ルーメン発酵の効率と飼料のルーメン・バイパス

阿 部 又 信

麻布獣医科大学, 相模原市 229

Efficiency of Rumen Fermentation and the Rumen-Bypass of Feed

Matanobu ABE

Azabu Veterinary Colledge, Sagamihara-shi 229

反芻動物における栄養・生理上の最大の特徴は、いうまでもなくルーメンの存在とその機能にある。それ故に粗飼料を消化し、尿素などの非蛋白態窒素 (NPN) 化合物を利用することも可能である。これらは、劣悪な栄養環境に対する反芻動物の適応能力を示唆するものといえるが、しかし同時に反芻動物が、飼料蛋白質やエネルギーの利用効率において非反芻動物より優れていることをも意味するものではない。

ルーメン発酵の効率

同じ肥育でも肉牛の肥育とブロイラーや豚のそれとを比較すると、飼料の効率は前者の場合の方が著しく劣る。その原因の全てではないにしても、かなりの部分はルーメン発酵に起因すると考えられる。ルーメン発酵に伴う養分の損失や熱力学的制約については、既に多くの研究者が指摘している¹⁻³⁾が、本稿においても敢えて重複を省みず、栄養素の利用におけるルーメン発酵の効率から検討を進めたい。

蛋白質 反芻動物において体内に吸収されるアミノ酸の給源は、主としてルーメン内で増殖し、そこから流出した微生物の体蛋白質、ルーメン微生物による分解を免れて第4胃に到達し得た飼料蛋白質、および第4胃以下に出現する内因性N化合物である。遊離アミノ酸は、それがルーメンから吸収される場合も⁶⁾第4胃に移行する場合も、量的に栄養上実質的な意味をもたないと見られる⁷⁾。一方、反芻動物の第4胃と小腸における内因性N

分泌量は、単胃の哺乳動物⁸⁾と同様に、通常の外因性N摂取量に比べてもかなり多い⁹⁾。しかも内因性蛋白質のアミノ酸組成は飼料や栄養状態には無関係にほぼ一定であり、単胃動物にあっては、その恒常性自体が何らかの栄養生理的意義を有するのではないかと推察されている^{8,10)}。反芻動物のアミノ酸栄養において内因性N化合物の果す役割についてはほとんど知られておらず、また後述するような第4胃、小腸における消化機構の特異性から、単胃動物で得た知見をそのまま反芻動物にあてはめることはあまり適当でないが、その量の多さとアミノ酸組成の恒常性が少なくとも何らかの補完的役割を果すことはあり得よう。

しかしながら、反芻動物に対するアミノ酸給源としてより実質的な意味をもつのは、ルーメンを流出した微生物と飼料とに含まれる蛋白質である。飼料蛋白質はルーメン内で細菌とプロトゾアにより¹¹⁾分解されてアミノ酸を生じ、さらに脱アミノされてアンモニアを生ずる。飼料蛋白質が分解を受ける程度は、蛋白質の性質やルーメン内に滞在する時間によって異なる²⁾が、およそ40～80%と見積られている^{2,12-15)}。すなわち、飼料蛋白質の20～60%はルーメンを素通り (バイパス) して、直接宿主に対するアミノ酸給源となっている。一方、飼料蛋白質の分解の結果生じたアンモニアやアミノ酸の一部は、唾液やルーメン壁を通して血流からルーメンに流入する尿素¹⁶⁾の分解から生じたアンモニアとともに、ルーメン細菌の増殖に際して体蛋白質合成に必要なN源として利

用される。その合成に要するエネルギーは、主として炭水化物を発酵して得た ATP が利用される。このようにして飼料蛋白質のかかなりの部分が微生物蛋白質に転換される結果、ルーメン内容物の全 N の約半分が微生物 N であり¹⁷⁾、またルーメンから流出する固形物の全 N 中約 50~80% を微生物 N が占める^{18,19)} ことになる。これらの結果は反芻動物に対する蛋白質の供給がルーメン発酵に大きく依存していることを示唆するが、しかしながら、これは一方において反芻家畜の生産性を制約する要因ともなりうるのである。

すなわち、好気性細菌は炭水化物のエネルギーを効率良く取りだして増殖のために利用できるが、嫌気的なルーメン細菌は基質から ATP を獲得する能力が低い。後者が Hexose 1 モルから得るエネルギーは、発酵生産物の種類と割合によって若干異なるが、正味でおよそ 3.6~5.6 モルであり⁵⁾、すなわち Hexose 1 モルの総エネルギーの 4~7% にすぎない。これに対して好気性菌は炭水化物エネルギーの 60~70% を利用できるから¹⁾、嫌気性菌の基質利用能力は好気性菌のその 6~12% にすぎないことになる。従来ルーメン細菌の体蛋白質合成を制約する要因が種々指摘されているが²⁰⁻²²⁾、何にも増してその合成に必要なエネルギーの量が制約的要因となるであろう²³⁾。しかしながら、ルーメン細菌の ATP 獲得能力の低さは反芻動物全体の立場から見れば、一概に非難されるべきものではない。ルーメン細菌は炭水化物エネルギーのごく一部を自己の増殖に利用するだけで、残りの大部分は揮発性脂肪酸 (VFA) として宿主に提供するからである¹⁾。このことは反芻動物が繊維質飼料を利用する際には大きな意義をもつものといわねばならない。とはいえ、ルーメン発酵の熱力学的制約のため、HUNGATE¹⁾ はルーメンにおける微生物蛋白質の合成量には必然的に上限があるとし、本来好気的な宿主の組織蛋白質合成も、それに対するアミノ酸の供給が嫌気的なルーメン発酵に依存する限りは、潜在的に有するかもしれない能力を十分に発揮し得ないであろうとした。

基質の発酵から得た ATP 1 モルあたり生産される微生物体細胞の乾物量、すなわち YATP²⁴⁾ は、比較的最近まで菌種に無関係にほぼ一定 (9~12, 平均 10.5 g) であると見られていた^{25,26)}。これは HUNGATE¹⁾ の仮定したルーメン内微生物蛋白質合成量の上限値 (発酵を受けた炭水化物 100 g あたり蛋白質 10 g) にほぼ見合う数値である。しかし一方では、*in vitro* のルーメン細菌純粋培養実験²⁷⁾ やその他の試験^{28,29)} において上記の基準をはるかに上まわる数値も数多く報告された。その後、STOUT-HAMER and BATTENHAUSSEN³⁰⁾ は YATP が決して一定では

なく、細菌の増殖速度によって異なるという注目すべき説を提唱した。ルーメン細菌の増殖速度はルーメン内容物の代謝回転率 (稀釈率, D) に左右される。ルーメン微生物の *in vitro* 連続培養において、D を低くすると細菌数は一時的に増加するがふたたび急速に減少して元の濃度に戻る。D を高めると逆に一時的に減少するが、その後短時間でふたたび元の水準まで急激に増加する³¹⁾。すなわちルーメン細菌は、D の程度に応じて増殖速度を変えることにより、ルーメン内 population を維持しているのである。その結果 YATP が D によって変化することは、その後 *in vitro*³²⁾ および *in vivo*³³⁾ でも立証された。その間の事情や理論的裏づけは最近の総説^{4,5)} に詳しいが、この理論に基づけば、宿主に対する蛋白質の供給を増加して潜在的能力を引き出すための方法の一つは、何らかの方法でルーメン内容物の D を増加することである^{4,5)}。具体的には、粗飼料と濃厚飼料の組み合わせや物理的形状を工夫したり、飼料の給与回数を増加したり、飲水量が増加するよう工夫するなどの方法が考えられる。その結果、ルーメン内の微生物蛋白質合成量が増加するとともに、飼料蛋白質のルーメン・バイパス量もまた増加するであろうとされている³⁻⁵⁾。この考え方は左程目新しいものではないが、微生物の種類や体組成に及ぼす影響、発酵生産物である VFA の種類や量に及ぼす影響など検討すべき課題も多く残されている³⁴⁻³⁶⁾。

反芻動物の蛋白質栄養におけるルーメン発酵の効率を論ずる際に、プロトゾアの存在が 1 つの論点となる^{37,38)}。しかし少なくとも宿主に対する蛋白質供給量という点では、その存在がマイナスに働くであろうことを示唆する実験証拠は多い。プロトゾアは細菌を多量に摂取するため、プロトゾアが存在する場合のルーメン内細菌数はいない場合に比べて著しく少ない^{39,40)}。一方、ルーメン内アンモニア濃度はプロトゾアがいる方が有意に高く^{41,42)}、この原因はプロトゾアによる細菌などの N 源の利用性が悪い⁴³⁾ ことに帰せられよう。プロトゾアに摂取された細菌 N は約 50% しか利用されず、残りは未利用 N として排泄されるからである⁴⁴⁾。さらに、プロトゾアはその population を維持するためにルーメン内に「隠棲」するので^{31,45-47)}、ルーメンから第 3 胃以下に流出して宿主の蛋白源になる量は、ルーメン内プロトゾア濃度から類推されるよりもかなり少ないであろう^{47,48)}。これらの根拠に基づけば、プロトゾアの存在は宿主に対する細菌蛋白質の供給量を減少させることになろう。反芻動物の蛋白質栄養にプロトゾアの存在が有利であるとする論拠の 1 つは、ある種の必須アミノ酸、特にリジン含量が細菌よりも高く⁴⁹⁻⁵¹⁾、正味蛋白質利用効率 (NPU) も高

い^{52,53)}という点にある。しかしながら事實は、リジン含量等の相違にもかかわらずラットを用いて測定した生物価はほとんど変わらず、むしろプロトゾアの方がわずかに低いくらいであって^{52,53)}、その NPU が高いのは真の消化率が高いためにすぎない。したがってこれは、細菌蛋白質の供給量が増加すれば補いのつく性質のものであるといえよう。かつてプロトゾア除去羊ではリジンが第 1 制限アミノ酸になることが証明されたといわれたが^{42,53)}、今日ではその実験方法に問題があることが指摘されている⁵⁴⁻⁵⁷⁾。

前述の稀釈率 D を増加する方法は、結果的にプロトゾア数を減少させる可能性が多分にある^{31,47,58,59)}。しかし宿主に対する細菌蛋白質供給量という点では、それはむしろ有利であろう。プロトゾアは穀類の多い高エネルギー飼料の給与時に多い傾向がある^{60,61)}。その意味からもプロトゾアの除去による N 栄養の改善効果は、低エネルギー飼料給与時よりも、恐らくは低蛋白質・高エネルギー飼料の給与時において現われ易いものと思われる^{62,63)}。

炭水化物 ルーメン発酵は、高等動物には本来消化できないセルロースやヘミセルロースの利用を可能にする点では有利な機構であるが、一方ではその仕組みを維持するため、単胃動物型の炭水化物エネルギー利用システム、すなわち加水分解型消化過程に比べるとはるかに大きな代価を支払わねばならない。その代価とは、(1)ルーメン微生物の population を維持するのに必要なエネルギー、(2)発酵熱として失われるエネルギー、(3)メタンの形で失われるエネルギー、および (4)体内で VFA から Hexose を再合成するに要するエネルギーである。このうち(1)については、既に述べたように炭水化物エネルギーの 4~7%がその目的のために費される。

次に、ルーメンの発酵熱とは微生物の代謝活性の効率があまり良好でないために、その過程で放散される自由エネルギーであると定義される⁴⁾。この形でのエネルギーの損失がどの程度であるかについては、測定方法上の困難のためにあまり明確ではないが、HUNGATE⁶⁴⁾は化学量論的に検討してその程度は Hexose 総エネルギーの 6.5% (以下)としている。しかし実際には、発酵熱の発生量は飼料の種類や形状、発酵生産物の種類や量などによっても異なり、BLAXTER⁶⁵⁾は飼料総エネルギーの 3~12%に相当するとしている。いずれにしてもこれらの値は、単胃動物の消化過程で生ずる熱としてのエネルギー損失が 1%程度とされている⁴⁾のとは比べるとはるかに大きく、その一部は低温環境下における反芻動物の体温維持に役立つ⁶⁶⁾とはいえ、やはり炭水化物エネルギーの利

用効率を低下させる要因であることはまちがいない。

発酵熱に比べると、ルーメン発酵におけるメタン生成の問題に関してはかなり詳細な研究がなされている⁶⁷⁾。通常メタンはモル比でルーメン・ガス中の 15~30% を構成し⁴⁾、この割合はやはり飼料の種類や形状、給与水準によって異なるが、Hexose 1 モルの発酵によって約 0.45 モル (0.3~0.5 モル) のメタンが生成する⁶⁴⁾。その結果、飼料総エネルギーの 6~8%がこの形で失われるとされている⁶⁵⁾。

以上の 3 つは炭水化物がルーメン発酵を受けることにより生じ得るエネルギーの損失であるが、その結果生産された VFA が体内に吸収されて利用される際にも、反芻動物は余計なエネルギーの出費を強いられる。すなわち反芻動物自身は他の高等動物と同様に、生命維持に必要なエネルギーは、主にグルコースの酸化から得なければならないが、そのグルコースは主としてルーメンより吸収されたプロピオン酸から合成される⁶⁸⁻⁷⁰⁾。プロピオン酸 2 モルからグルコース 1 モルが合成されるためには ATP が正味 6 モル必要である⁶⁸⁾。

脂肪 飼料中のトリグリセライドは、ルーメン内で加水分解されてグリセリンと脂肪酸を生ずる^{71,72)}。グリセリンはさらに発酵を受けてプロピオン酸に転ずるが、グリセリンとプロピオン酸の熱量を比較すると後者の方が 7.5% 少なく、この分が脂肪のルーメン内消化に伴うエネルギー損失といえる。しかし C₁₈ 脂肪酸含有のトリグリセライドでは、グリセリン自身は全エネルギーの 5% にしかならないので、したがってその種のエネルギー損失は全体の 0.4% にすぎないことになる⁷³⁾。このように脂肪の場合はルーメン発酵によって受けるエネルギー損失が微々たるばかりか、不飽和脂肪酸に対する水素添加⁷¹⁾は代謝性水素を消費してメタン生成を少なくするので、その意味では有利であるとさえ見られる^{3,73)}。

しかしながら、脂肪は別の面からルーメン発酵に有害な影響を及ぼすことが知られている^{74,75)}。すなわち、飼料の周辺に脂肪の皮膜を生じるため主として水相に分布する諸酵素との接触が断たれ、その結果特に繊維の消化が悪化するといわれる。それ故、反芻動物に対するエネルギー源として脂肪は炭水化物より有効に利用される^{73,80)}とはいえ、その大量使用はまた新たな問題を生ずるであろう。

飼料のルーメン・バイパス

ルーメン発酵の効率に関するこのような知見の集積は、反芻家畜の栄養がルーメン発酵に過度に依存することへの疑問を提起し²⁻⁵⁾、同時にその生産性向上のため

に種々の考案を導いた。その一つの方向はルーメン発酵の制御 (Manipulation)⁹⁾とよばれるもので、ある種の薬剤を投与してプロピオン酸の生成を促進したり^{76,77)}、メタン生成を抑制したり^{78,79)}、あるいは前述のルーメン内容物の稀釈率Dを増加させる試みなどもこれである。つまりこれは、何らかの方法でルーメン微生物およびその活性を好ましい方向に制御しようというものである。一方これとは別に、ルーメン発酵をセルローズ、ヘミセルローズの利用と、NPN または極めて生物価の低い蛋白質から細菌蛋白質への転換という目的のみに限定し、その他の飼料蛋白質やエネルギー源は可及的にルーメン・バイパスさせることによって損失を少なくし、また反芻家畜の潜在的生産性 (もしそのような能力があるとすれば) を引き出そうという考え方がある^{2,14,80-82)}。この考え方の合理性を証明するものとして BLACK⁷⁸⁾の理論計算は興味深い。すなわちルーメン発酵によっても、また下部消化管における酵素分解によっても、ほぼ完全に消化されるような蛋白質および炭水化物を想定したとき、これらはルーメン発酵を受ける場合よりも、下部消化管に入って利用される場合の方が、正味に利用される蛋白質量は約 90%、同じくエネルギー量は約 50%増加することを示した。彼はその後⁸³⁾、蛋白質を牛乳蛋白質、炭水化物が乳糖とグルコースであるような飼料を用いて羊の飼養試験を行なった後屠殺し、先の計算根拠の正しさを裏づけている。

ルーメン内で分解され易い物をバイパスさせるには、カプセルに封入する^{84,85)}、化学的に変性する⁸⁶⁻⁸⁹⁾、食道溝を利用する⁹⁰⁻⁹³⁾、など種々の方法が考えられているが、実験的には第4胃や十二指腸に設けたフィステルから投与したり⁹⁴⁻⁹⁸⁾、血管⁹⁹⁾または腹腔内¹⁰⁰⁾への注入でも同様の効果を期待できる場合がある。このような方法を用いて、種々の蛋白質 (アミノ酸) やエネルギー源をルーメン・バイパスさせることの効果が検討され、これまで既に多くの総説が書かれている^{2-5,14,80-82,101-103)}。

蛋白質 前述のごとく、反芻動物に対するアミノ酸の主要な供給源は、ルーメン内で合成された微生物の体蛋白質とルーメン・バイパスした飼料蛋白質である。尿素などの NPN を単一N源とする精製飼料を給与中には、実質的にすべての必須アミノ酸が微生物蛋白質に由来するであろう。この種の精製飼料を給与中でも反芻動物は維持以上に増体 (成長)^{21,104,105)}、泌乳¹⁰⁶⁾、また羊毛を生産¹⁰⁷⁻¹⁰⁹⁾することが可能である。しかし一般に、このような場合の生産能力は天然蛋白質源を給与中のものに比べて劣り¹¹⁰⁾、その原因は宿主に対する蛋白質供給量の不足にある。その理由は以下に述べるように、それら

の動物に対して余分の蛋白質やアミノ酸をルーメン・バイパスさせるとN出納や生産性が改善される例が多いからである。

HATFIELD *et al.*¹⁰⁷⁻¹⁰⁹⁾は成長期の羊に対するルーメン微生物蛋白質の量的および質的妥当性を吟味し、尿素精製飼料給与時は非特異的アミノ酸Nが不足するとともに、必須アミノ酸の制限順位が 1)メチオニン、2)リジン、3)スレオニンであることに明らかにした。また他の研究者もほぼ同様の結論を得ている¹¹¹⁾。通常の天然蛋白質飼料給与時においても、羊のルーメン以後にメチオニン^{85,112)}や蛋白質¹¹³⁻¹¹⁷⁾を投与することによって、成長やN出納に著しい改善が見られ、また保持されたNのかなりの部分は羊毛中に取りこまれた¹¹⁸⁾。成長期の羊においてメチオニンが第1制限アミノ酸になるというのは、羊毛蛋白質が含硫アミノ酸、特にシスチンの含量が高いという事実と関連しているが、種々の蛋白質をルーメン・バイパスさせた結果では、含硫アミノ酸のみならず全般的に必須アミノ酸含量が高い蛋白質、すなわち生物価の高いものの方が結果は良好であった¹¹⁹⁾。多量のメチオニンを単独でルーメン以後に投与しても羊毛の成長は促進されるが、増体や飼料摂取量にはかえって悪影響があることも報告されている¹²⁰⁾。これらの結果は、成長期の羊においては小腸に到達する蛋白質の絶体量が不足することを示唆すると同時に、羊毛の生育と体成長とでアミノ酸要求性が異なることを示すものとして注目される。

成長中の若牛や泌乳中の乳牛も蛋白質要求量が高いが、これらに対するルーメン微生物蛋白質の量的、質的妥当性を評価し、制限アミノ酸を決定しようとする試みは成長期の羊ほどの成功を収めていない。一部の研究者は精製飼料給与時の去勢牛においては側鎖アミノ酸が制限になるとし^{21,121)}、その原因は側鎖の炭素骨格の不足によるとした^{21,104)}。しかし他の研究者の追試ではルーメン微生物による側鎖アミノ酸合成量の低下は認められず^{53,122,123)}、また、尿素精製飼料給与時に見られる血漿中遊離の側鎖アミノ酸濃度の減少や必須：非必須アミノ酸比の低下は、特定アミノ酸の不足を意味するというよりは、全体としての蛋白質供給量の不足を示すものであるという傾聴すべき意見がある^{124,125)}。事実、反芻動物において側鎖アミノ酸とフェニルアラニンは、供給量が多い場合は血漿中に蓄積しやすいことが指摘されている⁹⁶⁾。

ABE *et al.*¹⁰⁵⁾は HATFIELD *et al.*¹⁰⁷⁻¹⁰⁹⁾がかって成長期の羊に用いて成功したのと同様の手法を体重 130 kg の去勢牛について試みた結果、尿素精製飼料給与時のルーメン微生物蛋白質は、成長期の去勢牛の要求量に対して

リジン、ロイシンおよび含硫アミノ酸が制限になることを示した。また Cross *et al.*¹²⁶⁾は体重 300 kg の去勢牛に尿素を主要 N 源とする濃厚飼料を給与したとき、リジンが最も制限となったことを報告した。同様に Young *et al.*¹²⁷⁾, Burris *et al.*¹²⁸⁾も 250~300 kg の去勢牛における第 1 制限アミノ酸はリジンであるとしたが、Leibholz¹²⁹⁾はそれより小さい子牛の段階における制限アミノ酸を検討し、メチオニン、リジンの順であるとした。しかしながら、リジンや他のアミノ酸を単独で第 4 胃内に注入した場合は効果が一定せず、有効な場合¹³⁰⁾もあればそうでない場合もある¹³¹⁾。カゼイン、カゼインの酸加水分解物、またはそれに類似的必須アミノ酸混合物の第 4 胃内注入はほぼ例外なく去勢牛の N 出納を改善するのである¹⁴⁾が、第 1 制限アミノ酸が未だに特定できていない原因は、羊の場合のように 1 種類のアミノ酸が大きな制限になっているのではなく、この場合は多数のアミノ酸がほとんど均等にわずかに不足しているためと考えられる^{14,100)}。また、若牛を最大速度で成長させるのに必要な蛋白質量と、ルーメンから供給される微生物蛋白質量との間の差が小さいことにもよるであろう。このことから通常の濃厚飼料補給型の育成・肥育法を採る際には、少なくとも育成期後半はルーメン以後に蛋白質を補足する必要はないとする意見がある^{81,101)}。体重約 130 kg のホルスタイン種雄子牛に、でんぷんをエネルギー源とし尿素を単一 N 源とする精製飼料を給与した時の 1 日の平均増体量は 0.78 kg であった¹⁰⁵⁾のに対して、キャッサバ・ミール（粗蛋白質含量約 3%）をエネルギー源に用い、全 N 中 82.4% が尿素に由来するような半精製飼料給与時のそれは、1.35 kg もあり、バイパス蛋白質源としての魚粉やコーン・グルテンミールの添加は有意の増体改善効果をもたなかった¹³²⁾。この実験結果は育成の比較的早期においても、微生物蛋白質にわずかの飼料由来のバイパス蛋白質が加われば、それだけで子牛の最大成長に必要な蛋白質量を十分供給しうることを示唆している。

泌乳牛の場合、特に高泌乳期においてはルーメンからの微生物蛋白質だけではその蛋白質要求量を満たすことが不可能とする点では、大方の見方が一致している¹³³⁾。また、乳牛のルーメン以後に蛋白質（主としてカゼイン）を補給した結果、乳量および乳蛋白質量の増加を見た例は数多くあり、およそ乳量で 1 日 1~4 kg、乳蛋白質で 10~15% 増加し、しかも高泌乳牛ほどそれらの増加程度が高い傾向が認められる^{134,135)}。しかしこの場合も制限アミノ酸はあまり明確ではない。Broderick *et al.*¹³⁶⁾は血漿遊離アミノ酸濃度の変動から制限アミノ酸の判定を

試み、メチオニン、リジン、バリンの 3 つが同程度の制限になるとした。Schwab *et al.*¹³⁷⁾は第 4 胃内にアミノ酸を注入する実験から、リジンとメチオニンが乳蛋白質合成における制限アミノ酸であることを示唆した。Clark¹³⁹⁾は、それまでの多数の研究者の実験結果を整理して、フェニルアラニン、メチオニン、リジン、スレオニン、ヒスチジンおよびトリプトファンが恐らく制限アミノ酸であるとしたが、制限順位を明らかにすることはできなかった。それというのも成長期の子牛の場合と同様に、カゼインやその加水分解物をルーメン以後に投与した場合は、明らかに効果が現われるにもかかわらず、1 種または数種のアミノ酸の投与では、多くの場合統計上有意味な程度の影響を及ぼさないためである^{138,139)}。この場合、必須アミノ酸はもとより非特異的アミノ態 N までは含めた広範囲のアミノ酸の不足が予想されるが、今後さらに検討を要する分野と思われる。

炭水化物 炭水化物のうち、ルーメン・バイパスさせた方が有効に利用されると期待されるのは、何よりもでんぷんや糖であろう。高等動物はセルロースのようなグルコースの β 結合を分解する能力をもたないから、その場合はルーメン発酵に伴う損失も甘受しなければならないが、既に述べた根拠に基づけば、でんぷんや糖はルーメン発酵によらず直接小腸で消化吸収した方がはるかに効率よく利用できるはずである。

しかしながら、これまでの研究結果を見る限りでは、必ずしもそれほど単純ではないようである。すなわち反芻動物は、牛でも¹⁴⁰⁾、羊でも¹⁴¹⁾、また山羊でも⁹⁸⁾、単胃動物に比べると小腸におけるでんぷんの消化能力が極めて低い。小腸に入ったでんぷんのは半分は続いて盲腸以下の大腸に移行し、そこで腸内細菌により発酵を受ける¹⁴²⁻¹⁴⁴⁾。多量の発酵基質を継続して送りこまれた大腸は代償的に発達することも観察された¹⁴⁰⁾。結局、ルーメン発酵を避けるようにでんぷん質飼料をルーメン・バイパスさせても、その多くは小腸で消化されずに大腸内で嫌氣的発酵を受けて VFA を生ずるのである¹⁴⁴⁻¹⁴⁶⁾。VFA は大腸からも吸収されるであろうが^{147,148)}、しかしこれでは本来の意味は失われてしまう。でんぷんを α 化すると小腸における消化は若干向上するが、それを継続して投与することによる小腸内消化の適応的改善はあまり認められない^{149,150)}。近年、穀類多給のフィードロット型肉牛肥育法において、でんぷんのルーメン・バイパス量の多さと小腸におけるその消化の悪さが問題にされはじめた^{151,152)}。一部の研究者は小腸でのでんぷん消化が悪い原因を、ルーメンにおける VFA や乳酸の産生過剰の結果それらの一部が小腸に流入して pH を低下させ、その

ためでんぶん分解酵素活性が低下することに求めている。しかし反芻動物の小腸上部の pH はルーメン発酵とは無関係に、臍液中に重炭酸塩が少ないために¹⁵³⁾ 本来低く、アルカリ性になるのは空腸中部以後であるが^{154, 155)}、一方第 4 胃の pH は単胃動物の胃内ほど低くないのである¹⁴⁴⁾。この問題に関しては MAYES and ØRSKOV¹⁵⁶⁾の知見が注目し直しよう。彼らは羊の小腸におけるでんぶん分解能が 200~300 g/日と極めて低く、しかし同時に、回腸末端を通過する α 結合のグルコース重合体のほとんどすべてがマルトースを主体とする短鎖の少糖類であることを知った。このことは、十二指腸内に分泌される臍液のアミラーゼ活性よりも、腸液中のマルターゼ活性の方にむしろ問題があることを示唆している。

反芻動物は、幼時においても蔗糖分解酵素活性がほとんどなく、また継続投与してもその活性は増加しない¹⁵⁷⁾。したがって蔗糖をルーメン・バイパスさせても、それは大腸内で発酵を受けるだけである¹⁶¹⁾。一方、グルコースは小腸からそのまま吸収されて利用される。しかし反芻動物の場合その吸収能力には限界があるようで、ØRSKOV *et al.*¹⁵⁸⁾は羊について 300 g/日が限度であり、それを超える分は大腸に入って発酵を受けるとしている。著者らも(未発表)。食道溝を利用する方法で子牛や成牛のルーメン以後にグルコース液を投与した際、ある量以上になると下痢をしたり、それ以上は飲まなくなるといった例を数多く経験している。いずれにしても、小腸からのグルコース吸収能力に限界があるのでは、たとえでんぶん消化力が何らかの方法で改善されたとしても、炭水化物利用効率の向上にルーメン・バイパス法を用いるには制約がある。

脂肪 脂肪をルーメン・バイパスさせようという目的には 2 つある。当初目的とされたのは、反芻家畜の体脂肪や乳脂肪の不飽和脂肪酸含量を高めるためであった。植物性油脂の脂肪酸はオレイン酸やリノール酸が多いが、ルーメン発酵を受ける過程で水素添加されるため、反芻動物の体脂肪や乳脂肪の脂肪酸は高度に飽和化されている¹⁵⁹⁾。欧米では、このように高度に飽和化された脂肪の大量摂取が健康に及ぼす影響を懸念して牛乳やバターの消費が低落し、代りに植物性油脂を材料にしたマーガリンや合成乳が急増したという事情がその背景にある。そこで、ルーメン内で分解されずに第 4 胃に至って崩壊するようなカプセルに油脂を包みこむ技術が開発された¹⁶⁰⁾。リノール酸含量の多いサフラワー油や大豆油をこの方法でルーメン・バイパスさせると、血漿脂質、乳または体脂肪のリノール酸含量が増加する¹⁶¹⁻¹⁶⁴⁾。通常、乳牛にサフラワー油や鰵肝油を給与すると乳脂率を低下

させることが知られているが¹⁶⁵⁾、この方法でサフラワー油を給与する場合は、逆に乳脂肪含量が増加する^{166, 167)}。その他この種の一連の試験からは、反芻動物の脂肪組織や乳腺における脂質代謝に関しても貴重な知見が種々得られているが、それについては他の総説¹⁰²⁾に詳しい。

代用乳を除いて、反芻動物の飼料に 5%以上の油脂を添加して給与すると、ルーメン細菌の活動を抑制し、その増殖や繊維の消化に悪影響を及ぼす¹⁶⁸⁾。しかし油脂のカプセル化は、これらの悪影響なしに高濃度の油脂の添加を可能にした。そこで第 2 の目的として、穀類の一部を脂肪で代替することによるエネルギー利用性の向上^{73, 80)}が検討されはじめた。これは肥育牛¹⁶⁹⁾のみならず、乳牛でもエネルギー必要量を満たすに足るだけの飼料を摂取し難い、泌乳初期から最盛期にかけてのエネルギー補給の目的からも注目されている¹⁷⁰⁻¹⁷²⁾。現在のところ乳牛での実験例数はあまり多くないが、得られた知見を要約すると次のようである。この方法で牛脂を 10% 相当分飼料に添加すると、エネルギー利用効率が増加する結果、特に乳脂肪含量が増加した。その添加は飼料摂取量を減少させたが、摂取エネルギー量には差がなく、乳量にも差が生じなかった。これが事実とすれば、脂肪の添加によって飼料のエネルギー含量を高め、それによりエネルギー摂取量を増加させようという試みは、やや実現困難のように思われる。しかしこの問題は、蛋白質供給量との関連においてさらに検討される必要があろう。かつて ØRSKOV *et al.*¹⁷³⁾は、羊のルーメン以後に乳糖を注入することによって飼料摂取量は減少し、一方蛋白質の注入によりそれが増加することを認めているからである。また一方でこれらの知見は、牛においても飼料のエネルギー含量と飼料摂取量との間に、家禽の場合¹⁷⁴⁾と同様の関係があることを示唆するようでもあり、この意味からも興味深い。

多量の脂肪の給与が、反芻動物体内の脂肪代謝に及ぼす影響についても、検討の余地が今後に残されている。マウスにおいてはそれは、内因的な脂肪酸合成を抑制し¹⁷⁵⁾、また、吸収された多量の脂質を輸送するのに必要なコレステロールの生合成を促進する¹⁷⁶⁾。乳牛においても多量の脂肪のルーメン・バイパスは、乳腺における脂肪酸合成を低下させ、血清コレステロールを顕著に増加させる^{171, 172)}。また、バイパスさせる脂肪の脂肪酸組成の相違により、ルーメンから吸収された酢酸からの脂肪酸合成程度が各脂肪組織間で違ってくるという知見もあり¹⁰²⁾、この問題は肥育牛の肉質に及ぼす影響との関連からも検討に値すると思われる。

総 括

ルーメン発酵の効率上の制約と、その制約を打開する方策の1つとしての飼料のルーメン・バイパスについて、最近10年間の研究を中心にまとめてみた。最後に総括の意味で、今後の可能性や問題点について多少の私見を交えながらふれておきたい。

ルーメン発酵を粗飼料やNPNまたは低品質の蛋白質の利用目的のみに限定し、それ以外はルーメン・バイパスさせることによって宿主自身に利用させようという考え方は、それなりに正当な理論的根拠をもつものと考えられる。しかし実際は、反芻動物がルーメン以後の消化機構や体内代謝においても特異的であることによって、必ずしも理論通りには運ばないことも明らかにされた。例えば小腸においてのでんぷんの消化が悪く、さらにグルコースの吸収能力にも限界があるとすれば、反芻動物のエネルギー利用方式が単胃動物とは本質的に異なることが示唆される。近年、エネルギー代謝関連酵素の活性や細胞内分布に関する研究から、反芻動物と非反芻動物との間にいくつかの重要な代謝上の相違があることも明らかにされつつある^{70,177,178)}。

反芻動物の小腸内消化に関しては、蛋白質の場合もさらに検討を要すると思われる。すなわち、ルーメン以後に直接送りこまれた蛋白質や、特に飼料蛋白質のうちでルーメンでの分解に免れた部分については、それが小腸でどの程度消化されるかという問題が解明されなければならない。反芻動物は十二指腸および空腸上部のpHが低く、そのためにこの両部位では専らペプシンのみが活性を有し、トリプシンやキモトリプシン、腸液中のカルボキシペプチダーゼは空腸中部以下で活性化されるという¹⁵⁵⁾。さらに、アミノペプチダーゼやジペプチダーゼ活性は、回腸中部以下に至ってはじめて最大になるともいわれている¹⁵⁴⁾。これまでの蛋白質のルーメン・バイパス実験の多くは、カゼインまたはホルマリン変性カゼインを用いて行われているが、それ以外の蛋白質を用いた場合は小腸での消化が明らかに悪かった例もある¹⁴⁰⁾。最近、反芻動物に対する蛋白質供給量の単位として代謝性蛋白質(MP)、または利用性蛋白質(UP)という概念が新たに提案されている^{13,179-181)}。その定義は研究者によって若干異なるが、要するに反芻動物に対する蛋白質の供給量を、ルーメンから流出する微生物蛋白質の量とルーメン・バイパスした飼料蛋白質量とに分けて考えることを基本にしている。この概念を発展させ、実用に結びつけるためにも、反芻動物の小腸における蛋白質の消化と吸収の問題は、今後さらに検討されることが必要であろう。

将来の反芻家畜飼養技術において、ルーメン・バイパス法自体がどの程度に生かされるようになるかは、経済性や手間の問題もからむので、現在のところ予測が困難である。むしろ、本文中にも少しふれた「ルーメン発酵の制御」法の方が、モノニンシンの例にも見られるように¹⁸²⁻¹⁸⁴⁾、実用化という点では可能性が高いようにも思われる。しかしながら、ルーメン・バイパス法は反芻動物の栄養生理を研究する上で、極めて有益な手段であることはまちがいない。その結果得られた知見は、紙数の関係上ここでは割愛せざるを得なかったもの(例えば、ホルモンの分泌に及ぼす影響^{14,133)}など)も含めて、将来における反芻家畜飼養技術の向上発展に必ず役立つことであろう。

文 献

- 1) HUNGATE, R. E., *The Rumen and Its Microbes*. 1st ed. 326-330. Academic Press. New York and London. 1966.
- 2) CHALUPA, W., *J. Dairy Sci.*, **58**: 1198-1218. 1975.
- 3) CHALUPA, W., *J. Anim. Sci.*, **46**: 585-599. 1977.
- 4) BERGEN, W. G. and M. T. YOKOYAMA, *J. Anim. Sci.*, **46**: 573-584. 1977.
- 5) OWENS, F. N. and H. R. ISAACSON, *Fedn. Proc.*, **36**: 198-202. 1977.
- 6) COOK, R. M., R. E. BROWN and C. L. DAVIS, *J. Dairy Sci.*, **48**: 475-483. 1965.
- 7) LEIBHOLZ, J., *Aust. J. Agr. Res.*, **22**: 635-645. 1971.
- 8) NASSET, E. S., in *Protein Nutrition and Free Amino Acid Patterns* (LEATHEM, J. H., ed.) 80-87. Rutgers University Press. New Brunswick, New Jersey. 1968.
- 9) PHILLIPSON, A. T., in *Mammalian Protein Metabolism* vol. 1. (MUNRO, H. N. and J. B. ALLISON, eds.) 71-103. Academic Press. New York and London. 1964.
- 10) FAUCONNEU, G. and M. C. MITCHEL, in *Mammalian Protein Metabolism* vol. 4. (MUNRO, H. N., ed.) 481-522. Academic Press. New York and London. 1970.
- 11) ALLISON, M. J., in *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant* (PHILLIPSON, A. T., ed.) 456-473. Oriel Press. Newcastle upon Tyne, England. 1970.
- 12) HOGAN, J. P., *J. Dairy Sci.*, **58**: 1164-1177. 1975.
- 13) SATTER, L. D. and R. E. ROFFLER, *J. Dairy Sci.*, **58**: 1219-1237. 1975.
- 14) CLARK, J. H., in *Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds* part 2. (FRIEDMAN, M., ed.) 261-304. Marcel Dekker, Inc. New York. 1975.

- 15) BURROUGHS, W., D.K. NELSON and D.R. MERTENS, *J. Dairy Sci.*, **58**: 611-619. 1975.
- 16) HOUP, T. R., *Am. J. Physiol.*, **197**: 115-120. 1959.
- 17) 亀岡暄一・森本 宏・高橋正也・窪田大作, *農技研報*, **G7**: 169-173. 1954.
- 18) SMITH, R. H. and A. B. McALLEN, *Proc. Nutr. Soc.*, **32**: 9A-10A. 1973.
- 19) WELLER, R. A., A. F. PILGRIM and F. V. GRAY, *Br. J. Nutr.*, **16**: 83-90. 1962.
- 20) BOUCHARD, R. and H. R. CONRAD, *J. Dairy Sci.*, **56**: 1276-1282. 1973.
- 21) OLTJEN, R. R. and P. A. PUTNAM, *J. Nutr.*, **89**: 385-391. 1966.
- 22) BRYANT, M. P., *Fedn. Proc.*, **32**: 1809-1813. 1973.
- 23) SMITH, R. H., in *Digestion and Metabolism in the Ruminant* (McDONALD, I. W. and A. C. I. WARNER, eds.) 399-415. Univ. of New England Publishing Unit. Armidale, Australia. 1975.
- 24) BAUCHOP, T. and S. R. ELSDEN, *J. Gen. Microbiol.*, **23**: 457-469. 1960.
- 25) PAYNE, W. J., *Annu. Rev. Microbiol.*, **24**: 17-52. 1970.
- 26) FORREST, W. W. and D. J. WALKER, in *Advance in Microbial Physiology* vol. 5. (ROSE, A. H. and J. F. WILKINSON, eds.) 213-274. Academic Press. New York and London. 1971.
- 27) HOBSON, P. N., *J. Gen. Microbiol.*, **38**: 167-180. 1965.
- 28) PURSER, D. B., *J. Anim. Sci.*, **30**: 988-1001. 1970.
- 29) HUME, I. D., R. J. MOIR and M. SOMERS, *Aust. J. Agr. Res.*, **21**: 283-296. 1970.
- 30) STOUTHAMER, A. H. and C. BATTENHAUSEN, *Biochim. Biophys. Acta.*, **301**: 53-70. 1973.
- 31) ABE, M. and F. KUMENO, *J. Anim. Sci.*, **36**: 941-948. 1973.
- 32) ISAACSON, H. R., F. C. FINDS, M. P. BRYANT and F. N. OWENS, *J. Dairy Sci.*, **58**: 1645-1659. 1975.
- 33) COLE, N. A., R. R. JOHNSON, F. N. OWENS and J. R. MALES, *J. Anim. Sci.*, **43**: 497-507. 1976.
- 34) KJELDGAARD, N. O., in *Advances in Microbial Physiology* vol. 1. (ROSE, A. H. and J. F. WILKINSON, eds.) 39-74. Academic Press. New York and London. 1967.
- 35) VAN SOEST, P. J., in *Digestion and Metabolism in the Ruminant* (McDONALD, I. W. and A. C. I. WARNER, eds.) 351-365. Univ. of New England Publishing Unit. Armidale, Australia. 1975.
- 36) CZERKAWSKI, J. W., *J. Dairy Sci.*, **61**: 1261-1273. 1978.
- 37) 板橋久雄, *家畜栄養生理研報*, **19**: 39-50. 1975.
- 38) 小野寺良次, *日畜会報*, **46**: 661-670. 1975.
- 39) MALES, J. R. and D. B. PURSER, *Appl. Microbiol.*, **19**: 485-490. 1970.
- 40) 板橋久雄・神立 誠, *日畜会報*, **45**: 585-591. 1974.
- 41) KLOPFENSTEIN, T. J., D. B. PURSER and W. J. TYZNIK, *J. Anim. Sci.*, **25**: 765-773. 1966.
- 42) ITABASHI, H. and M. KANDATSU, *Jap. J. Zootech. Sci.*, **46**: 409-416. 1975.
- 43) 小野寺良次・神立 誠, *日畜会報*, **41**: 307-313. 1970.
- 44) COLEMAN, G. S., in *Digestion and Metabolism in the Ruminant* (McDONALD, I. W. and A. C. I. WARNER, eds.) 149-164. Univ. of New England Publishing Unit. Armidale, Australia. 1975.
- 45) ABE, M. and F. KUMENO, *Jap. J. Zootech. Sci.*, **42**: 191-192. 1971.
- 46) HUNGATE, R. E., J. REICHEL and R. PRINS, *Appl. Microbiol.*, **22**: 1104-1113. 1971.
- 47) WELLER, R. A. and A. F. PILGRIM, *Br. J. Nutr.*, **32**: 341-351. 1974.
- 48) HARRISON, D. G., D. E. BEEVER and D. F. OSBOURN, *Br. J. Nutr.*, **41**: 521-527. 1979.
- 49) WELLER, R. A., *Aust. J. Biol. Sci.*, **10**: 384-389. 1957.
- 50) MEYER, R. M., E. E. BARTLEY, C. W. DEYORE and V. F. COLENBRANDER, *J. Dairy Sci.*, **50**: 1327-1332. 1967.
- 51) PURSER, D. B. and S. M. BUECHLER, *J. Dairy Sci.*, **49**: 81-84. 1966.
- 52) McNAUGHT, M. L., E. C. OWEN, K. M. HENRY and S. K. KON, *Biochem. J.*, **56**: 151-156. 1954.
- 53) BERGEN, W. G., D. B. PURSOR and J. H. CLINE, *J. Anim. Sci.*, **27**: 1497-1501. 1968.
- 54) PURSER, D. B., T. J. KLOPFENSTEIN and J. H. CLINE, *J. Nutr.*, **89**: 226-234. 1966.
- 55) POTTER, E. L., D. B. PURSOR and W. G. BERGEN, *J. Anim. Sci.*, **34**: 660-671. 1972.
- 56) 阿部又信・渋井仁志・入来常德, *日畜会報*, **46**: 621-629. 1975.
- 57) 阿部又信・入来常德・近藤啓一・河井武則, *日畜会報*, **47**: 254-264. 1976.
- 58) CHRISTIANSEN, W. C., W. WOODS and W. BURROUGHS, *J. Anim. Sci.*, **23**: 984-988. 1964.
- 59) HOOVER, W. H., B. A. CROOKER and C. J. SNIFFEN, *J. Anim. Sci.*, **43**: 528-534. 1976.
- 60) ABE, M. and F. KUMENO, *Br. J. Nutr.*, **40**: 163-167. 1973.
- 61) ABE, M. and I. IRIKI, *Br. J. Nutr.*, **39**: 255-264. 1978.
- 62) BIRD, S. H. and R. A. LENG, *Br. J. Nutr.*, **40**: 163-167. 1978.
- 63) BIRD, S. H., M. K. HILL and R. A. LENG, *Br. J. Nutr.*, **42**: 81-87. 1979.

- 64) HUNGATE, R. E., The Rumen and Its Microbes. 1st ed. 266-272. Academic Pres. New York and London. 1966.
- 65) BLAXTER, K. L., The Energy Metabolism of Ruminants. 1st ed. 185-216. Hutchinson, London. 1962.
- 66) HOUP, T. R., Am. J. Vet. Res., **29**: 411-419. 1968.
- 67) DEMEYER, D. I. and C. J. VAN NEVEL, in Digestion and Metabolism in the Ruminant (McDONALD, I. W. and A. C. I. WARNER, eds.) 366-398. Univ. of New England Publishing Unit. Armidale, Australia. 1975.
- 68) ARMSTRONG, D. G., in Physiology of Digestion in the Ruminant (DOUGHERTY, R. M., ed.) 272-288. Butterworths, Washington. 1965.
- 69) ANNISON, E. F., in Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant (PHILLIPSON, A. T., ed.) 422-437. Oriel Press. Newcastle upon Tyne, England. 1970.
- 70) LINDSEY, D. B., in Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant (PHILLIPSON, A. T., ed.) 438-451. Oriel Press. Newcastle upon Tyne, England. 1970.
- 71) TOVE, S. B., in Physiology of Digestion in the Ruminant (DOUGHERTY, R. W., ed.) 399-410. Butterworths. Washington. 1965.
- 72) KEENEY, M., in Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant (PHILLIPSON, A. T., ed.) 489-503. Oriel Press. Newcastle upon Tyne, England. 1970.
- 73) BLACK, J. L., Br. J. Nutr., **25**: 31-55. 1971.
- 74) GRAINGER, R. B., M. C. BELL, J. W. STROUD and F. H. BAKER, J. Anim. Sci., **20**: 319-322. 1961.
- 75) BRADLEY, N. W., B. M. JONES, Jr., G. E. MITCHELL, Jr. and C. O. LITTLE, J. Anim. Sci., **25**: 480-483. 1966.
- 76) RICHARDSON, L. F., A. P. RAUM, E. L. POTTER, C. O. COOLEY and R. P. RATHMACHER, J. Anim. Sci., **43**: 657-669. 1976.
- 77) RAUM, A. P., C. O. COOLEY, E. L. POTTER, R. P. RATHMACHER and L. F. RICHARDSON, J. Anim. Sci., **43**: 670-677. 1976.
- 78) CZERKAWSKI, J. W. and G. BRECKENRIDGE, Br. J. Nutr., **34**: 429-446. 1975.
- 79) CZERKAWSKI, J. W. and G. BRECKENRIDGE, Br. J. Nutr., **34**: 447-457. 1975.
- 80) MCGILLARD, A. D., J. Am. Oil Chem. Soc., **49**: 57-62. 1972.
- 81) BRODERICK, G. A., in Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds part 2. (FRIEDMAN, M., ed.) 211-259. Marcel Decker, Inc. New York. 1975.
- 82) FERGUSON, K. A., in Digestion and Metabolism in the Ruminant (McDONALD, I. W. and A. C. I. WARNER, eds.) 448-465. Univ. of New England Publishing Unit. Armidale, Australia. 1975.
- 83) BLACK, J. L. and D. E. TRIBE, Aust. J. Agr. Res., **24**: 763-773. 1973.
- 84) NEUDOERFFER, T. S., D. B. UUNCAN and F. D. HORNEY, Br. J. Nutr., **25**: 333-341. 1971.
- 85) MOWAT, D. N. and K. DEELSTRA, J. Anim. Sci., **34**: 332-335. 1972.
- 86) TAGARI, H., I. ASCARELLI and A. BONDI, Br. J. Nutr., **16**: 237-243. 1962.
- 87) PETER, A. P., E. E. HATFIELD, F. N. OWENS and U. S. GARRIGUS, J. Nutr., **101**: 605-611. 1971.
- 88) FAICHNEY, G. J., Aust. J. Agr. Res., **25**: 583-598. 1974.
- 89) SCHMIDT, S. P., N. J. BENEVENGA and N. A. JORGENSEN, J. Anim. Sci., **37**: 1238-1245. 1973.
- 90) ØRSKOV, E. R., D. BENZIE and R. N. B. KAY, Br. J. Nutr., **24**: 785-795. 1970.
- 91) LAWLOR, M. J. and S. P. HOPKINS, Br. J. Nutr., **26**: 439-448. 1971.
- 92) ABE, M. and T. IRIKI, Br. J. Nutr., **41**: 171-181. 1979.
- 93) 阿部又信, 家畜栄養生理研報, **23**: 41-55. 1979.
- 94) EGAN, A. R. and R. J. MOIR, Aust. J. Agr. Res., **16**: 437-449. 1965.
- 95) VIK-MO, L., J. T. HUBER, W. G. BERGEN, R. E. LICHTENWALNER and R. S. EMERY, J. Dairy Sci., **57**: 1024-1030. 1974.
- 96) BRODERICK, G. A., T. KOWALCZYK and L. D. SATTER, J. Dairy Sci., **53**: 1714-1721. 1970.
- 97) POTTER, E. L. and W. G. BERGEN, J. Anim. Sci., **39**: 775-779. 1974.
- 98) FUJIHARA, T., T. FURUHASHI and I. TASAKI, Jap. J. Zootech. Sci., **50**: 479-487. 1979.
- 99) LINZELL, J. L. and T. B. MEFHAN, J. Dairy Sci., **41**: 104-109. 1974.
- 100) HALL, G. A. B., HATFIELD, E. E. and F. N. OWENS, J. Anim. Sci., **38**: 124-132. 1974.
- 101) ØRSKOV, E. R., World Congr. Anim. Feeding, vol. 1. 627-640. 1972.
- 102) SCOTT, T. W. and L. J. COOK, in Digestion and Metabolism in the Ruminant (McDONALD, I. W. and A. C. I. WARNER, eds.) 510-523. Univ. of New England Publishing Unit. Armidale, Australia. 1975.
- 103) MILLER, W. J., Dairy Cattle Feeding and Nutrition. 1st ed. 39-61. Academic Press. New York, San Francisco and London. 1979.
- 104) CLIFFORD, A. J. and A. D. TILLMAN, J. Anim. Sci., **27**: 484-489. 1968.
- 105) ABE, M., H. SHIBUI and T. IRIKI, Jap. J. Zootech. Sci., **47**: 748-755. 1976.
- 106) VIRTANEN, A. I., Science, **153**: 1603-1614. 1966.
- 107) SCHELLING, G. T. and E. E. HATFIELD, J. Nutr.,

- 96: 319-326. 1968.
- 108) NIMRICK, K., E. E. HATFIELD, J. KAMINSKI and F. N. OWENS, *J. Nutr.*, **100**: 1293-1300. 1970.
- 109) NIMRICK, K., E. E. HATFIELD, J. KAMINSKI and F. N. OWENS, *J. Nutr.*, **100**: 1301-1306. 1970.
- 110) BIEZENSKI, J. J., J. CARROZZA and J. Li, *Biochim. Biophys. Acta*, **239**: 92-97. 1971.
- 111) ØRSKOV, E. R. and C. FRASER, *Anim. Prod.*, **12**: 367-368. 1970.
- 112) SCHELLING, G. T., J. E. CHANDLER and G. C. SCOTT, *J. Anim. Sci.*, **37**: 1034-1039. 1973.
- 113) EGAN, A. R., *Aust. J. Agr. Res.*, **21**: 85-94. 1970.
- 114) JOHNSON, D. E., *J. Nutr.*, **102**: 1093-1100. 1972.
- 115) PAPAS, A., G. A. B. HALL, E. E. HATFIELD and F. N. OWENS, *J. Nutr.*, **104**: 653-659. 1974.
- 116) ØRSKOV, E. R., C. FRASER and E. L. CORSE, *Br. J. Nutr.*, **24**: 803-809. 1970.
- 117) ØRSKOV, E. R., C. FRASER, I. McDONALD and R. I. SMART, *Br. J. Nutr.*, **31**: 89-98. 1974.
- 118) REIS, P. J. and D. A. TANKS, *Aust. J. Agr. Res.*, **20**: 775-781. 1969.
- 119) LITTLE, C. O. and G. E. MITCHELL, Jr., *J. Anim. Sci.*, **26**: 411-413. 1967.
- 120) WRIGHT, P. L., *J. Anim. Sci.*, **33**: 137-141. 1971.
- 121) CLINE, T. R., U. S. GARRIGUS, and E. E. HATFIELD, *J. Anim. Sci.*, **25**: 734-743. 1966.
- 122) POTTER, G. D., C. O. LITTLE and G. E. MITCHELL, *J. Anim. Sci.*, **28**: 711-713. 1969.
- 123) 阿部又信・渋井仁志・入来常德, *日畜会報*, **46**: 621-629. 1975.
- 124) BERGEN, W. G., H. A. HENNEMAN and W. T. MAGEE, *J. Nutr.*, **103**: 575-585. 1973.
- 125) BERGEN, W. G. and E. L. POTTER, *J. Anim. Sci.*, **40**: 789-794. 1975.
- 126) CROSS, D. L., R. J. RUDWICK, J. A. BOLLING and N. W. BRADLEY, *J. Anim. Sci.*, **38**: 404-409. 1974.
- 127) YOUNG, A. W., J. A. BOLLING and N. W. BRADLEY, *J. Anim. Sci.*, **36**: 803-808. 1973.
- 128) BURRIS, W. R., N. W. BRADLEY and J. A. BOLLING, *J. Anim. Sci.*, **40**: 714-719. 1975.
- 129) LEIBHOLZ, J., *Aust. J. Agr. Res.*, **26**: 1081-1091. 1975.
- 130) BURRIS, W. R., J. A. BOLLING, N. W. BRADLEY, A. W. YOUNG, *J. Anim. Sci.*, **42**: 699-705. 1976.
- 131) BOILA, R. J. and T. J. DEVLIN, *J. Anim. Sci.*, **24**: 878. 1965.
- 132) IRIKI, T., H. SHIBUI and M. ABE, *Jap. J. Zootech. Sci.*, **48**: 748-756. 1977.
- 133) CLARK, J. H., *J. Dairy Sci.*, **58**: 1178-1197. 1975.
- 134) DERRING, R. G., J. H. CLARK and C. L. DAVIS, *J. Nutr.*, **104**: 151-159. 1974.
- 135) VIK-MO, L., R. S. EMERY and J. T. HUBER, *J. Dairy Sci.*, **57**: 869-877. 1974.
- 136) BRODERICK, G. A., L. D. SATTER and A. E. HARPER, *J. Dairy Sci.*, **57**: 1015-1023. 1974.
- 137) SCHWAB, C. G., L. D. SATTER and A. B. CLAY, *J. Dairy Sci.*, **59**: 1254-1269. 1976.
- 138) FISHER, L. J., *Can. J. Anim. Sci.*, **52**: 377-384. 1972.
- 139) WILLIAMS, L. R., F. A. MARTZ and E. S. HILDEBRAND, *J. Dairy Sci.*, **53**: 1709-1713. 1970.
- 140) ABE, M., H. SHIBUI, T. IRIKI, K. KONDOH and T. KAWAI, *Br. J. Nutr.*, **39**: 469-482. 1978.
- 141) ØRSKOV, E. R., C. FRASER and R. N. B. KAY, *Br. J. Nutr.*, **23**: 217-226. 1969.
- 142) ØRSKOV, E. R., C. FRASER, V. C. MASON and S. O. MANN, *Br. J. Nutr.*, **24**: 671-682. 1970.
- 143) ØRSKOV, E. R., C. FRASER and I. McDONALD, *Br. J. Nutr.*, **26**: 477-486. 1971.
- 144) ABE, M., T. IRIKI, H. SHIBUI and K. KONDOH, *Jap. J. Zootech. Sci.*, **49**: 889-897. 1978.
- 145) PACKETT, L. V., L. L. MAYERS and H. D. JACKSON, *J. Anim. Sci.*, **25**: 402-405. 1966.
- 146) FAICHNEY, G. T., *Aust. J. Agr. Res.*, **20**: 491-498. 1969.
- 147) ULYATT, M. J., D. W. DELLOW, C. S. W. REID and T. BAUCHOP, in *Digestion and Metabolism in the Ruminant* (McDONALD, I. W. and A. C. I. WARNER, eds.) 119-133. Univ. of New England Publishing Unit. Armidale, Australia. 1975.
- 148) HECKER, J. F., *Br. J. Nutr.*, **26**: 135-145. 1971.
- 149) HUBER, J. T., N. L. JACOBSON, A. D. MCGILLIARD and R. S. ALLEN, *J. Dairy Sci.*, **44**: 321-330. 1961.
- 150) HUBER, J. T., S. NATRAJAN and C. E. POLAN, *J. Dairy Sci.*, **50**: 1161-1163. 1967.
- 151) WHEELER, W. E., *Feed Management*, **29**: 38-43. 1978.
- 152) HOELSCHER, M. A., *Feedstuffs*, **50** (20): 34. 1978.
- 153) TAYLOR, R. B., *Res. Vet. Sci.*, **3**: 63-77. 1962.
- 154) BEN-GHEDALIA, D., H. TAGARI and A. BONDI, *Br. J. Nutr.*, **31**: 125-142. 1974.
- 155) BERGEN, W., *Fedn. Proc.*, **37**: 1223-1227. 1978.
- 156) MAYERS, R. W. and E. R. ØRSKOV, *Proc. Nutr. Soc.*, **31**: 64A-65A. 1972.
- 157) ØRSKOV, E. R., R. W. MAYERS and S. O. MANN, *Br. J. Nutr.*, **28**: 425-432. 1972.
- 158) ØRSKOV, E. R., R. W. MAYERS and A. PENN, *Proc. Nutr. Soc.*, **30**: 43A-44A. 1971.
- 159) DAWSON, R. M. C. and P. KEMP, in *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant* (CHILLIPSON, A. T., ed.) 504-518. Oriel Press, Newcastle upon Tyne, England. 1970.
- 160) SCOTT, T. W., L. J. COOK, K. A. FERGUSON, I.

- W. McDONALD, R. A. BUCHANAN and G. L. HILLS, *Aust. J. Sci.*, **32**: 291-293. 1970.
- 161) ASTRUP, H. N., L. VIK-MO, A. EKERN and F. BAKKE, *J. Dairy Sci.*, **59**: 426-430. 1976.
- 162) 阿部又信・山本嘉博・上原良吾・荻原国威・佐藤民雄, *日畜会報*, **47**: 639-647. 1976.
- 163) McLEOD, G. K., Y. YU and L. R. SCHAEFFER, *J. Dairy Sci.*, **60**: 739-747. 1977.
- 164) GOERING, H. K., T. R. WRENN, L. F. EDMONDSON, J. R. WEYANT, D. L. WOOD and J. BITMAN, *J. Dairy Sci.*, **60**: 739-747. 1977.
- 165) VAMAN, P. N., L. H. SCHULTZ and R. E. NICKELS, *J. Dairy Sci.*, **51**: 1956-1963. 1968.
- 166) EDMONDSON, L. F., R. A. YONCOSKIE, N. H. RAINEY, F. W. DOUGLUS and J. BITMAN, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **51**: 72-76. 1974.
- 167) SIDHU, G. S., M. A. BROWN and A. R. JOHNSON, *J. Dairy Res.*, **42**: 185-195. 1975.
- 168) MILLER, W. J., *Dairy Cattle Feeding and Nutrition*, 1st ed. 204-212. Academic Press. New York, San Fransisco and London. 1979.
- 169) MCCARTON, M. M., Z. L. CARPENTER and D. HUSTCHESON, *J. Dairy Sci.*, **48**: 1057-1064. 1979.
- 170) STORRY, J. E., A. J. HALL and V. W. JOHNSON, *J. Dairy Res.*, **40**: 293-299. 1973.
- 171) SHARMA, H. R., J. R. INGALLS and J. A. MICKIRDY, *J. Dairy Sci.*, **61**: 574-583. 1978.
- 172) SMITH, N. E., W. L. DUNKLEY and A. A. FRANK, *J. Dairy Sci.*, **61**: 747-756. 1978.
- 173) ØRSKOV, E. R., C. FRASER and E. L. CORSE, *Proc. Nutr. Soc.*, **30**: 25A. 1971.
- 174) 須藤 浩, 鶏の栄養と生理. 第1版. 283-297. 鶏友社. 名古屋市. 1969.
- 175) HILL, R., J. M. LINASASORO, F. CHEVALLIE and I. L. CHAIKOFF, *J. Biol. Chem.*, **233**: 305-310. 1958.
- 176) MUKHARJEE, S. and R. B. ALFIN-STER, *Arch. Biochem. Biophys.*, **73**: 359-365. 1958.
- 177) BALLARD, F. J., R. W. HAMSON and D. S. KRONFELD, *Fedn. Proc.*, **28**: 218-231. 1969.
- 178) MARTIN, R. J., L. L. WILSON, R. L. COWAN and J. D. SINK, *J. Anim. Sci.*, **36**: 101-106. 1973.
- 179) BURROUGHS, W., D. K. NELSON and X. P. MERTENS, *J. Dairy Sci.*, **58**: 611-619. 1975.
- 180) WOHLT, J. E., C. J. SNIFFEN, W. H. HOOVER, L. L. JOHNSON and C. K. WALKER, *J. Anim. Sci.*, **42**: 1280-1289. 1976.
- 181) MACGREGOR, C. A., C. T. SNIFFEN and W. H. HOOVER, *J. Dairy Sci.*, **61**: 566-573. 1978.
- 182) DINIUS, D. A., M. E. SIMPSON and P. B. MARSH, *J. Anim. Sci.*, **42**: 229-234. 1976.
- 183) RICHARDSON, L. F., A. P. RAUM, E. L. POTTER, C. O. COOLEY and R. P. RATHMACHER, *J. Anim. Sci.*, **43**: 657-664. 1976.
- 184) POOLS, M. I., T. L. HANSON and T. J. KLOPFENSTEIN, *J. Anim. Sci.*, **48**: 1516-1524. 1979.