりも先に濃厚飼料を給与することでルーメンの健康や機能が損なわれる可能性が高い。たとえルーメンマットへの濃厚飼料取り込み効果がほとんど期待されないとしても、ルーメン環境の安定化という観点からすると、分離給与と体系の酪農生産現場においては濃厚飼料よりも先に粗飼料を給与する意義は無視できないと考える。

4.2.4.3. まとめ

高タンパク醸造副産物である SC を多給してもルーメンマットが形成されることが本試験結果から明らかとなった。一方で、全ての処理において摂取直後の SFC 飼料片がルーメン腹囊部に沈んでいたことから、粗飼料と濃厚飼料の給与順序あるいは粗飼料と副産物の給与比率の違いと、濃厚飼料のルーメンマットへの取り込みの関係性は認められなかつ

た。このことから、従来提唱されてきた“filter bed”効果は過大に評価されてきた可能性が示唆された。

4.3. 非粗飼料繊維源および併給牧草種がルーメンマット形成に及ぼす影響 (試験5)

4.3.1. 目的

ビートパルプや果実由来の副産物は易消化性の繊維含量が高く、消化性が良いため乳牛飼料として優れた繊維源となる (Hsu *et al.*, 1987)。一方で、このような非粗飼料繊維源は粗飼料に比べると粒子が細かく柔らかいことが多いので、採食や反芻時の咀嚼回数とそれに付随する唾液の分泌量が減少し、ルーメン pH を調節する緩衝能も弱まると予測される (Voelker and Allen, 2003a, c)。さらに、このような繊維ではルーメン内におけるマット層形成もさほど期待できないと考えられてきた (Eastridge *et al.*, 2009)。

副産物由来の高消化性繊維はこのように物理的有効度が低い粗飼料と組み合わせるとして給与しなくてはならない。しかし、組み合わせる粗飼料によっては乳牛のルーメン環境を適正に保つことが困難になる可能性がある。Weidner and Grant (1994) は、非粗飼料繊維源として大豆皮を多給した際に、組み合わせる粗飼料をコーンサイレージ+アルファルファサイレージからアルファルファ乾草に変更したところルーメン pH および酢酸・プロピオン酸比がともに上昇したことを報告している。ルーメン発酵を適正に保ち、SARA を予防するという観点から、非粗飼料繊維源と併給する粗飼料の組み合わせとルーメンマットの形成状況の関係は重要である。しかし、それらの組み合わせとマット形成の関連についてはこれまでほとんど検討されてこなかった。

そこで本試験では、非粗飼料繊維源としてビートパルプを用い、組み合わせる粗飼料としてマメ科のアルファルファ乾草とイネ科乾草を用いた。アルファルファ乾草とイネ科乾草では繊維の物理性や分解特性が異なるため (Gill *et al.*, 1988; Grenet, 1989; Ueda *et al.*, 2001)、反芻刺激効果やルーメンマット形成能に差があると想定されるからである。以上の想定に基づき、これらの飼料の組み合わせと給与比率を変えて乳牛に与えたときの、ルーメンマット性状や反芻活動に及ぼす影響について検討することを目的とした。

4.3.2. 材料と方法

4.3.2.1. 供試動物

酪農学園大学附属農場で飼養されているルーメン

カニューレを装着したホルスタイン種非泌乳牛 4 頭を用いた (平均体重 638.5 kg)。飼養環境は試験 1 と同様の精密試験タイストールであった。

4.3.2.2. 供試飼料

供試飼料はアルファルファ乾草 (AH)、イネ科乾草 (GH)、ビートパルプ (BP) を用いた (表 4-3-1)。AH と BP の乾物給与比を 8 : 2 (A8B2) と 2 : 8 (A2B8)、GH も同様に 8 : 2 (G8B2) と 2 : 8 (G2B8) とした 4 処理を設けた。これらの飼料を 1 日 1 回、8 時に給与した。両乾草は手押しの裁断機で 15~20 cm 程度に粗く切断して給与した。残飼については翌朝 7 時 30 分に除去した。給与量は日本飼養標準 (1999 年版) に基づき TDN 充足率が 100% になるように 1 日 1 回制限給与した。塩は 1 日 50 g を飼料に振りかけ給与し、水は自由摂取とした。

4.3.2.3. 試験設計および飼養管理

試験は 1 期 20 日間 (予備期 10 日間、本試験期 10 日間) の 2 要因 2 水準に基づく 4 × 4 ラテン方格法により実施した。なお、飼料成分が処理によって大きく異なるため、II 期以降は予備期開始前に 2 日間の移行飼料給与期 (移行期) を設けた。移行期の飼料は乾草と BP の乾物給与比を 5 : 5 とした。なお、供試牛の 1 頭にサンプリング時のアクシデントが発生したため IV 期目の本試験期間を 10 日間延長した。採食量測定は本試験期間中に毎日、ルーメン内貫入抵抗試験は本試験期の 1~3 日目、採食・反芻行動調査は 4~6 日目、ルーメン内容物全量採取を 6 日目、8 日目および 10 日目におこなった。

4.3.2.4. 測定項目およびサンプル採取

採食量、採食行動および反芻活動の測定方法は試

Table 4-3-1 Chemical composition of forage and beet pulp

	Alfalfa hay	Grass hay	Beet pulp
Chemical, % DM			
OM	86.8	94.7	93.3
CP	19.1	6.2	10.4
NDF	42.3	73.7	45.6
ADF	35.5	46.1	21.9
NFC	23.7	12.9	36.6
TDN ¹	56.9	54.2	64.4

DM: dry matter; OM: organic matter; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber; NFC: non-fiber carbohydrates; TDN: total digestible nutrients.

¹ TDN was analyzed by the Agricultural Product Chemical Research Laboratory in the Tokachi Federation of Agricultural Cooperatives using estimated equations of NRC (2001).

験1と同様であった。

ルーメン内容物の堅さを測定し、ルーメンマットを定義するために貫入抵抗測定を実施した。試験1と同様の手法であったが、測定時刻は飼料給与直前を起点とし2, 4, 6, 9, 12, 18 および 24 時間後の計7回行なった。なお貫入抵抗測定期間中の飼料給与時刻は、測定の重複をさけるため4頭の供試牛のうち2頭の給与時刻を1時間繰り下げた。貫入抵抗測定と同時に、ルーメン液採取を7回行った。ルーメン液の採取法およびその後の処理は試験1と同様の手法で行った。

ルーメン内容物のプールサイズおよび飼料片粒度分布を計測するために全量採取を行った。内容物採取は給与直前(0 h)と、給与してから2時間後(2 h)および12時間後(12 h)の3回とした。牛への負担を考慮して、内容物採取終了後は24時間以上の回復期を設けた。ルーメン内容物の採取および粒度分画測定法(湿式篩別法)に関するその他の手法については前々節(試験3)と同様とした。

4.3.2.5. 化学分析および解析方法

飼料およびルーメン内容物の分析は試験1と同様である。表4-3-2に各処理の化学成分含量、給与量および構成割合を掲載した。

ルーメン液を解凍後、アンモニア態窒素濃度およびVFA濃度の分析をおこなった。分析方法は試験2と同様であった。

Table 4-3-2 Ingredients and chemical composition of four diets¹

	A8B2	A2B8	G8B2	G2B8
Ingredients, %				
Alfalfa hay (A)	80.7	21.1	—	—
Grass hay (G)	—	—	80.2	20.3
Beet pulp (B)	19.3	78.9	19.8	79.7
Chemical composition, % DM				
OM	88.0	91.9	94.4	93.6
CP	17.4	12.2	7.0	9.5
NDF	42.9	44.9	68.1	51.3
ADF	32.9	24.7	41.3	26.8
NFC	26.2	33.9	17.6	31.8
TDN	73.2	74.5	75.2	74.1

¹Feeding ratio of alfalfa hay (A) to beet pulp (B) is 8 to 2: A8B2 and 2 to 8: A2B8, and that of grass hay (G) to B is 8 to 2: G8B2 and 2 to 8: G2B8.

4.3.2.6. 統計処理

統計処理には JMP7 (SAS, 2007) のフィットモデルプロシージャーを用いた。試験期と牛を変量効果、BPと乾草の給与比率の違い、乾草種の違いおよび給与比率と乾草種の交互作用を固定効果とした。 $P < 0.05$ で有意差あり、 $P < 0.10$ で傾向ありとした。

4.3.3. 結果

4.3.3.1. 採食量および咀嚼活動

A8B2, A2B8, G8B2 および G2B8 の DMI は 8.7, 7.5, 8.1 および 7.6 kg/d であり、NDFI は 4.0, 3.5, 5.9 および 4.1 kg/d であった(表4-3-3)。総採食時間は AH よりも GH で長くなる傾向を示し

Table 4-3-3 Intake and chewing activity in cows.

	Diets ¹				SE	Effects, <i>P</i>		
	A8B2	A2B8	G8B2	G2B8		Hay	Hay:BP ²	Hay × Hay:BP
Intake								
DMI, kg/day	8.68	7.46	8.13	7.59	0.26	NS	0.02	NS
NDFI, kg/day	3.98	3.54	5.92	4.12	0.19	0.001	0.001	0.01
Chewing activity								
Eating time, min/day	208.3	88.7	286.6	120.0	28.8	0.06	0.001	NS
No. of meal, /day	5.60	3.40	5.30	3.60	1.39	NS	NS	NS
Duration of meal, min	55.6	37.2	76.9	45.0	11.4	NS	0.09	NS
Rumination time, min/day	309.7	197.0	470.5	338.2	35.1	0.002	0.01	NS
No. of rumination period, /day	13.5	11.5	14.8	12.5	0.6	NS	0.02	NS
Duration of rumination period, min	23.1	17.7	32.1	27.4	2.9	0.011	NS	NS
Total chewing time, min/day	518.0	285.7	757.1	458.2	55.3	0.004	0.001	NS
Total chewing time/DMI, min/kg	60.3	38.5	93.4	61.5	8.3	0.010	0.012	NS
Total chewing time/NDFI, min/kg	132.7	81.5	128.2	110.9	15.0	NS	0.06	NS

¹ Feeding ratio of alfalfa hay (A) to beet pulp (B) is 8 to 2: A8B2 and 2 to 8: A2B8, and that of grass hay (G) to B is 8 to 2: G8B2 and 2 to 8: G2B8.

² Feeding ratio of hay to beet pulp (BP).

SE: Standard error

($P < 0.10$), B2区よりもB8区で短かった ($P < 0.01$)。採食期数は飼料間で差はなかった。採食期持続時間はB2区よりもB8区で短くなる傾向を示した ($P < 0.10$)。1日の総反芻時間はAH給与区がGH給与区よりも短く ($P < 0.01$), B2区よりもB8区の方が短かった ($P < 0.01$)。反芻期数はB2区の方がB8区よりも多かった ($P < 0.05$)。反芻期持続時間はGH給与区の方がAH給与区よりも長かった ($P < 0.05$)。総咀嚼時間およびDMIあたりの総咀嚼時間はAH給与区の方がGH給与区よりも短くなり ($P < 0.01$), B2区よりもB8区の方が短かった

(それぞれ $P < 0.01$ および $P < 0.05$)。また NDFI あたりの総咀嚼時間はB2区よりもB8区が短くなる傾向を示した ($P < 0.10$)。

4.3.3.2. ルーメン内容物およびルーメンマット性状

ルーメン内容物および飼料片プールサイズ, および貫入抵抗試験結果について表4-3-4に示した。ルーメン内DM量は0h, 2hおよび12hにおいてGH給与区の方がAH給与区よりも多くなり (0h, 12h: $P < 0.01$, 2h: $P < 0.10$), B2区と比べてB

Table 4-3-4 Rumen digesta characteristics in cows.

	Diets ¹				SE	Effects, <i>P</i>		
	A8B2	A2B8	G8B2	G2B8		Hay	Hay:BP ²	Hay × Hay:BP
DM weight, kg								
0h ³	4.19	3.00	6.45	4.43	0.56	0.001	0.002	NS
2h ³	8.65	7.57	10.2	9.21	0.87	0.09	NS	NS
12h ³	6.82	4.69	9.59	7.31	0.81	0.005	0.012	NS
NDF weight, kg								
0h	2.70	1.74	4.76	2.78	0.41	0.001	0.001	0.09
2h	4.93	3.89	7.17	5.10	0.45	0.007	0.012	NS
12h	3.89	2.59	7.00	4.41	0.57	0.002	0.005	NS
Ruminal particle pool size, kg DM								
0h								
Large particles (> 1.18mm)	1.59	1.10	1.95	1.68	0.27	0.0996	NS	NS
Small particles (> 0.047mm)	1.64	0.76	2.43	1.26	0.38	0.09	0.02	NS
Soluble fraction (< 0.047mm)	0.96	1.14	2.08	1.49	0.48	NS	NS	NS
2h								
Large particles	3.88	3.53	4.93	5.06	0.41	0.03	NS	NS
Small particles	2.11	1.18	3.28	1.65	0.37	0.006	0.001	NS
Soluble fraction	2.67	2.87	2.00	2.51	0.40	NS	NS	NS
12h								
Large particles	2.83	2.03	4.21	3.64	0.38	0.002	0.06	NS
Small particles	1.98	1.17	3.45	1.83	0.38	0.009	0.005	NS
Soluble fraction	2.00	1.49	1.94	1.84	0.34	NS	NS	NS
Penetration resistance test								
Total rumen digesta								
q_c value ⁴ , N/cm ²	11.2	10.6	15.4	10.7	1.3	0.095	0.048	NS
Depth, cm	54.5	50.0	57.6	54.6	1.2	0.007	0.008	NS
Ruminal mat ⁵								
q_c value, N/cm ²	13.2	11.5	19.1	13.5	1.4	0.03	0.04	NS
Thickness, cm	32.3	25.6	33.2	26.5	2.4	NS	0.012	NS
Non-mat material ⁶								
q_c value, N/cm ²	8.89	9.26	11.8	9.06	1.27	NS	NS	NS
Depth, cm	22.2	23.3	28.3	27.8	2.7	NS	NS	NS

¹ Feeding ratio of alfalfa hay (A) to beet pulp (B) is 8 to 2: A8B2 and 2 to 8: A2B8, and that of grass hay (G) to B is 8 to 2: G8B2 and 2 to 8: G2B8.

² Feeding ratio of hay to beet pulp (BP).

³ Hours after feeding.

⁴ $q_c = F_c/A_c$, q_c : Cone penetration resistance, F_c : The force acting on the cone, A_c : The projected area of the cone.

⁵ Values are the means in the area above the point at which the 2 regression lines for the relationship between the PRV and depth of the rumen digesta intersected.

⁶ Values are the means in the area below the point at which the 2 regression lines for the relationship between the PRV and depth of the rumen digesta intersected.

SE: Standard error

8区の0hと12hで低い値となった(0h: $P<0.01$; 12h: $P<0.05$)。ルーメン内NDF量は全てのサンプリング時刻においてAHよりもGHで多く($P<0.01$)、B2区よりもB8区が少なかった(0h, 12h: $P<0.01$, 2h: $P<0.05$)。また、NDF量の0hにおいて交互作用の傾向がみられた($P<0.10$)。

1.18 mm 篩上に残留した大飼料片プールサイズはAH給与区よりもGH給与区が多く(0h: $P<0.10$; 2h: $P<0.05$; 12h: $P<0.01$)、B2区と比べてB8区の12hが少ない傾向を示した($P<0.10$)。小飼料片プールサイズはAHよりもGHが多く(0h: $P<0.10$; 2h, 12h: $P<0.01$)、B2区よりもB8区が少なかった(0h: $P<0.05$; 2h, 12h: $P<0.01$)。可溶性分画プールについては飼料間で差はみられなかった。

ルーメン内容物の q_c 値はAHよりもGHで高値傾向を示し($P<0.10$)、B2区よりもB8区が低い値となった($P<0.05$)。ルーメン内容物の深さはGH給与区およびB2区で深かった($P<0.01$)。ルーメンマットの q_c 値はG8B2で最も大きくなり、B8区とAH給与区で小さな値となった(各 $P<0.05$)。ルーメンマットの厚さは乾草種による違いはなかったが、B2区がB8区よりも厚かった($P<0.05$)。非

マット層については堅さや深さに飼料間差はみられなかった。

ルーメン総内容物およびルーメンマットの q_c 値および深度を図4-3-1に示した。ルーメン総内容物では q_c 値の最大値はG8B2を除き給与2時間後にみられた(図4-3-1a)。G8B2の q_c 値は9時間後まで上昇を続けた。ルーメン総内容物の深さは各処理とも同様の推移を示したが、A2B8でやや浅い傾向が認められた(図4-3-1b)。ルーメンマットの q_c 値はG8B2が他の3処理よりも給与2時間後から9時間後にかけて高い値を示す傾向があったが、その差は12時間後では小さくなった(図4-3-1c)。ルーメンマットの厚さは20 cmから50 cmの間で変動がみられた(図4-3-1d)。

4.3.3.3. ルーメン発酵

表4-3-5にルーメン液の化学性状についてまとめた。ルーメンpHについては日内推移を図4-3-2にも示した。ルーメンpHはAHよりもGH給与で高い傾向を示し($P<0.10$)、B2区よりもB8区で低い値となった($P<0.05$)。総VFA濃度($P<0.10$)、プロピオン酸濃度($P<0.05$)および酪酸濃度($P<0.10$)はAHがGHよりも高い傾向を示し、酢酸濃度($P<0.10$)と酢酸・プロピオン酸比($P<0.01$)

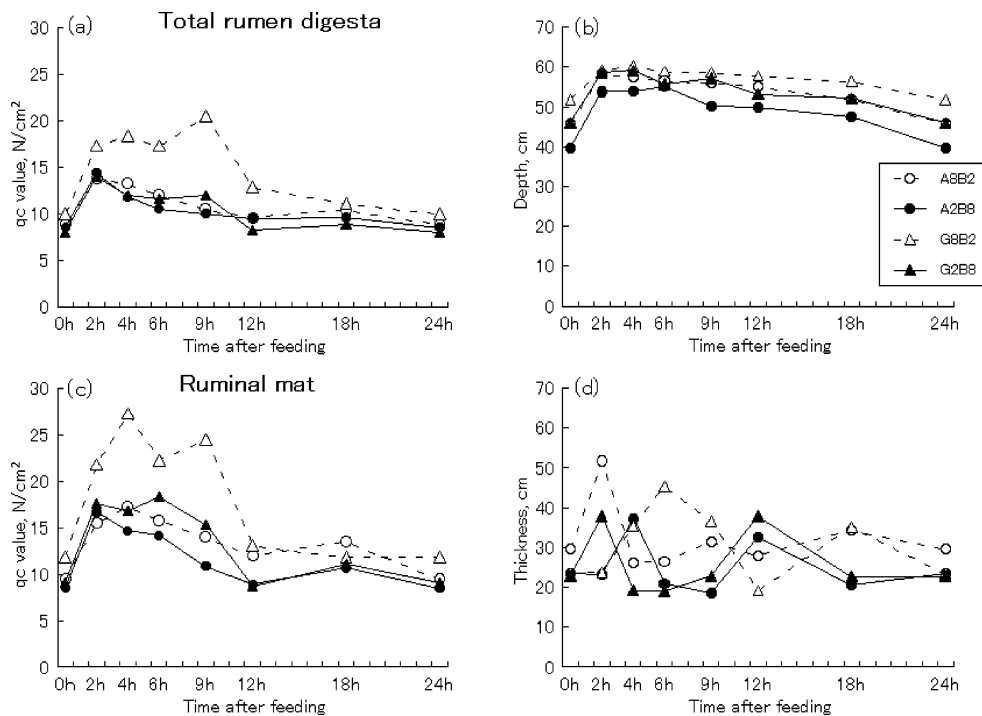


Figure 4-3-1 Diurnal variation of q_c value, depth or thickness of total rumen digesta (a, b) and ruminal mat (c, d) in cows. * The value of 24 h is applied by that of 0h. q_c : Cone penetration resistance. A8B2, A2B8, G8B2 and G2B8 are defined in Table 4-3-2.

Table 4-3-5 Ruminal pH, VFA, and NH₃-N for each diet in cows.

	Diets ¹				Effects, <i>P</i>			
	A8B2	A2B8	G8B2	G2B8	SE	Hay	Hay:BP ²	Hay × Hay:BP
pH	6.83	6.46	6.85	6.78	0.11	0.09	0.04	NS
VFA								
Total, mM	105.1	102.5	94.0	92.0	7.54	0.06	NS	NS
Acetate (A), mM	68.3	62.6	63.2	53.7	5.11	NS	0.08	NS
Propionate (P), mM	19.1	23.3	16.8	17.8	1.89	0.048	NS	NS
Butyrate, mM	10.9	9.39	9.19	4.12	1.84	0.09	NS	NS
A:P	3.73	2.87	3.84	3.11	0.29	NS	0.009	NS
NH ₃ -N, mg/dL	14.0	5.59	2.20	3.90	1.36	0.001	0.02	0.004

¹ Feeding ratio of alfalfa hay (A) to beet pulp (B) is 8 to 2: A8B2 and 2 to 8: A2B8, and that of grass hay (G) to B is 8 to 2: G8B2 and 2 to 8: G2B8.

² Feeding ratio of hay to beet pulp (BP).

SE: Standard error

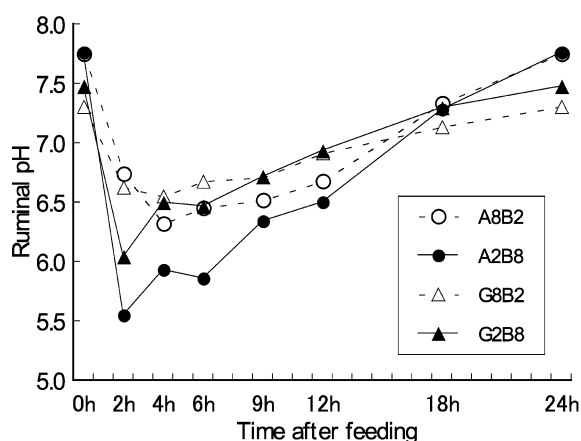


Figure 4-3-2 Diurnal variation of ruminal pH in cows. ※ The value of 24 h is applied by that of 0h. A8B2, A2B8, G8B2 and G2B8 are defined in Table 4-3-1.

はB2区と比べてB8区が低かった。アンモニア態窒素濃度は乾草種 ($P < 0.01$), BP 給与割合 ($P < 0.05$) および交互作用 ($P < 0.01$) が全て有意な差となった。

ルーメン pH は飼料給与後, 各飼料ともに低下し, 給与2時間後から4時間後で最低となった (図4-3-2)。特にA2B8では給与2時間後から6時間後にかけて6.0を下回った。

4.3.4. 考察

4.3.4.1. ルーメンマット性状と反芻活動

全ての処理においてルーメンマットの堅さは給与後増加し, 12時間後にかけて徐々に減少し, その後はほぼ一定で推移した。また, 飼料間でその堅さに差が認められた。これらの事実は以下で述べるようにルーメンマットの堅さと採食・反芻活動との関連を示唆している。

飼料摂取にともないルーメンマットの堅さは増していく。給与直後の大きな採食期によってルーメンマットは反芻を引き起こすのに十分なまでに堅さを増す。給与後の活発な採食が終了し, その後に続く反芻によってルーメンマットは徐々に軟化していく。

このようなマットの堅さと反芻活動の密接な関係を裏付けるようにルーメンマットの堅さと反芻活動の間に正の相関関係が確認された。ルーメンマットの q_c 値が1ポイント増すごとに総反芻時間は41分/日増加することが示された (図4-3-3, $R^2 = 0.553$; $P < 0.001$; $n = 16$)。反芻はルーメン背嚢部に対する粗い粒子による接触刺激や圧力で引き起こされるとされている (Baumont *et al.*, 1990)。堅く詰まったルーメンマットは q_c 値が大きいので, ルーメン壁に対する機械刺激も高いと推測される。ルーメンマットの q_c 値は反芻期の出現頻度には影響しなかったが, 反芻期持続時間との間にも正の相

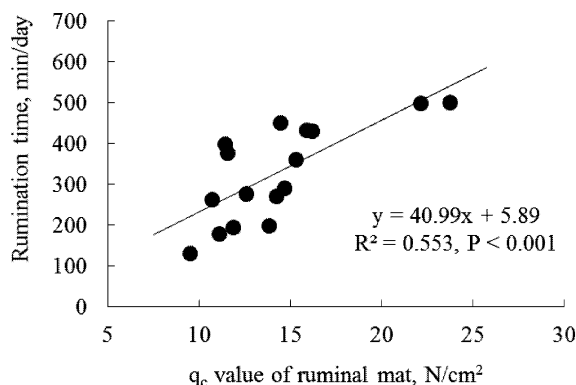


Figure 4-3-3 Correlation between q_c value of ruminal mat and rumination time in dairy cows ($n = 16$).

q_c : Cone penetration resistance

関がみられた ($R^2=0.530$; $P<0.01$; $n=16$)。この結果から、堅いルーメンマットは反芻の頻度を増すのではなく、反芻期の持続時間を増すことで総反芻時間の延長をもたらすと考えられた。

ルーメンマットの性状を論じる際に考慮すべき点として飼料の特質がある。本試験ではルーメンマットの堅さに牧草間で有意な差が生じ、イネ科乾草よりもアルファルファ乾草の方が軟らかい結果となった。アルファルファは発泡性で鼓腸症の原因となりうる特質を有している (Majak *et al.*, 1995)。Majak *et al.* (1995) によると植物体のタンパク質は基本的に泡沫性を有しており、アルファルファのタンパク質分画と鼓腸症発症率との間には正の関係が認められている。AH のタンパク質含量は GH よりも高かったため、タンパク質がルーメン微生物によって分解される際に産生されるガスや泡沫の量も AH の方が多かったと考えられる。ガスや泡沫がマット内部で産生されると、マット内部に空隙が生じたり、飼料片の絡まりが緩みかねないので、ルーメンマットを軟化させる方向に作用するのかもしれない。

Grenet (1989) や McLeod *et al.* (1990) は牧草のルーメン内での微細化について組織構造学的に検討しており、イネ科牧草に比べてマメ科牧草の方が脆く断片化しやすいことを報告している。また、アルファルファ乾草はオーチャード乾草と比べてルーメンからの消失速度が速いことも確認されている (Ueda *et al.*, 2001)。Grant and Cotanch (2012) は、マメ科牧草の飼料片はルーメン内で分解する際に立方形状に断片化するように微細化するのに対して、イネ科牧草の飼料片は細長く裂けるように微細化することから、イネ科粒子はマメ科に比べてより柔軟で、絡まり合ったり、重なり合ったりしやすく、階層構造を形成しやすいと述べている。このように、牧草間の発酵性状の違いに加えて、飼料片微細化過程における組織構造学的な違いもルーメンマットの形成やその性状に関与しているだろう。マメ科牧草の立方形状に断片化しやすい構造は、イネ科牧草と比べるとマット形成に関してマイナス要因であると考えられる。

4.3.4.2. 大飼料片プールサイズとルーメンマットへの小飼料片取り込み効果

ルーメン内で浮遊するマット層は新規に摂取された長くて軽い粗飼料繊維が背嚢部に層状に積み重なることで形成される (Welch, 1982)。言い換えると、厚く、堅いルーメンマットが形成されるためには、ルーメン内の大飼料片割合が高い必要がある。

本試験においても、ルーメンマットの堅かった GH 飼料では大飼料片プールサイズも高い値を示しており、大飼料片プールがルーメンマットの堅さに関係しているという仮説を指示する結果となった。このような結果は、ルーメン背嚢部における粗飼料片 (≥ 2.36 mm) の比率が高まるとルーメンマットの堅さが増すとする Weidner and Grant (1994) の報告とも一致する。

その一方で、ルーメンマットの q_c 値が高い飼料や大飼料片プールサイズの大きな飼料において、給与後 2 時間と 12 時間の小飼料片プールサイズも高い値を示す傾向にあった。このことは、小飼料片がルーメンマット内部に取り込まれたことを暗示しているのかもしれない。同様の傾向はアン粕多給試験 (試験 3) でも示唆された。これらのことから、ルーメン内の大飼料片の役割はルーメンマットの枠組みとなる主構造体を形成することで、その構造体の空隙に微細な繊維飼料片が充填されることで、内容物のマット構造が一層強固なものになると推測される。G8B2 のようにルーメンマットの q_c 値が高く、なおかつ小飼料片プールサイズの大きかった飼料では、filter bed 効果、すなわちルーメンマットへの繊維小飼料片取り込み効果がみられたのかもしれない。

一方、この結果は、圧ペントウモロコシ飼料片がルーメン腹嚢部に沈んでいたとする前節 (試験 4) の結果と矛盾する傾向にある。ビートパルプは、非粗飼料繊維源の中でも水和速度が速いが、発酵に伴うガス産生速度も速いため、*in vitro* 培養時間の経過に伴い比重が軽くなるという独特な特性を有している (Bhatti and Firkins, 1995)。したがって、マット内への小飼料片取り込み動態はあらゆる飼料で様ではなく、比重の重い穀物飼料片ではマットに取り込まれず沈んでしまうが、ビートパルプのような比重の軽い高繊維飼料片では逆にマットへの取り込みが促進されると推測される。

4.3.4.3. BP の物理的有効度と併給粗飼料の関係

本試験において、BP 給与水準を 80% まで増加させてもルーメンマットが形成された。BP のような非粗飼料繊維源は粗飼料の利用が制限される場合の補助繊維源として有効であるが、多給する際には蹄葉炎や SARA の発症因子になりかねないので要注意であるとの指摘がある (Swain and Armentano, 1994)。Swain and Armentano (1994) は乳脂率を指標として様々な非粗飼料繊維源由来 NDF の物理的有効度をアルファルファサイレージと比較した。

その結果によると、BPの有効度はアルファルファサイレージ NDF のおよそ2分の1と判断された。

このように、非粗飼料繊維源の物理的有効度は高くないので、仮に給与飼料中の NDF 含量が乳牛の要求量を満たしていたとしても、その NDF が粗飼料由来であるのか、非粗飼料繊維源由来であるのかで繊維充足の程度は異なる。本試験において、A2B8の NDF 含量(44.9%)はA8B2(42.9%)と比べて高い傾向にあったが、A2B8の咀嚼活動、ルーメンマットの堅さや厚さ、およびルーメン発酵はいずれも処理間で最も低かった。加えて、ルーメン pH が6.0を下回る時間も4処理中A2B8で唯一観察された。ルーメン pH が6.0を下回ると繊維分解菌の活性と繊維消化率の低下をもたらすという報告があり(Hoover, 1986)、A2B8ではSARAの発症が疑われた。マメ科牧草はルーメン内の分解速度が速いので(Ueda *et al.*, 2001)、非粗飼料繊維源と組み合わせてマメ科牧草を給与するためには牧草の給与比率を高める必要があると考えられる。

一方で、G2B8では粗飼料の比率が20%しかなかったにもかかわらず、ルーメンマットの堅さは粗飼料比率80%のA8B2と同程度であった。さらに、反芻活動やDMIあたりの総咀嚼時間についても両飼料は極めて類似した値を示した。Sudweeks *et al.* (1981)はroughage value indexという飼料の物理性評価基準を提唱し、イネ科牧草の物理性はアルファルファよりも高いことを示している。これらのことから、確固たるルーメンマットを形成するという点において、BPのようにルーメン内消化速度の速い副産物と組み合わせる粗飼料源としてはイネ科牧草が望ましいことが示された。

4.3.4.4. まとめ

ルーメンマットはイネ科牧草とマメ科牧草のいずれにおいても形成されたが、その物理的性状は大きく異なることが示された。マメ科牧草(AH)よりもイネ科牧草(GH)の方が堅いルーメンマットが形成された。一方、BP給与割合を増やすとルーメンマットは牧草種に関わらず軟化することも明らかとなった。以上のことから、副産物を多給する場合には、本実験で用いたGHのように反芻を誘発する刺激の強い粗剛な牧草を併給することが望ましいと考えられた。

ルーメンマットの q_c 値が上昇すると反芻活動も直線的に増加することが示された。つまり、ルーメンマットの強度が反芻を誘発することが本研究により明らかとなった。また、小飼料片がマット内に取

り込まれることで、ルーメンマットの堅さが増強する可能性が示された。ただし、BP由来の小飼料片と試験4で示した穀物由来の小飼料片とでは挙動が異なるものと推測された。

本章では3つの試験を通して、副産物由来の非粗飼料繊維源がルーメン内容物の階層構造に基づくマットの物理性を必ずしも脆弱化するわけではないことを示した。しかし、そのためにはイネ科牧草のようにルーメンマットの骨格となる主構造を形成しうる繊維源を組み合わせる必要があることが示唆された。

5. 総合考察

ルーメン発酵システムを適切に保持しSARA発症を抑止するための繊維の適正給与量を模索することは高泌乳牛飼養の鍵といえる(Sudweeks *et al.*, 1981; Zebeli *et al.*, 2010a)。peNDF理論は飼料の物理性を表す指標であり、乳牛の適切な繊維要求量を策定するための有効なツールであると考えられている(Zebeli *et al.*, 2010a)。この理論の根底には、peNDFを一定割合以上給与すればルーメンマットが形成されるであろうという想定が存在する。それに加えて、ルーメンマットは反芻活動を促進するであろうという推測もその理論には含まれている。しかし、ルーメンマットをルーメン内容物の中から分離してその堅さや厚さといった物理的特性を把握する手法がなかったため、peNDFIとルーメンマットの形成状況やその物理性と反芻活動の関連については検証されてこなかった。

このような観点から、本研究は従来取り組まれてこなかった乳牛のルーメンマットの物理的特性の定量法を確立し、これを利用することでルーメンマットの基礎的な機能を明らかにし、その上で飼料の物理性とルーメンマット機能との関係、さらにそれらと乳牛の生産性との関連について追求した。

5.1. ルーメンマット定量法の確立

ルーメンマットに関して、これまで構造的な定義を試みた研究はなく、実態が把握されないままその存在と機能について語られてきたが、本研究では階層的な測定法を確立することによりルーメンマットの構造を把握可能とした。

ルーメン内容物は背囊上部から腹囊底部に向かうに連れて堅さが軟化していくが、軟化の進行度合いが、ある深度を境に変化することが明らかとなった。本研究では、その深度がルーメンマットと非マット

層を区分する境界であると定義することで、ルーメン内容物の二層構造を解明した。その結果、ルーメンマットの厚さは総内容物の深さのおよそ6割を占め、非マット層よりも1.5倍程度強いことが明らかとなった(表5-1)。

ルーメンマットと反芻活動やSARAとの関連については長年にわたり推測の域を出ないまま酪農生産現場において定説化していた。しかし、本研究で確立したルーメン内貫入抵抗測定法を用いると、ルーメンマットの堅さや厚さといった物理的指標と乳牛の生理反応との関連を実測値を用いて検討することが可能となった。本手法は、ルーメン内容物の物理性や構造を把握する手段として、現在のところ最も優れた手法であると考えられる。

5.2. ルーメンマットの物理的性状とその機能

ルーメンマットが反芻を誘発する刺激効果を有しているとする推測は古くからなされてきた(Bell, 1958; Balch and Campling, 1962; Welch and Smith, 1969)。長年にわたりその推測が検証されることはなかったが、本研究からルーメンマットは反芻刺激機能を有することが示された。すなわち、ルーメンマットの堅さが増すと、反芻時間も直線的に延長することが明らかとなった(試験5, 図4-3-3)。一方で、反芻時間は600分/日前後でプラトーに達することが解明されている(岡本, 1979)。したがって、試験5で示した直線関係もプラトーに達することが予測された。

ルーメンマットの厚さはマットの容積を反映しており、厚みが増すほどマットの構造体が増大するこ

Table 5-1 Summary of the characteristics of ruminal mat and non-mat material.

	Ruminal mat		Non-mat material		Ratio of q_c value of mat to non-mat	RMSI ² , N/cm ² ·cm	Ruminaiton time, min/day	Dietary peNDF contents, % DM
	q_c value ¹ , N/cm ²	Thickness, cm	q_c value, N/cm ²	Depth, cm				
Lactating cow								
Experiment 1								
Control	32.4	31.4	23.4	20.5	1.38	1014.7	500.5	21.0
Chop ³	29.6	37.0	21.6	17.1	1.37	1093.7	525.7	14.9
Experiment 2								
F:C 40:60 ⁴	23.8	34.4	18.4	26.3	1.29	819.8	519.3	18.8
F:C 60:40 ⁴	24.0	36.4	19.2	26.6	1.25	874.1	526.0	22.0
Non-lactating cow								
Experiment 3								
Control	6.76	34.0	3.88	24.6	1.74	229.8	207.7	24.1
RBH ⁵	10.2	33.3	7.13	26.6	1.43	340.0	243.7	18.7
Experiment 4								
SC35Aft ⁶	10.3	35.2	6.49	23.2	1.58	361.1	305.2	—
SC35Bef ⁶	10.9	32.5	6.30	28.4	1.73	354.9	321.7	—
SC65Aft ⁶	11.0	33.1	7.01	24.0	1.56	363.4	277.3	—
Experiment 5								
A8B2 ⁷	13.2	32.3	8.89	22.2	1.49	427.3	309.7	—
A2B8 ⁷	11.5	25.6	9.26	23.3	1.24	293.2	197.0	—
G8B2 ⁷	19.1	33.2	11.8	28.3	1.62	635.2	470.5	—
G2B8 ⁷	13.5	26.5	9.06	27.8	1.48	356.9	338.2	—
Average of each experiments								
Lactating cow	27.4	34.8	20.7	22.6	1.32	950.5	517.9	
Non-lactating cow	11.8	31.7	7.76	25.4	1.54	373.5	296.8	
Total average	16.6	32.7	11.7	24.5	1.48	551.1	364.8	

¹ $q_c = F_c/A_c$, q_c : Cone penetration resistance, F_c : The force acting on the cone, A_c : The projected area of the cone.

² RMSI: Ruminal mat stratification index; the product of the consistency (q_c value, N/cm²) and the thickness (cm) of the ruminal mat.

³ Chop: the ration prepared by twice-chopping the control TMR using a forage chopper.

⁴ F:C: The ratio between forage: concentrate

⁵ RBH: TMR containing red bean hulls.

⁶ SC35Aft: control diet: Feeding ratio of SC to GH was 35: 65, and SFC was fed at 1 h after both GH and SC. SC35Bef: Feeding ratio of sake cake (SC) to grass hay (GH) was 35: 65, and steamed flaked corn (SFC) was fed immediately before both GH and SC. SC65Aft: Feeding ratio of SC to GH was 65: 35, and SFC was fed at 1 h after both GH and SC.

⁷ Feeding ratio of alfalfa hay (A) to beet pulp (B) is 8 to 2: A8B2 and 2 to 8: A2B8, and that of grass hay (G) to B is 8 to 2: G8B2 and 2 to 8: G2B8.

とを意味する。大きなマットはルーメン背囊粘膜に接触する面積や圧力も高い値になると考えられるので、ルーメンマットの厚さも反芻誘発に対して正の効果をもつと思われる。堅くて厚いマットの物理的有効度は高いと予測されることから、堅さと厚さはそれぞれ単独ではなく相乗的に作用すると考え、両者の積をルーメンマット階層化指数 (Ruminal mat stratification index : RMSI) と定義した。

その上で、本研究の全試験データ (表 5-1) を基にあらためてルーメンマットの堅さ、厚さおよび RMSI と反芻時間の関係を解析した。その結果、厚さ単独では反芻時間との間に関係性は認められなかったが、堅さおよび RMSI と反芻時間の間に関連が認められ、残差平方和が低く当てはまりが最も良かったのは RMSI であった (図 5-1)。RMSI と反芻時間の間には 2 本の直線で分割される折曲点を得られた。すなわち、当初は RMSI の上昇に比例して反芻時間も延長するが、RMSI が $707.8 \text{ N/cm}^2 \cdot \text{cm}$ に達すると、それ以降 RMSI が高まっても反芻時間は増加しないことが示された。その折曲点における反芻時間は 522.0 分/日であり、岡本 (1979) が提唱した反芻時間の推奨範囲内 (500~600 分) であった。これは、ルーメンマットの堅さと厚さが相乗的に作

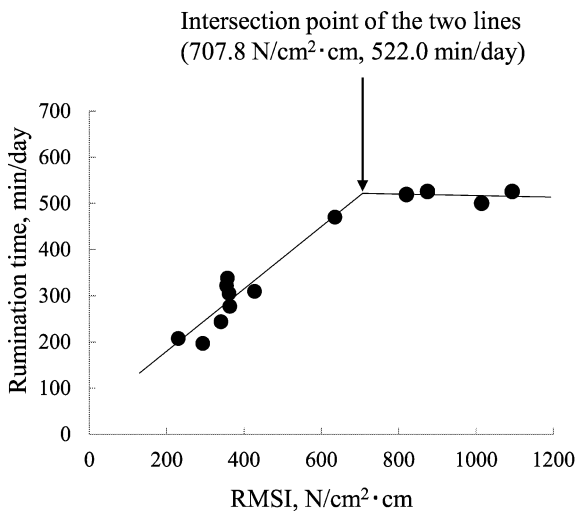


Figure 5-1 Correlation between ruminal mat stratification index (RMSI) and ruminantion time in dairy cows: Ruminantion time = $0.67 \cdot \text{RMSI} + 45.2$, if $\text{RMSI} < 707.8 \text{ N/cm}^2 \cdot \text{cm}$, asymptotic plateau of ruminantion time = 522.0 min/day; root mean square error (RMSE) = 8660.6; $R^2 = 0.8469$, $P < 0.001$. Data obtained from all experiments in this research.
RMSI: The product of the consistency (q_c value, N/cm^2) and the thickness (cm) of the ruminal mat.

用することで反芻が誘起し、反芻時間は RMSI が $708 \text{ N/cm}^2 \cdot \text{cm}$ に達するとほぼ上限に達することを示すものである。今後、反芻時間を適正に保つための繊維給与水準を検討する際には、RMSI が $708 \text{ N/cm}^2 \cdot \text{cm}$ 以上となるような飼料設計が一つの目安になることを本結果は示唆している。

さらに、RMSI を用いることで、堅くて薄いルーメンマットと軟らかいが厚いマットの物理性を比較することも可能になる。例えば、試験 1 の対照区は堅さが 32.4 N/cm^2 、厚さが 31.4 cm、細断区は同 29.6 N/cm^2 、37.0 cm であった (表 5-1)。対照区は堅いが薄いマット、細断区は軟らかいが厚みのあるマットであることがわかる。これだけではどちらがより物理性に富んだマットであるのか判断できないが、両者の RMSI を算出すると、それぞれ 1014.7 および $1093.7 \text{ N/cm}^2 \cdot \text{cm}$ となり、細断区 TMR の方がより強固な構造体を有したルーメンマットであると判断できる。このように RMSI は、ルーメンマットと反芻活動との関係やルーメンマットの物理性を客観的に評価できる点で有効な指標であるといえよう。

RMSI の評価に際して注意すべき点として、ルーメン充満度による DMI 調節メカニズムがあげられる。本研究では RMSI が高すぎることによる採食量の減少は認められなかった。しかし、採食行動はルーメンの充満によって中断すると考えられており (Hidari, 1979; 泉ら, 2007), ルーメン内容物の消失速度と DMI の間には正の直線関係があることが示されている (上田, 1996)。したがって、RMSI の値が高すぎるとルーメン充満度の高い状態が長時間続くことになり、そのことが採食行動の抑制と DMI 減少をもたらすかもしれない。本研究で得られた範囲ではその恐れは低かったと判断できるが、繊維供給過多の飼料では注意が必要となるだろう。理想的なルーメンマットとは、RMSI が $708 \text{ N/cm}^2 \cdot \text{cm}$ を大きく越えることがなく、反芻活動を維持しつつマット自体が適宜消化・縮小することで次なる採食行動を誘起し、DMI を高い状態で保つことが可能なものであるといえよう。

ルーメンマットの主要な機能のもう一つとして、小飼料片の絡め取りによる滞留時間延長と消化促進があると考えられている (Robinson *et al.*, 1987; Van Soest, 1994)。しかし、試験 3 において、圧ペントウモロコシのように比重の重い穀物飼料片は速やかにルーメン腹囊に沈降してしまうケースが確認された。一方で、アン粕 (試験 3) やビートパルプ (試験 5) といった繊維質に富んだ副産物飼料は、穀

物以上に粒子が細かいにも関わらずマットへの取り込みが促進していると推測された。これには、粗飼料と濃厚飼料の比重の違いが関係していたのかもしれない。飼料片の比重がルーメン内の動態に影響を及ぼすことは従来より指摘されている。例えばルーメンに流入した飼料片のうち軽いものは第二胃収縮によって背嚢部に送り込まれるが、重い飼料片は第二胃収縮中もそのまま第二胃底部にとどまり、結果的にルーメン内の滞留時間が短縮する (Kaske *et al.*, 1992)。

これを裏付けるかのように牧草 (Poppi *et al.*, 2001) とトウモロコシ穀実 (Ewing *et al.*, 1986) では全く異なるルーメン内の動態が報告されている。両研究ともにカニューレを介してマーカーをルーメン背嚢部に埋め込むように投与して通過動態を観察した。バミューダグラスマーカーはルーメン背嚢部から腹嚢部への移行速度が遅かったのに対して (Poppi *et al.*, 2001), 全粒トウモロコシは投与直後に腹嚢部に沈降してしまい、再び背嚢部に戻ることも、反芻で吐き戻されることもなかった (Ewing *et al.*, 1986)。このように、小飼料片がルーメンマットに取り込まれルーメンからの通過が遅延するとしても、それは飼料片の比重が小さいときのみ成立する事象であり、穀物のように比重が大きい場合には当てはまらないのかもしれない。Robinson *et al.* (1987) は厚く充実したルーメンマットは小飼料片の取り込みを促進し、通過速度の上昇を遅延させると述べたが、その理論に飼料片比重の概念は含まれていなかった。ルーメンマットの filter bed 理論は粗飼料と濃厚飼料で一律の反応ではない可能性が示唆されたため、さらなる精査が必要である。

本研究では検討できなかったが、ルーメン内容物の階層に応じて微生物の分布も偏在していると考えられている (Martin *et al.*, 1999; Tafaj *et al.*, 2004)。Martin *et al.* (1999) は、ルーメン背嚢部には腹嚢部と比べて繊維分解菌やプロトゾアの分布割合が高いことを報告している。さらに Tafaj *et al.* (2004) は、ルーメン背嚢部は VFA 濃度、特に酢酸濃度が高いことを確認した。繊維分解菌の主要発酵産物の一つが酢酸であることから、ルーメンマット付近の背嚢部では繊維消化が活発であったことがうかがわれた。これらのことから、ルーメンマットは繊維分解性ルーメン微生物への発酵基質および生息環境を提供する重要な部位であると位置づけられる。本手法を用いてルーメン内容物をルーメンマットと非マット層に分割することで、ルーメン内の階層構造と微生物相を関連づけた検討が可能となるだ

ろう。

5.3. peNDF とルーメンマット形成

本研究では粗飼料主体あるいは副産物多給といった peNDF 含量の異なる飼料を用いたが、いずれにおいても生産性に悪影響を及ぼすことのない確固たる物理性を有したルーメンマットが形成されることが確認された。これまでの認識では、堅く締まったルーメンマットは主として長大で、摂取されて間のない、浮力のある飼料繊維で構成されると考えられていた (Poppi *et al.*, 2001; Tafaj *et al.*, 2004)。しかし、細断 TMR (試験 1) や RBH 飼料 (試験 3) のように peNDF 含量の低い飼料でも堅いルーメンマットが形成された。これらの飼料では対照飼料と比べてマットの物理性が低下することはなく、逆に細断 TMR ではマットの厚みが増し、RBH 飼料ではマットの堅さが増した。その結果を受けて、両飼料ともに反芻活動は減少することなく、ルーメン発酵への悪影響もみられなかった。

peNDF 含量や peNDFI が低下したにもかかわらずルーメンマットの物理性が増すという結果は予想外のものであった。過去の研究を総説した Zebeli *et al.* (2012) によれば、peNDF 含量と乳牛の生理反応との間に一貫性がみられなかったとされているが、そこに含まれる研究報告においてルーメンマットの形成状況を評価できていれば、本研究と同様の現象が発生していたケースもあったかもしれない。Kononoff and Heinrichs (2003b) のように peNDF 含量が低下しても咀嚼活動やルーメン発酵あるいは乳脂肪率に悪影響がみられなかったケースなどは、充実したルーメンマットが形成されていたものと推察される。一方で、従来の想定通り peNDF 含量の低下が乳生産低下に結びついたケース (Armentano and Pereira, 1997) では、ルーメンマットの物理性低下も同時に生じていた可能性が高い。これらの結果の不一致は、飼料中 peNDF 含量とルーメンマットの物理性の間に強い関連が存在しないことを示唆している。

そこで、本研究で用いた飼料の peNDF 含量とルーメンマットの堅さと厚さの積 (RMSI) の関係を図 5-2 にまとめた。グラフからは飼料中の peNDF 含量と RMSI の間に明確な関係は認められなかった。データには非泌乳牛も含まれており DMI が大きく異なるので、この結果を直接泌乳牛のルーメンマットの階層構造や生産性に結びつけることは難しいかもしれない。しかし、少なくとも飼料中の peNDF 含量がルーメンマットの物理性を決める唯

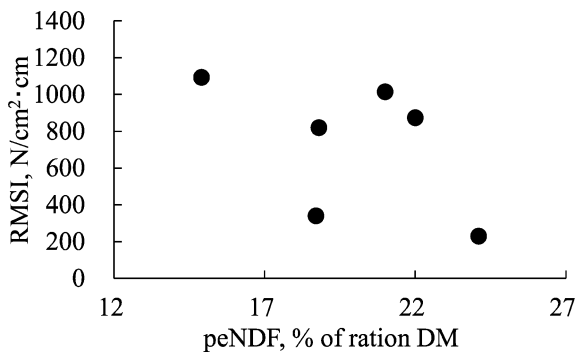


Figure 5-2 Relationship of physically effective NDF (peNDF) contents to ruminal mat stratification index (RMSI). Data obtained from experiment 1, 2 and 3 in this research (Table 5-1). RMSI: The product of the consistency (q_c value, N/cm²) and the thickness (cm) of the ruminal mat. q_c : Cone penetration resistance.

一の要因ではないことを、この結果は明確に示している。

本研究のデータは、反芻活動と強い関係のある RMSI と peNDF 給与水準の関連が必ずしも明確ではないことを示唆するものであった。換言すると、peNDF 単独でルーメンマットの形成状況やルーメン発酵を予測するには限界があり、peNDF が十分に含まれない飼料であっても堅く厚みのあるマットが形成され、安定したルーメン環境が得られるケースが少なくない頻度で出現することを示唆している。

過去に酢酸・プロピオン酸比や乳脂率といった乳牛の生産性が低下した研究で用いられた peNDF 含量は 11.2~22.0% と極めて低い値であった (Teimouri Yansari *et al.*, 2004)。一方、カナダの 30 戸の農場における TMR の調査事例 (Plaizier *et al.*, 2004) では、peNDF 含量の中央値は 16.1% であり、peNDF 含量と乳生産の間に関連性は認められていない。これは、peNDF 含量が平均 19.9% (14.9~24.1%) であった本試験結果と同様の傾向である。つまり、実験的に設定した極めて低値の peNDF 含量であればルーメンマットの形成不全が生じ、そうなる生産性に対する負の影響が具現化するが、実際の生産現場においてそのような飼料設計が用いられることは想像しがたい。このことから、粗飼料が豊富な環境における標準的な peNDF 含量の範囲であれば、ルーメン内の階層構造や生産性に悪影響が及ぶことはないと推察された。

5.4. ルーメンマット機能を応用した泌乳牛繊維要求量算出モデルの提案

NRC 飼養標準 (2001) や日本飼養標準 2006 年版など、近年の乳牛飼養標準では各成分の分解速度や微生物の増殖効率を考慮するなど飼料設計の精密化が進んでいる。しかし、繊維要求量については研究成果の傾向が一定しないために、他の成分と比べると細かな基準策定に至っていない。繊維質は消化性といった飼料側の要因に加え、ルーメンマットの形成やその結果としての反芻活動あるいはルーメン発酵といった乳牛側の要因が複雑に関係してくる上に、その反応の程度が飼養環境に応じて大きく変動するので詳細な基準を設けることが困難であった。そこで本研究では、飼料側の要因として peNDF を用い、乳牛側の要因としてはルーメンマット構造を組み込んだ泌乳牛繊維要求量を算出するための一つのモデルを提案したい。

このモデルにおいて判断基準となる要因が 2 点存在する。一つ目は peNDF 含量がどの程度の水準であればルーメンマットがほぼ確実に形成され、どこまで低下したらルーメンマット形成がケースバイケースになるかという分岐点の策定である。一つの示唆として (Zebeli *et al.*, 2010b) の報告がある。彼らは peNDF とルーメン pH の関係に関する広範囲な研究 (研究数: 64, 処理数: 257) を対象に非線形統計モデルを用いたメタ解析を行った。解析の結果、ルーメン pH の日平均、ルーメン pH が 5.8 を下回る時間、繊維消化率あるいは DMI を総合的に考慮すると、SARA を防ぎつつ DMI 低下も抑制する値として、peNDF 含量 (8 mm 以上) は 17.0~18.5% が最適値であると算定された。peNDF 含量がこれより低い場合は SARA 発症のリスクが高まる。逆に peNDF 含量がこれよりも高くなると、高泌乳牛の DMI はルーメンの最大容積によって規定されるので、peNDF 給与過剰による DMI 減少が懸念される (Zebeli *et al.*, 2010b)。あるいは、peNDF 含量が高すぎることで選択採食の度合いが大きくなり、ルーメン発酵を適正に維持できなくなる懸念が高まる (DeVries *et al.*, 2007)。そこで、本研究ではこの値を基準として、peNDF 含量がこの範囲内 (17.0~18.5%) にあればルーメンマット形成の有無を判断しなくてもルーメン環境は適正に維持されると判断した。

次に、peNDF 含量が基準値を下回るケース (< 17.0%) については、ルーメンマットの物理的構造が十分に形成されているかどうかを判定しなくてはならない。ここに 2 つめの判断基準が該当する。堅く

締まったルーメンマット形成の有無を判断するためには、図 5-1 で確認されたルーメンマットの堅さと厚さの積で表される RMSI と反芻時間の折曲点である $708 \text{ N/cm}^2 \cdot \text{cm}$ を使用するのが妥当であると考へた。この値に達していれば反芻時間は推奨範囲(岡本, 1979)に収まることから、充実したマット形成の有無を判断する指標として適している。RMSI がこの値に達していなければ peNDF を増給し、達していれば peNDF 含量が先の基準値を下回っていても問題なしと判断することとした(図 5-3)。たとえば、3 章の細断 TMR は peNDF 含量が 14.9% であったが、RMSI は $1093.7 \text{ N/cm}^2 \cdot \text{cm}$ であったことから、この手順に従うと繊維給与水準は適正であったことになる。

本研究では peNDF 含量が 14.9% と最も低かった試験 1 の細断区で RMSI は逆に最大値の $1094 \text{ N/cm}^2 \cdot \text{cm}$ となった。一見すると、ルーメンマット

の形成不全は生産現場においては生じないかのようになってしまう。本研究の 3 試験で用いた TMR は合計 7 通りの設計であったが、粗飼料乾物給与割合の平均は 52.6% であった。この水準は平成 23 年度の北海道酪農経営の粗飼料給与割合平均値(54.3%) とほぼ等しい(農林水産省, 2013)。一方で同年度の都府県の酪農経営では粗飼料給与割合が 37.0% となっており(農林水産省, 2013)、より一層濃厚飼料に依存した給与体系になっている。濃厚飼料に依存した都府県型酪農では、しばしば粗飼料摂取不足が原因と思われる消化器・代謝障害が問題となる(種村ら, 2008)。さらに、都府県で主に利用される輸入乾草は栄養価の変動が大きく、嗜好性に影響することが指摘されている(西野ら, 2008)。これらのことから、都府県型酪農の標準的スタイルである輸入乾草+濃厚飼料多給体系では、繊維の摂取不足に起因した形成不十分なルーメンマットを有する乳牛が低い確率で存在すると予測される。

このように、我が国には粗飼料基盤が脆弱な酪農地域など多様な飼養体系が存在することから、本研究で提案したルーメンマット機能を組み込んだ泌乳牛繊維要求量算出モデルは飼料設計に際して有益な情報を提供すると考えられる。

本研究で確立したルーメン内貫入抵抗測定法によって、ルーメン内の階層構造を明確に把握し、ルーメンマットの堅さおよび厚さを定量的に測定することが可能となった。従来、これらルーメンマットの物理性を推測する飼料側の指標として peNDF 含量が適していると考えられてきたが、本研究結果はそれを肯定するものではなかった。

今後は、ルーメンマットの物理性を推測するための peNDF に変わる新たな指標を模索する必要がある。一つの可能性として、飼料の比重や水和特性があげられる。鈴木(2001)は、ルーメン内大飼料片の微細化に対する強度について研究し、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を明らかにした。本研究においても比重の軽い小飼料片はルーメンマットの堅さを増強する効果が示唆されたことから、飼料片の比重や水和特性を評価することでルーメン内の階層化の程度やマット構造の強度を推測できるかもしれない。

さらに、非カニューレ装着牛においても q_c 値を測定できるとルーメンマットの形成状況を把握可能となる。牛体の外貌からルーメン充満度を評価する方法として、左臍部のくぼみの程度をスコアリングすることで充満の程度を推測する手法が開発されてい

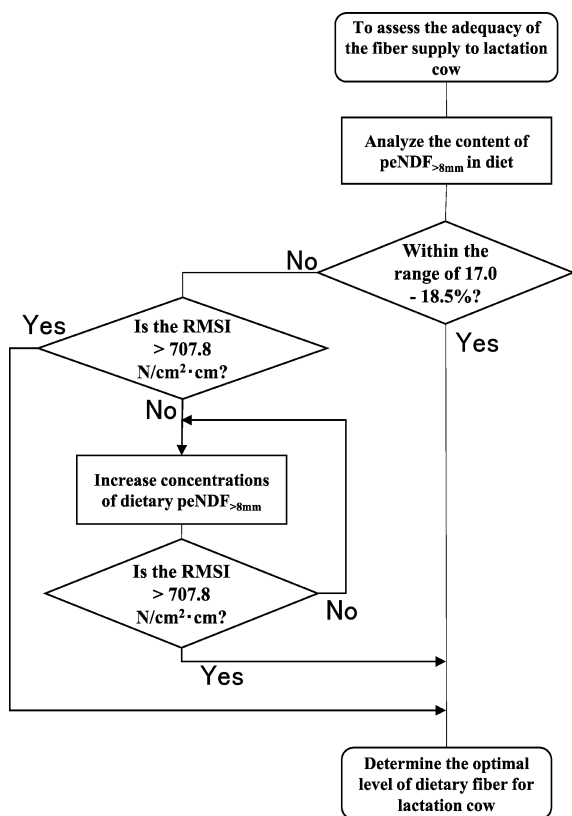


Figure 5-3 Decision procedure for the optimal fiber supply to lactation cow based on peNDF and ruminal mat stratification index (RMSI).

peNDF_{>8mm}: peNDF fraction of the diet comprising particle fraction > 8mm.

RMSI: The product of the consistency (q_c value, N/cm^2) and the thickness (cm) of the ruminal mat.

る (Zaaije and Noordhuize, 2003)。このような間接的な手法とルーメン内貫入抵抗測定法による実測値を関連づけられれば、応用の範囲が広がるだろう。

比重や水和といった飼料の組織学的な特徴や牛体外部からのスコアリングといった間接的な指標とルーメンマット形成の関係については、残された検討課題であるといえよう。

6. 結 論

本研究で確立したルーメン内貫入抵抗測定法を用いることによって、ルーメン内容物の階層構造が把握可能となった。ルーメン内容物は背囊上部から腹囊底部に向かうに連れて堅さが軟化したが、軟化の進行度合いが、ある深度を境に変化することが示された。本研究では、その深度がルーメンマットと非マット層を区分する境界であると定義し、ルーメン内容物の二層構造を明示した。これによって、ルーメンマットの堅さおよび厚さが定量的に把握可能となった。

ルーメンマットは、peNDF 含量や粗濃比の違いに関わらず、また食品製造副産物由来の非粗飼料繊維源多給下であっても形成され、多くの場合反芻やルーメン pH に悪影響を及ぼさないことが示された。逆に、粒子の細かい飼料片を給与するとルーメンマットの堅さや厚さが増す場合があることが確認された。一方で、ビートパルプ多給下にアルファルファ乾草を併給すると、軟弱なルーメンマットとなりルーメン pH も低下したことから、非粗飼料繊維源多給下でルーメン内容物の階層構造を明確に保つためにはイネ科牧草の併給が必要であることが示された。

本研究で実施した全ての試験をまとめると、ルーメンマットの堅さは 16.6 N/cm^2 で、非マット層よりも 1.5 倍強いことが明らかとなった。また、マットの厚さは 32.7 cm で、総内容物の深さのおよそ 6 割を占めることが示された。

ルーメンマットの堅さと厚さの積 (RMSI) と反芻時間の間には正の直線関係があり、RMSI が $707.8 \text{ N/cm}^2 \cdot \text{cm}$ に達すると反芻時間は 522.0 分/日 でプラトーに達することが示された。このことから、反芻時間を適正に保つためには、RMSI が $708 \text{ N/cm}^2 \cdot \text{cm}$ 以上となるように繊維給与水準を設定する必要があることを本研究は示唆した。

一方で、RMSI と peNDF 含量との間には明確な関連性はなく、peNDF がルーメンマットを形成する効果を有しているという従来の認識は正しくないことが示唆された。さらに、穀物はマット内部に取

り込まれると考えられてきたが、穀物飼料片は速やかにルーメン腹囊に沈降することが確認された。このことから、ルーメンマットへの小飼料片取り込み効果は、繊維のように比重の軽い飼料片では認められるものの、穀物のように比重の重い飼料片では過大に評価されてきた可能性が示唆された。

以上、本研究で確立したルーメン内貫入抵抗測定法を用いると、ルーメンマットの堅さや厚さあるいはその積で表されるルーメンマット階層化指数 (RMSI) といった物理的指標と、乳牛の生理反応との関連を、実測値を用いて検討できることが明らかとなった。本手法は、ルーメン内容物の階層構造を把握する手段として、現在のところ最も優れた手法であると結論された。

要 約

本研究ではルーメンマット構造の実態を把握し、飼料の違いがルーメンマット形成に及ぼす影響を明確にすることを目的とし、以下の 3 点を検討課題とした。

1. ルーメンマットの立体構造の定量法確立
2. 飼料中 peNDF 含量とルーメンマット形成の関係
3. 粗飼料由来繊維源および非粗飼料繊維源の給与とルーメンマット形成の関係

本研究で得られた結果は以下に要約される。

- 1) ルーメンマット構造の定量法確立
土壌硬度測定法を応用し、ひずみゲージ式の圧力計と変位計を用いたルーメン内貫入抵抗測定装置を開発した。ルーメンカニューレを介して、内容物表層から腹囊底部にかけてコーンを貫入する際の堅さと深度を連続的に測定し、コーン貫入抵抗値 q_c (N/cm^2) と深度を計算した。 q_c 値と深度の関係を図示し、大塚と吉原 (1975) の折れ線モデルをあてはめることで、ルーメンマットとその下側の非マット層を分割することを可能とした。
- 2) ルーメン内貫入抵抗測定試験によって、ルーメン内容物は背囊上部から腹囊底部に向かうに連れて堅さが軟化していくが、ある深度を境に軟化の進行度合いが変化することが明らかとなった。本研究では、その深度がルーメンマットと非マット層を区分する境界であると定義し、ルーメン内容物の二層性を明確にした。その結果、ルーメンマットの厚さは総内容物の深さのおよそ 6 割を占め、非マット層よりも 1.5 倍程度強いことが明らかとなった
- 3) 飼料中 peNDF 含量の違いがルーメンマット形

成に及ぼす影響を評価するために二つの試験を実施した。

試験1では通常のTMR(対照区)と切断したTMR(細断区)を泌乳牛に給与し、試験2では飼料中粗濃比(F:C)の違いがルーメンマット機能に及ぼす影響について評価した。

両試験の結果、飼料の切断長や粗濃比が低下することでpeNDF含量が低くなっても、ルーメンマットの堅さや厚さといった物理的構造は脆弱化しないことが示された。その結果、ルーメン内発酵状況、咀嚼活動および乳生産も変化しなかった。

細断区でルーメンマットの厚みが増したことから、細かい飼料片はルーメン内容物の階層化を促進する可能性が示唆された。

二つの試験から、peNDF含量とルーメンマットの堅さや厚さといった物理性との間には必ずしも直線的な関係がないことが示唆された。

- 4) 食品製造副産物由来の非粗飼料繊維源の給与とルーメンマット形成の関係を検討するために、3つの試験を実施した。

試験3ではアン粕(小豆皮, RBH)を用いた。RBH給与によってpeNDFIは減少したが、ルーメンマットの堅さは上昇し、反芻期持続時間は長くなる傾向を示した。ルーメン発酵、咀嚼活動および乳生産は影響を受けなかった。このことから、粒子の細かいRBH繊維はルーメンマットの空隙に詰め込まれ、そのことがマットの堅さを増す方向に作用したと推測された。

試験4では、酒粕(SC)を多給し、濃厚飼料と粗飼料の給与順序およびSCとイネ科乾草(GH)の給与比率が、ルーメンマットの性状およびマット内への圧べントウモロコシ(SFC)の取り込み効果に及ぼす影響について検討した。

ルーメンマットの堅さや厚さといった物理的構造はSC給与量が増えても維持された。全ての処理においてSFC飼料片は給与1時間後にはルーメン腹囊に多量に沈んでいることが確認された。このことから、従来認識されてきたルーメンマットへの穀物飼料片取り込み効果は過大に評価されてきた可能性があることが示唆された。

試験5では、アルファルファ乾草(AH)とビートパルプ(BP)の給与比を8:2あるいは2:8としたA8B2, A2B8, イネ科乾草(GH)とBPを同様の比率で給与したG8B2, G2B8の4処理を設けた。ルーメンマットの堅さはG8B2が最も強く、A2B8が最も軟らかかった。反芻時間はAHよりもGHが長く($P<0.01$), B2よりもB

8が短かった($P<0.05$)。ルーメンpHはA2B8のみが6.0を下回った。

このことから、非粗飼料繊維源とアルファルファを組み合わせると強く、厚みのあるルーメンマットを形成することができず、ルーメン発酵にも悪影響が及ぶことが示された。非粗飼料繊維源との組合せで堅固なマットを形成するためにはイネ科牧草が適していると考えられた。

3試験をまとめると、非粗飼料繊維源由来の細かい繊維はルーメンマットの構造体に取り込まれて、マットの物理性を増強する作用があると考えられた。一方、穀物飼料片はマット内に取り込まれずに底に沈んでしまったことから、小飼料片がマットへ取り込まれるか否かには比重が関係していると推察された。

- 5) ルーメンマットの堅さと厚さの積(RMSI)と反芻時間の間には正の直線関係があり、RMSIが707.8 N/cm²・cmに達すると反芻時間は522.0分/日でプラトーに達することが示された。このことから、RMSIを応用することで乳牛の適正な繊維要求量を算定できる可能性が示唆された。

一方、RMSIとpeNDF含量との間には明確な関連性は認められなかった。

- 6) 以上の結果から、ルーメン内貫入抵抗測定法によってルーメンマットの堅さと深さを測定でき、ルーメン内容物の物理的性状を評価する新たな概念としてルーメンマット階層化指数(RMSI)は利用できると考えられた。RMSIは反芻活動と正の直線関係が認められたが、peNDF含量との関連は明確ではなかった。つまり、peNDF単独でルーメンマットの形成状況を予測するには限界があり、peNDFが十分に含まれない飼料であってもルーメン内の階層構造が構築され、強く厚みのあるルーメンマットが形成され得ると結論された。

謝 辞

本研究をとりまとめるにあたり、元北海道大学教授近藤誠司博士には終始懇切なる御指導を賜り、かつ御校閲の労をおとり頂いた。北海道大学教授上田宏一郎博士には研究構想段階からとりまとめに至るまで詳細な御議論を共にして頂くとともに、実験の手法や分析に関するご指導を頂き、終始懇切なる御助言、御鞭撻を賜った。酪農学園大学名誉教授岡本全弘博士(元同大学附属農場長)には、研究遂行上の御便宜を頂くとともに、反芻計測装置の提供、文献収集に多大な援助をいただき、さらに本稿の御校閲および御助言を頂いた。北海道大学教授小林泰男

博士ならびに同助教三谷朋弘博士には、御校閲の労をおとり下さり、有益なご助言を賜った。ここに深甚なる感謝の意を表する。

本研究は2005年から酪農学園大学附属農場において実施したものであり、この間、農場長として在任された菊池直哉博士、松中照夫博士、堂地 修博士ならびに農場次長として在任された森田 茂博士、中田 健博士、小岩政照博士には研究遂行にあたっての御理解と御協力を頂いた。酪農学園大学教授野 英二博士には、研究遂行上のご便宜を頂くとともに分析のご指導を頂いた。元酪農学園大学短期大学部教授名久井 忠博士ならびに元酪農学園大学教授新名正勝氏には有益な御助言、激励を賜った。試験牛の管理、飼料の調製にあたっては元酪農学園大学附属農場技師松原久夫氏、長瀬 隆氏、尾形 仁氏、奥平武市氏、現フィールド教育研究センター技師尾崎邦嗣氏、上野秀樹氏、川岸孝博氏、歴代臨時技師諸氏、附属農場事務職員諸氏から絶大なる御支援を頂いた。さらにルミノロジー研究室に在籍した大学院生海野ちぐさ氏、石塚研太氏ならびに歴代学生諸氏には本研究の共同研究者として昼夜を問わず試験遂行にあたっての多大なるご協力を頂いた。

貫入抵抗測定装置の開発にはエス・シー・ビー辻秀雄氏に御協力を頂いた。

ここに、以上の各位に心からの感謝の意を表する。

最後に、私の仕事を理解し、困難に直面したときも終始支えてくれた妻に感謝の気持ちを捧げる。

参考文献

- 阿部 亮. 2000. 食品製造副産物利用と TMR センター. 酪農総合研究所. 札幌.
- Adin G, Solomon R, Nikbachat M, Zenou A, Yosef E, Brosh A, Shabtay A, Mabeesh SJ, Halachmi I, Miron J. 2009. Effect of feeding cows in early lactation with diets differing in roughage-neutral detergent fiber content on intake behavior, rumination, and milk production. *Journal of Dairy Science* **92**, 3364-3373.
- Allen DM, Grant RJ. 2000. Interactions between forage and wet corn gluten feed as sources of fiber in diets for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **83**, 322-331.
- Allen MS. 1996. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. *Journal of Animal Science* **74**, 3063-3075.
- Allen MS. 1997. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *Journal of Dairy Science* **80**, 1447-1462.
- Armentano LE, Pereira M. 1997. Measuring the effectiveness of fiber by animal response trials. *Journal of Dairy Science* **80**, 1416-1425.
- 有安則夫, 山田徹夫, 長尾伸一郎. 2012. 液化仕込み酒粕の飼料化技術の検討. 岡山農業総合センター畜産研究所研究報告 **2**, 23-25.
- 芦田優子, 斉藤義幸, 川戸章嗣, 杉並孝二, 今安 聰. 1997. 酒粕がラットのコレステロール代謝に及ぼす影響. 日本農芸化学会誌 **71**, 137-143.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1999. Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C.
- Bailey CB, Balch CC. 1961. Saliva secretion and its relation to feeding in cattle 1. The composition and rate of secretion of parotid saliva in a small steer. *British Journal of Nutrition* **15**, 371-382.
- Balch CC. 1958. Observations on the act of eating in cattle. *British Journal of Nutrition* **12**, 330-345.
- Balch CC, Campling RC. 1962. Regulation of voluntary food intake in ruminants. *Nutrition Abstracts and Reviews* **32**, 669-686.
- Baumont R, Malbert CH, Ruckebusch Y. 1990. Mechanical stimulation of rumen fill and alimentary behaviour in sheep. *Animal Production* **50**, 123-128.
- Beauchemin KA, Farr BI, Rode LM, Schaalje GB. 1994. Effects of alfalfa silage chop length and supplementary long hay on chewing and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science* **77**, 1326-1339.
- Beauchemin KA, Yang WZ, Rode LM. 2003. Effects of particle size of alfalfa-based dairy cow diets on chewing activity, ruminal fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science* **86**, 630-643.
- Beauchemin KA, Yang WZ. 2005. Effects of physically effective fiber on intake, chewing activity, and ruminal acidosis for dairy cows fed diets based on corn silage. *Journal of Dairy Science* **88**, 2117-2129.

- Beauchemin KA, Eriksen L. 2008. Short communication: Salivary secretion during meals in lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **91**, 2077-2081.
- Bell FR. 1958. The mechanism of regurgitation during the process of rumination in the goat. *The Journal of Physiology* **142**, 503-515.
- Bernard L, Chaise JP, Baumont R, Poncet C. 2000. The effect of physical form of orchardgrass hay on the passage of particulate matter through the rumen of sheep. *Journal of Animal Science* **78**, 1338-1354.
- Bhandari SK, Ominski KH, Wittenberg KM, Plaizier JC. 2007. Effects of chop length of alfalfa and corn silage on milk production and rumen fermentation of dairy cows. *Journal of Dairy Science* **90**, 2355-2366.
- Bhatti SA, Firkins JL. 1995. Kinetics of hydration and functional specific gravity of fibrous feed by-products. *Journal of Animal Science* **73**, 1449-1458.
- Bowman JG, Firkins JL. 1993. Effects of forage species and particle size on bacterial cellulolytic activity and colonization in situ. *Journal of Animal Science* **71**, 1623-1633.
- Buckmaster DR, Heinrichs AJ, Ward RA, Lammers BP. 1997. Characterizing effective fiber with particle size and fiber concentration interactions. In: *Grassland congress*. pp. 8-19.
- Callison SL, Firkins JL, Eastridge ML, Hull BL. 2001. Site of nutrient digestion by dairy cows fed corn of different particle sizes or steam-rolled. *Journal of Dairy Science* **84**, 1458-1467.
- Clark PW, Armentano LE. 1997. Replacement of alfalfa neutral detergent fiber with a combination of nonforage fiber sources. *Journal of Dairy Science* **80**, 675-680.
- Colvin HW, Digesti RD, Louvier JA. 1978. Effect of succulent and nonsucculent diets on rumen motility and pressure before, during, and after eating. *Journal of Dairy Science* **61**, 1414-1421.
- Dado RG, Allen MS. 1995. Intake limitations, feeding behavior, and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber or inert bulk. *Journal of Dairy Science* **78**, 118-133.
- Deswysen AG, Ehrlein HJ. 1981. Silage intake, rumination and pseudo-rumination activity in sheep studied by radiography and jaw movement recordings. *British Journal of Nutrition* **46**, 327-335.
- DeVries TJ, Beauchemin KA, von Keyserlingk MAG. 2007. Dietary forage concentration affects the feed sorting behavior of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **90**, 5572-5579.
- DeVries TJ, Gill RM. 2012. Adding liquid feed to a total mixed ration reduces feed sorting behavior and improves productivity of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **95**, 2648-2655.
- 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構編. 2007. 日本飼養標準・乳牛(2006年版). 中央畜産会. 東京.
- 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構編. 2010. 日本標準飼料成分表(2009年版). 中央畜産会. 東京.
- Dunnett CW. 1955. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *Journal of the American Statistical Association* **50**, 1096-1121.
- Eastridge ML, Bucci PB, Ribeiro C. 2009. Feeding equivalent concentrations of forage neutral detergent fiber from alfalfa hay, grass hay, wheat straw, and whole cottonseed in corn silage based diets to lactating cows. *Animal Feed Science and Technology* **150**, 86-94.
- Erwin ES, Marco GJ, Emery EM. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science* **44**, 1768-1771.
- Evans EW, Pearce GR, Burnett J, Pillinger SL. 1973. Changes in some physical characteristics of the digesta in the reticulo-rumen of cows fed once daily. *British Journal of Nutrition* **29**, 357-376.
- Ewing DL, Johnson DE, Rumpler WV. 1986. Corn particle passage and size reduction in the rumen of beef steers. *Journal of Animal Science* **63**, 1509-1515.
- Faichney GJ. 1980. Measurement in sheep of the quantity and composition of rumen digesta and of the fractional outflow rates of digesta

- constituents. *Australian Journal of Agricultural Research* **31**, 1129-1137.
- Forbes JM. 1988. Metabolic aspects of the regulation of voluntary food intake and appetite. *Nutrition Research Reviews* **1**, 145-168.
- Forbes JM. 1995. Integrative theories of food intake control. In: Forbes JM (ed), *Voluntary food intake and diet selection in farm animals*. pp. 130-151. CAB International, Wallingford, UK.
- Fuma R, Oyaizu S, Nukui Y, Ngwe T, Shinkai T, Koike S, Kobayashi Y. 2012. Use of bean husk as an easily digestible fiber source for activating the fibrolytic rumen bacterium *Fibrobacter succinogenes* and rice straw digestion. *Animal Science Journal* **83**, 696-703.
- Gill M, Rook AJ, Thiago LRS. 1988. Factors affecting the voluntary intake of roughages by the dairy cow. In: Garnsworthy PC (ed), *Nutrition and lactation in the dairy cow*. pp. 262-279. Proceedings of the 46th University of Nottingham Easter School in Agricultural Science, London (UK): Butterworths.
- Gill M, Romney D. 1994. The relationship between the control of meal size and the control of daily intake in ruminants. *Livestock Production Science* **39**, 13-18.
- Grant RJ. 1997. Interactions among forages and nonforage fiber sources. *Journal of Dairy Science* **80**, 1438-1446.
- Grant RJ, Cotanch KW, Chazy NY. 2005. Physically effective fiber for dairy cows: Current perspectives. In: *Proc. Cornell Nutr. Conf. for Feed Manufacturers. October*. pp. 18-20.
- Grant RJ, Cotanch KW. 2012. Higher forage diets: Dynamics of passage, digestion, and cow productive responses. In: *Proceedings 2012 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. pp. 45-57, East Syracuse, New York.
- Grenet E. 1989. 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.
- Grieve DG, Korver S, Rijpkema YS, Hof G. 1986. Relationship between milk composition and some nutritional parameters in early lactation. *Livestock Production Science* **14**, 239-254.
- 群馬県農政部. 2004. 土壌の物理性の測定. H16 作物別施肥基準及び土壌診断基準. 前橋.
- Heinrichs AJ. 1999. Processing, mixing, and particle size reduction of forages for dairy cattle. *Journal of Animal Science* **77**, 180-186.
- 左 久. 1979. 反芻動物の採食行動と第一胃内容物の動態. 日本畜産学会報, **50**, 835-844.
- Hidari H. 1979. Estimation of the rumen load of sheep through measuring the consistency of rumen contents. *Japanese Journal of Zootechnical Science* **50**, 402-410.
- Hidari H. 1981. The relationships between rumen load and diurnal eating pattern of sheep fed in various time of access to feed. *Japanese Journal of Zootechnical Science* **52**, 219-226.
- Hoover WH. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal of Dairy Science* **69**, 2755-2766.
- Hsu JT, Faulkner DB, Garleb KA, Barclay RA, Fahey GC, Berger LL. 1987. Evaluation of corn fiber, cottonseed hulls, oat hulls and soybean hulls as roughage sources for ruminants. *Journal of Animal Science* **65**, 244-255.
- Iggo A, Leek BF. 1970. Sensory receptors in the ruminant stomach and their reflex effects. In: Phillipson AT (ed), *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. Proceedings of the third international symposium*. pp. 23-34. Newcastle-upon-Tyne: Oriel Press, Cambridge.
- 一戸俊義. 2004. 13.5.4. 飼料消化率の測定. 草地科学実験・調査法. 日本草地学会編. pp 288-292. 全国農村教育協会. 東京.
- 一戸俊義, 関根純二郎. 2004. 第3章ルーメン内における栄養素の代謝と栄養生理. 1. ルーメン内固相の消化機構. 新ルーメンの世界 微生物生態と代謝制御. 小野寺良二監修・板橋久雄編. pp 194-215. 農文協. 東京.
- 泉 賢一, 鈴木知之, 上田靖子, 上田宏一郎, 大久保正彦. 2007. 乾草自由採食下のメンヨウにおける反芻胃内粒度別飼料片の経時変化と採食および反芻活動の関連. 日本畜産学会報 **78**, 427-433.
- Jarrige R, Demarquilly C, Dulphy JP, Hoden A,

- Robelin J, Geay Y, Journet M, Malterre C, Micol D, Petit M, Jarrige R, Demarquilly C, Dulphy JP. 1986. The INRA "Fill Unit" system for predicting the voluntary intake of forage-based diets in ruminants: A review. *Journal of Animal Science* **63**, 1737-1758.
- Kaske M, Hatiboglu S, Engelhardt WV. 1992. The influence of density and size of particles on rumination and passage from the reticulo-rumen of sheep. *British Journal of Nutrition* **67**, 235-244.
- 粕谷英一, 藤田和幸. 1991. 行動連鎖の解析法 (その3). 動物行動学のための統計学, 初版第2刷. 伊藤嘉昭監修. pp 74-83. 東海大学出版社. 東京.
- Kennedy PM, Murphy MR. 1988. The nutritional implications of differential passage of particles through the ruminant alimentary tract. *Nutrition Research Reviews* **1**, 189-208.
- 古賀 潔. 2004. 17.1.4. 土の力学性. 草地科学実験・調査法. 日本草地学会編. pp 373-375. 全国農村教育協会. 東京.
- Kononoff PJ, Heinrichs AJ. 2003a. The effect of reducing alfalfa haylage particle size on cows in early lactation. *Journal of Dairy Science* **86**, 1445-1457.
- Kononoff PJ, Heinrichs AJ, Buckmaster DR. 2003a. Modification of the Penn State forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content on its measurements. *Journal of Dairy Science* **86**, 1858-1863.
- Kononoff PJ, Heinrichs AJ. 2003b. The effect of corn silage particle size and cottonseed hulls on cows in early lactation. *Journal of Dairy Science* **86**, 2438-2451.
- Kononoff PJ, Heinrichs AJ, Lehman HA. 2003b. The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **86**, 3343-3353.
- Krause KM, Combs DK, Beauchemin KA. 2002a. Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. I. Milk production and diet digestibility. *Journal of Dairy Science* **85**, 1936-1946.
- Krause KM, Combs DK, Beauchemin KA. 2002b. Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. II. Ruminant pH and chewing activity. *Journal of Dairy Science* **85**, 1947-1957.
- Krause KM, Combs DK. 2003. Effects of forage particle size, forage source, and grain fermentability on performance and ruminal pH in midlactation cows. *Journal of Dairy Science* **86**, 1382-1397.
- Krause KM, Oetzel GR. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal Feed Science and Technology* **126**, 215-236.
- Lammers BP, Buckmaster DR, Heinrichs AJ. 1996. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. *Journal of Dairy Science* **79**, 922-928.
- Lee JA, Pearce GR. 1984. The effectiveness of chewing during eating on particle size reduction of roughages by cattle. *Australian Journal of Agricultural Research* **35**, 609-618.
- Leonardi C, Armentano LE. 2003. Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. *Journal of Dairy Science* **86**, 557-564.
- Leonardi C, Giannico F, Armentano LE. 2005. Effect of water addition on selective consumption (sorting) of dry diets by dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **88**, 1043-1049.
- Mader TL, Teeter RG, Horn GW. 1984. Comparison of forage labeling techniques for conducting passage rate studies. *Journal of Animal Science* **58**, 208-212.
- Majak W, Hall JW, McCaughey WP. 1995. Pasture management strategies for reducing the risk of legume bloat in cattle. *Journal of Animal Science* **73**, 1493-1498.
- Marchesini G, Segato S, Berzaghi P, Andrighetto I. 2011. Effect of non-forage roughage replacement on feeding behaviour and milk production in dairy cows. *Italian Journal of Animal Science* **10**, 171-175.
- Martin C, Devillard E, Michalet-Doreau B. 1999. Influence of sampling site on concentrations and carbohydrate-degrading enzyme activities of protozoa and bacteria in the rumen. *Journal of Animal Science* **77**, 979-987.
- Mbanya JN, Anil MH, Forbes JM. 2007. The

- voluntary intake of hay and silage by lactating cows in response to ruminal infusion of acetate or propionate, or both, with or without distension of the rumen by a balloon. *British Journal of Nutrition* **69**, 713-720.
- McLeod MN, Minson DJ. 1988. Large particle breakdown by cattle eating ryegrass and alfalfa. *Journal of Animal Science* **66**, 992-999.
- McLeod MN, Kennedy PM, Minson DJ. 1990. Resistance of leaf and stem fractions of tropical forage to chewing and passage in cattle. *British Journal of Nutrition* **63**, 105-119.
- Mertens DR. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *Journal of Dairy Science* **80**, 1463-1481.
- Mertens DR. 2000. Physical effective NDF and its use in formulating dairy rations. In: *The 11th Florida Ruminant Nutrition Symposium*. pp. 142-160, Gainesville.
- Metz JHM. 1975. Time patterns of feeding and rumination in domestic cattle. Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen, Wageningen.
- Miller-Cushon EK, DeVries TJ. 2009. Effect of dietary dry matter concentration on the sorting behavior of lactating dairy cows fed a total mixed ration. *Journal of Dairy Science* **92**, 3292-3298.
- Miron J, Yosef E, Maltz E, Halachmi I. 2003. Soybean hulls as a replacement of forage neutral detergent fiber in total mixed rations of lactating cows. *Animal Feed Science and Technology* **106**, 20-28.
- Miron J, Adin G, Solomon R, Nikbachat M, Zenou A, Yosef E, Brosh A, Shabtay A, Asher A, Gacitua H, Kaim M, Yaacobi S, Portnik Y, Mabweesh SJ. 2010. Effects of feeding cows in early lactation with soy hulls as partial forage replacement on heat production, retained energy and performance. *Animal Feed Science and Technology* **155**, 9-17.
- Mooney CS, Allen MS. 1997. Physical effectiveness of the neutral detergent fiber of whole linted cottonseed relative to that of alfalfa silage at two lengths of cut. *Journal of Dairy Science* **80**, 2052-2061.
- Moorby JM, Dewhurst RJ, Evans RT, Danelón JL. 2006. Effects of dairy cow diet forage proportion on duodenal nutrient supply and urinary purine derivative excretion. *Journal of Dairy Science* **89**, 3552-3562.
- 名久井 忠. 2008. 副産物給与による乳牛の飼養効果. 飼料自給・最前線. 名久井 忠監修. pp 204-211. 酪農学園大学エクステンションセンター. 江別.
- National Research Council (NRC). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition. National Academy of Sciences, Washington DC.
- 西野松之, 種村高一, 丹羽美次, 佐伯真魚, 阿部 亮. 2008. 都府県酪農の経営と技術を考える(2)輸入イネ科乾草の質をみる. 畜産の研究 **62**, 665-669.
- Nocek JE. 1992. Feeding sequence and strategy effects on ruminal environment and production performance in first lactation cows. *Journal of Dairy Science* **75**, 3100-3108.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局編. 2000. 日本飼養標準・乳牛(1999年度版). 中央畜産会. 東京.
- 農林水産省生産局畜産部畜産振興課および消費・安全局畜水産安全管理課. 2013. 飼料をめぐる情勢 平成25年6月版.
- 乳用牛群検定全国協議会. 2013. 乳用牛群能力検定成績速報 一平成24年度一 平成25年度6月版.
- Ogimoto K, Imai S. 1981. Atlas of rumen microbiology. Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- Okamoto M. 1976. Diurnal variation in rumen pH and diurnal distribution of rumination, and the relationship between them. *Japanese Journal of Zootechnical Science* **47**, 672-678.
- 岡本全弘. 1979. 反芻行動とその消化生理学的意義に関する研究. 北海道大学博士論文.
- 岡本全弘. 1991. 反芻家畜における粗飼料の物理的消化に関する研究. 日本畜産学会報 **62**, 717-725.
- Okamoto M, Miyazaki H, Oura R, Sekine J. 1990. Relationship between particle pool size in the reticulo-rumen and chewing time in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **3**, 225-229.

- Okamoto M. 2000. Comparison of rumination activities of dairy herds fed relatively high and low concentrate diet. *Animal Science Journal* **71**, 50-56.
- 大塚雍雄, 吉原雅彦. 1975. 1ないし2の折曲点をもつ折れ線モデルのあてはめ. *応用統計学* **5**: 29-39.
- 朴 修範, 越水宏彰, 岡本全弘. 2005. フリーストールによる乳牛の反芻行動. *日本家畜管理学会誌* **41**, 46-47.
- Park S, Okamoto M. 2008. Particle size distribution of total mixed ration as an indicator of selective intake and control of selective intake in a dairy herd. *Animal Behaviour and Management* **44**, 166-170.
- Plaizier JC, Garner T, Droppo T, Whiting T. 2004. Nutritional practices on Manitoba dairy farms. *Canadian Journal of Animal Science* **84**, 501-509.
- Pond KR, Ellis WC, Matis JH, Ferreiro HM, Sutton JD. 1988. Compartment models for estimating attributes of digesta flow in cattle. *British Journal of Nutrition* **60**, 571-595.
- Poore MH, Johns JT, Burris WR. 2002. Soybean hulls, wheat middlings, and corn gluten feed as supplements for cattle on forage-based diets. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* **18**, 213-231.
- Poppi DP, Norton BW, Minson DJ, Hendricksen RE. 1980. The validity of the critical size theory for particles leaving the rumen. *The Journal of Agricultural Science* **94**, 275-280.
- Poppi DP, Ellis WC, Matis JH, Lascano CE. 2001. Marker concentration patterns of labelled leaf and stem particles in the rumen of cattle grazing bermuda grass (*Cynodon dactylon*) analysed by reference to a raft model. *British Journal of Nutrition* **85**, 553-563.
- Rémond D, Cabrera-Estrada JI, Champion M, Chauveau B, Coudure R, Poncet C. 2004. Effect of corn particle size on site and extent of starch digestion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **87**, 1389-1399.
- Robinson PH, Tamminga S, van Vuuren AM. 1987. Influence of declining level of feed intake and varying the proportion of starch in the concentrate on rumen ingesta quantity, composition and kinetics of ingesta turnover in dairy cows. *Livestock Production Science* **17**, 37-62.
- Robinson PH. 1989. Dynamic aspects of feeding management for dairy cows. *Journal of Dairy Science* **72**, 1197-1209.
- Siciliano-Jones J, Murphy MR. 1991. Specific gravity of various feedstuffs as affected by particle size and in vitro fermentation. *Journal of Dairy Science* **74**, 896-901.
- Statistical Analysis System (SAS). 2007. JMP Statistics and Graphics Guide, Release 7. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sudweeks EM, Ely LO, Mertens DR, Sisk LR. 1981. Assessing minimum amounts and form of roughages in ruminant diets: Roughage value index system. *Journal of Animal Science* **53**, 1406-1411.
- 鈴木知之. 2001. 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. 北海道大学博士論文.
- Swain SM, Armentano LE. 1994. Quantitative evaluation of fiber from nonforage sources used to replace alfalfa silage. *Journal of Dairy Science* **77**, 2318-2331.
- Tafaj M, Maulbetsch A, Junck B, Steingass H, Drochner W. 2001. Research note: A method for studying local differences in ruminal fermentation in dairy cattle. *Archives of Animal Nutrition* **54**, 341-347.
- Tafaj M, Junck B, Maulbetsch A, Steingass H, Piepho HP, Drochner W. 2004. Digesta characteristics of dorsal, middle and ventral rumen of cows fed with different hay qualities and concentrate levels. *Archives of Animal Nutrition* **58**, 325-342.
- Tafaj M, Maulbetsch A, Zebeli Q, Steingass H, Drochner W. 2005. Effects of physically effective fibre concentration of diets consisting of hay and slowly degradable concentrate on chewing activity in mid lactation dairy cows under constant intake level. *Archives of Animal Nutrition* **59**, 313-324.
- Tafaj M, Zebeli Q, Baes C, Steingass H, Drochner W. 2007. A meta-analysis examining effects of particle size of total mixed rations on intake, rumen digestion and milk production

- in high-yielding dairy cows in early lactation. *Animal Feed Science and Technology* **138**, 137-161.
- 種村高一, 丹羽美次, 阿部 亮. 2008b. 都府県酪農の経営と技術を考える(3)搾乳牛の栄養・飼養管理の課題. *畜産の研究* **62**, 761-765.
- Teimouri Yansari A, Valizadeh R, Naserian A, Christensen DA, Yu P, Eftekhari Shahroodi F. 2004. Effects of alfalfa particle size and specific gravity on chewing activity, digestibility, and performance of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* **87**, 3912-3924.
- Tsutsui N, Yamamoto Y, Iwami K. 1998. Protein-nutritive assessment of sake lees obtained by brewing from liquefied rice. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* **44**, 177-186.
- 上田宏一郎. 1996. 乾草の自由摂取量と反芻胃内飼料粒の粒度別動態との関連. 北海道大学博士論文.
- Ueda K, Ichinohe T, Tamura T, Okubo M, Asahida Y. 2001. Influence of fiber fermentation, size reduction and passage of ruminal particles on fiber digestibility in sheep fed hays. *Animal Science Journal* **72**, 198-208.
- Vaage AS, Milligan LP. 1993. An electronic device to measure the size and degree of packing of the rumen mat in cattle. *Canadian Journal of Animal Science* **73**, 655-660.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* **74**, 3583-3597.
- Van Soest PJ. 1994. Function of the ruminant forestomach. In: Van Soest PJ (ed), *Nutritional ecology of the ruminant*. 2nd ed. pp. 230-252. Cornell University press, New York.
- Varga GA, Hoover WH. 1983. Rate and extent of neutral detergent fiber degradation of feed-stuffs in situ. *Journal of Dairy Science* **66**, 2109-2115.
- Voelker JA, Allen MS. 2003a. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 1. Effects on feed intake, chewing behavior, and milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **86**, 3542-3552.
- Voelker JA, Allen MS. 2003b. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 2. Effects on digestion and ruminal digestion kinetics in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **86**, 3553-3561.
- Voelker JA, Allen MS. 2003c. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 3. Effects on ruminal fermentation, pH, and microbial protein efficiency in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **86**, 3562-3570.
- Weidner SJ, Grant RJ. 1994. Altered ruminal mat consistency by high percentages of soybean hulls fed to lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **77**, 522-532.
- Welch JG, Smith AM. 1969. Influence of forage quality on rumination time in sheep. *Journal of Animal Science* **28**, 813-818.
- Welch JG. 1982. Rumination, particle size and passage from the rumen. *Journal of Animal Science* **54**, 885-894.
- Wilson JR, Kennedy PM. 1996. Plant and animal constraints to voluntary feed intake associated with fibre characteristics and particle breakdown and passage in ruminants. *Australian Journal of Agricultural Research* **47**, 199-225.
- Wyburn RS. 1980. The mixing and propulsion of the stomach contents of ruminants. In: Ruckebusch Y, Thivend P (eds), *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. pp. 35-51. Springer Netherlands, Dordrecht.
- 山田徹夫, 有安則夫, 広金弘史. 2012. 各種副産物が粗飼料の in vitro 分解率に及ぼす影響. 岡山農業総合センター畜産研究所研究報告 **2**, 13-16.
- 山崎 敦. 1998. 消化管の運動. 反芻動物の栄養生理学. 佐々木康之監修, 小原嘉昭編. pp 68-82. 農文協. 東京.
- Yang WZ, Beauchemin KA. 2005. Effects of physically effective fiber on digestion and milk production by dairy cows fed diets based on corn silage. *Journal of Dairy Science* **88**, 1090-1098.
- Yang WZ, Beauchemin KA. 2006. Effects of physically effective fiber on chewing activity and ruminal pH of dairy cows fed diets based on barley silage. *Journal of Dairy Science* **89**, 217-228.

- Yang WZ, Beauchemin KA. 2007a. Altering physically effective fiber intake through forage proportion and particle length: Chewing and ruminal pH. *Journal of Dairy Science* **90**, 2826-2838.
- Yang WZ, Beauchemin KA. 2007b. Altering physically effective fiber intake through forage proportion and particle length: Digestion and milk production. *Journal of Dairy Science* **90**, 3410-3421.
- Yang WZ, Beauchemin KA. 2009. Increasing physically effective fiber content of dairy cow diets through forage proportion versus forage chop length: Chewing and ruminal pH. *Journal of Dairy Science* **92**, 1603-1615.
- 吉田昭治. 1989. 土の変形, 強さ, 硬さ. 土壌の物理性 **52**, 2-6.
- Zaaije D, Noordhuize JPTM. 2003. A novel scoring system for monitoring the relationship between nutritional efficiency and fertility in dairy cows. *Irish Veterinary Journal* **56**, 145-151.
- Zebeli Q, Tafaj M, Steingass H, Metzler B, Drochner W. 2006. Effects of physically effective fiber on digestive processes and milk fat content in early lactating dairy cows fed total mixed rations. *Journal of Dairy Science* **89**, 651-668.
- Zebeli Q, Tafaj M, Weber I, Dijkstra J, Steingass H, Drochner W. 2007. Effects of varying dietary forage particle size in two concentrate levels on chewing activity, ruminal mat characteristics, and passage in dairy cows. *Journal of Dairy Science* **90**, 1929-1942.
- Zebeli Q, Mansmann D, Steingass H, Ametaj BN. 2010a. Balancing diets for physically effective fibre and ruminally degradable starch: A key to lower the risk of sub-acute rumen acidosis and improve productivity of dairy cattle. *Livestock Science* **127**, 1-10.
- Zebeli Q, Mansmann D, Ametaj BN, Steingass H, Drochner W. 2010b. A model to optimise the requirements of lactating dairy cows for physically effective neutral detergent fibre. *Archives of Animal Nutrition* **64**, 265-278.
- Zebeli Q, Aschenbach JR, Tafaj M, Boguhn J, Ametaj BN, Drochner W. 2012. Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **95**, 1041-1056.
- Zhu JS, Stokes SR, Murphy MR. 1997. Substitution of neutral detergent fiber from forage with neutral detergent fiber from by-products in the diets of lactating cows. *Journal of Dairy Science* **80**, 2901-2906.

Summary

These studies were conducted to quantitatively determine the characteristics of the ruminal mat, and to elucidate the influence of diet type on formation of the ruminal mat. The aims of this study were as follows:

1. To develop a technique for measuring the constitution of the ruminal mat
2. To investigate the relationship between the content of physically effective neutral detergent fiber (peNDF) and the formation of the ruminal mat
3. To evaluate the relationship between forage and non-forage fiber sources on the formation of the ruminal mat

The results obtained in these studies could be summarized as follows:

- 1) A device was developed to measure the cone penetration resistance value (q_c value, N/cm²) and the depth of rumen digesta. Applying a method used for measuring soil compaction, a penetration resistance test of the ruminal digesta was performed using a rod inserted into the rumen, a load cell, and a displacement transducer. The q_c value and the depth of the rumen digesta were plotted on a scatter chart, and two regression lines were fitted on the chart (Otsuka and Yoshihara, 1975). Where the two regression lines intersect on the chart, the ruminal mat was defined as the part above the intersection point and the non-mat material was defined as the part below the intersection point.
- 2) The rumen penetration resistance tests showed a decrease in the consistency of rumen digesta going from

the dorsal to ventral rumen. The decline in the consistency of rumen digesta changed on reaching some depth. In this study, the inflection point depth was defined as the boundary between ruminal mat and non-mat material, therefore demonstrating the stratified structure of rumen digesta. The results of this analytical approach showed that the thickness of ruminal mat corresponded to 60% of the depth of the total digesta, and the consistency of the mat was equivalent to 1.5 times the consistency of the non-mat material.

- 3) Two experiments were conducted to evaluate the influence of the content of peNDF in the diet on ruminal mat formation. The effect of the difference between the control total mixed ration (TMR) and twice-chopped TMR in Exp. 1 and the varying forage: concentrate ratio (F: C ratio) in diet in Exp. 2 on the ruminal mat function was examined. The results showed that even if peNDF contents decreased (due to decreasing particle length or decreasing F: C ratio in the diet), the physical characteristics such as consistency and thickness of the ruminal mat did not decrease. Because the physical condition of the ruminal mat did not change over the two experiments, ruminal fermentation, chewing activity, and milk production did not change either. Based on the fact that the thickness of ruminal mat for the twice-chopped TMR increased, it was presumed that short particles in the diet made the mat thick. The results of these two experiments indicated that there was no constant relationship between the peNDF contents of a diet and the physical characteristics of the ruminal mat.
- 4) In order to investigate the relationship between non-forage fiber sources (NFFS) from byproduct feeds and the formation of a ruminal mat, 3 experiments were conducted (Exp. 3-5). The experimental NFFS were red bean hull (RBH) in Exp. 3, sake cake (SC) in Exp. 4 and beet pulp (BP) in Exp. 5. In Exp. 3, a ruminal mat was formed in the RBH treatment despite a lower peNDF intake. Therefore, the rumination period tended to be longer with the RBH diet than with the control diet. Ruminal fermentation parameters were not affected by treatment. Dry matter intake, chewing activity, and milk production were not affected by diet. Based on these results, it appears likely that the fine fiber particles of RBH became tightly packed in the crevices between the large fibers of the forage in the rumen, resulting in hardening of the ruminal mat.

In Exp. 4, the effects of the feeding sequence of concentrate and forage, the feeding ratio of sake cake (SC) to grass hay (GH) on ruminal mat characteristics, and the entrapment effect for steamed flaked corn (SFC) by the mat were evaluated. The hard packed ruminal mat was formed even when the diet including 65% SC was consumed. An entrapment effect of a small particle into the ruminal mat was not affected by the feeding sequence or the ratio. The entrapment effect may not be as absolute as considered previously because of the large amount of SFC particles that precipitated at the bottom of the ventral rumen 1 h after feeding in all treatments.

In Exp. 5, the influence of the feeding ratio of NFFS and hay on ruminal mat characteristics and chewing activity was evaluated in dry dairy cows. Cows were fed four different diets: the ratios of alfalfa hay (AH) to beet pulp (BP) were 8:2 (dry matter basis, A8B2) and 2:8 (A2B8), and those of grass hay (GH) to BP were 8:2 (G8B2) and 2:8 (G2B8). The consistency of the ruminal mat was highest with the G8B2 diet and lowest for the A2B8 diet. Total rumination time for AH was shorter than that for GH ($P < 0.01$), and it decreased with increasing BP content ($P < 0.01$). Decreasing rumen pH below 6.0 was observed only in the rumen with A2B8. It was indicated that hard and thick ruminal mat had not formed, and consequently, ruminal fermentation became disordered when AH was combined with a large amount of BP. Accordingly, from the standpoint of maintaining long-term rumen health, GH would be more desirable forage, combined with a high ratio of BP than with AH.

The results of these 3 experiments suggest that the consistency of the ruminal mat increased owing to the small fiber particles of NFFS entrapped into the structure of the mat. In contrast to NFFS, grain particles sank rapidly to the bottom of the rumen. Thus, it was assumed that the specific gravity of the particles was largely dependent on whether or not the small particles became embedded into the ruminal

mat.

- 5) The product of consistency and thickness of the ruminal mat in cows was defined as the ruminal mat stratification index (RMSI). A broken line correlation at the intersection point was noted between the RMSI ($\text{N}/\text{cm}^2 \cdot \text{cm}$) and rumination time. Increasing the RMSI up to $707.8 \text{ N}/\text{cm}^2 \cdot \text{cm}$ significantly increased the rumination time ($r=0.920$; $P<0.001$; $n=10$). The correlation reached the asymptotic plateau over the intersection point at the $522 \text{ min}/\text{d}$ of rumination time. In contrast, there was no significant relationship between RMSI and peNDF contents in experimental diets. Our results suggest that the fiber requirement necessary to maintain rumen health in dairy cows could be determined by applying RMSI to feed management.
- 6) The results of this study clearly indicate that the consistency and thickness of the ruminal mat could be measured by a penetration-resistance test in the rumen, and that RMSI was useful as a new concept in order to evaluate the physical characteristics of rumen digesta. Although there was a positive correlation between RMSI and rumination activity, the relationship between RMSI and peNDF content in diet was unclear. Therefore, estimating the formation state of the ruminal mat was difficult when using only peNDF, and it was concluded that a hard-packed ruminal mat could be formed even if sufficient peNDF was not included in a diet.