



アルファルファおよびコーンサイレージ給与割合の違いが去勢牛の十二指腸への窒素移行量に及ぼす影響

その他（別言語等）のタイトル	Effect of Replacing Alfalfa Silage with Corn Silage on the Doudenal Nitrogen Flows of Steers
著者	川島 千帆, 木村 文香, 花田 正明, 河合 正人, 岡本 明治
雑誌名	北海道畜産学会報
巻	43
ページ	57-62
発行年	2001-03
URL	http://id.nii.ac.jp/1588/00000176/

原 著

アルファルファおよびコーンサイレージ給与割合の違いが
去勢牛の十二指腸への窒素移行量に及ぼす影響

川島 千帆・木村 文香・花田 正明・河合 正人・岡本 明治

帯広畜産大学, 帯広市 080-8555

Effect of Replacing Alfalfa Silage with Corn Silage on the
Duodenal Nitrogen Flows of Steers

Chiho KAWASHIMA, Ayaka KIMURA, Masaaki HANADA, Masahito KAWAI and Meiji OKAMOTO

Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine,
Obihiro-shi 080-8555キーワード : アルファルファサイレージ, コーンサイレージ, 分解性タンパク質, 非構造的炭水化物, 十二指腸
への窒素移行量Key words : alfalfa silage, corn silage, degradable intake protein, non-structural carbohydrate, duodenal
nitrogen flows

Abstract

The objective was to evaluate the effect of the ratio of degradable intake protein (DIP) to non-structural carbohydrate (NSC) on the nitrogen flows to duodenum of steers by replacement alfalfa silage with corn silage. Six Holstein steers fitted with ruminal and duodenal cannulae were divided into two 3 x 3 Latin squares with 20d periods. In the first Latin square, the steers were fed three diets contained (dry matter basis): 1) 100% alfalfa silage (AS100), 2) 80% alfalfa silage, 20% corn silage (AS80), or 3) 60% alfalfa silage, 40% corn silage (AS60). In the another Latin square, the steers were fed three diets contained (dry matter basis): 1) 40% alfalfa silage, 60% corn silage (AS40), 2) 20% alfalfa silage, 80% corn silage (AS20) or 100% corn silage (AS0). The ratio of DIP to NSC in the diet was ranged from 0.49 of AS100 to 0.16 of AS0. There were linear decreases of CP and DIP intake with the increase of the proportion of corn silage in the diet, but NSC intake was not affected by the replacement with corn silage. The decrease of the ratio of DIP intake to NSC intake by the replacement with corn silage caused the decrease of nitrogen absorption from the rumen and the improvement on the efficiency of microbial nitrogen synthesis from DIP. However, the total nitrogen flow to duodenum tended to be decreased and the microbial nitrogen flow to the duodenum was not improved by the replacement with corn silage. The ammonium nitrogen concentration in the ruminal fluid was lower than 5.0 mg/dl and the NDF digestibility in the rumen decreased when the steers fed AS20 and AS0. These results indicated that the replacement alfalfa silage with corn silage improved the efficiency of nitrogen utilization in the rumen, however, higher proportion of corn silage caused nitrogen deficiency for ruminal digestion.

要 約

アルファルファサイレージとコーンサイレージの給与割合を変え、非構造的炭水化物 (NSC) 摂取量に対

する分解性タンパク質 (DIP) 摂取量の割合が、去勢牛の十二指腸への窒素 (N) 移行量に及ぼす影響について検討した。反芻胃および十二指腸カニューレを装着したホルスタイン種去勢牛6頭を1期20日間の2つの3×3のラテン方格に割り当てた。1つめのラテン方格では、3頭の去勢牛にアルファルファサイレージ

とコーンサイレージを乾物混合比で 1) 100 : 0 (AS 100 区), 2) 80 : 20 (AS 80 区), 3) 60 : 40 (AS 60 区) の割合で, もう 1 つのラテン方格では, 1) 40 : 60 (AS 40 区), 2) 20 : 80 (AS 20 区), 3) 0 : 100 (AS 0 区) の割合で給与した。飼料中の NSC に対する DIP の割合は, AS 100 区の 0.49 から AS 0 区の 0.16 の範囲であった。アルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高めると N および DIP 摂取量は減少したが, NSC 摂取量は飼料中のコーンサイレージの給与割合を高めても変わらなかった。NSC 摂取量に対する DIP 摂取量の割合の減少は, 反芻胃からの N 吸収量の減少と DIP の微生物態 N への転換効率を改善させた。しかし, アルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高めても, 十二指腸への全 N 移行量は減少する傾向がみられ, 十二指腸への微生物態 N 移行量は増加しなかった。AS 20 区と AS 0 区において, 反芻胃内容液中のアンモニア態 N 濃度は 5.0 mg/dl よりも低くなり, 反芻胃内での NDF 消化率は他の処理区よりも低かった。これらの結果, アルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高めることは, 反芻胃内での N 利用効率を改善したが, コーンサイレージの給与割合を一定以上に高めると反芻胃内での N 不足を引き起こすと考えられた。

緒 言

近年, 品種改良により北海道に適応したアルファルファの栽培が行われてきている。アルファルファは, 粗飼料の中でも採食量が多くタンパク質やカルシウムなどのミネラルを豊富に含んでいるおり, 飼料価値が高いといわれている。したがってアルファルファサイレージはこれからの北海道で重要な粗飼料になると考えられる。アルファルファは粗飼料の中でもタンパク質含量が多いが, 反芻胃内で微生物によって分解される分解性タンパク質 (DIP) が高いため, 反芻胃から吸収される N 量が多いといわれている (PELTEKOVA and BRODERICK, 1996)。DIP 含量の高い粗飼料に非構造化炭水化物 (NSC) 源として濃厚飼料を給与することにより, 反芻胃内での微生物態 N 合成量を高めることが可能であることが報告されている (MABJEESH *et al.*, 1997)。これらのことから, アルファルファサイレージ給与時において NSC を供給することにより反芻胃内における微生物態 N 合成量が高まり, アルファルファサイレージの N 利用性を改善できると考えられる。しかし, アルファルファサイレージに NSC 源として粗飼料を用い, 微生物態 N 合成について調べた実験報告は少ない。

そこで本試験ではアルファルファサイレージに NSC 源としてコーンサイレージを異なる割合で混合給与し, NSC に対する DIP 割合と微生物態 N 合成量

および十二指腸への N 移行量との関係を検討した。

材料と方法

供試家畜は反芻胃および十二指腸カニューレ装着ホルスタイン種去勢牛 6 頭を用いた (平均体重 321 kg)。十二指腸カニューレは直径 19.5 mm のポリエチレン製 T 型カニューレを用いた。供試飼料は帯広畜産大学附属農場で生産された 4 番草のアルファルファを用いて調製したサイレージと, 糊熟期に収穫し約 2 cm に切断して調製したコーンサイレージとした。給与飼料のアルファルファサイレージとコーンサイレージの給与割合は乾物混合比で AS 100 区では 100 : 0, AS 80 区では 80 : 20, AS 60 区では 60 : 40, AS 40 区では 40 : 60, AS 20 区では 20 : 80, AS 0 区では 0 : 100 と設定し, AS 100 区, AS 80 区, AS 60 区と AS 40 区, AS 20 区, AS 0 区でそれぞれ 3 × 3 のラテン方格法に基づいて給与した。飼料の給与量は 1995 年日本飼養標準「肉牛」に示されている乳用去勢牛の TDN 維持要求量とし, 飼料は 1 日 2 回に分け 8 : 00 と 18 : 00 に給与した。水およびミネラルブロックは自由摂取させた。また, 十二指腸への乾物移行量を推定するために, 乾物給与量の約 0.1% の酸化クロムを 1 日 2 回に分け, 各飼料給与時に反芻胃へ投与した。

試験期間は 1 期 20 日間とした。14~17 日目に給与飼料と残食を採取し, 十二指腸内容物は 18 日目の 1000, 1400, 1800, 2200, 19 日目の 0200, 0600, 0800, 1200, 1600, 2000, 20 日目の 0000, 0400 に十二指腸カニューレより採取した。各採取時間につき各個体から約 200 ml の内容物を採取し, アンモニア態 N 分析用に 20 g, その他の分析用は 150 g 取り分けてそれぞれ分析まで冷凍保存した。なお, アンモニア態 N 分析用に採取した試料には採取時に 50% 硫酸を 2, 3 滴添加した。反芻胃内容液は 20 日目の 0800, 0930, 1100, 1230, 1400, 1800 に吸引ポンプにより 100 ml 採取し, 4 枚重ねのガーゼで濾し 50% の硫酸を 1 ml 入れ, アンモニア態 N の分析まで冷凍保存した。このとき同時に静脈血を真空採血管を用いて採取し, 38℃ で 30 分間保温した後, 4℃, 3500 rpm で 15 分間遠心分離し, 血清を採取し分析まで冷凍保存した。

給与飼料および残食の化学成分はそれぞれ以下の方法で測定した。水分含量は乾物で約 15 g の試料を一晩冷凍した後, 12 時間凍結乾燥器で凍結乾燥させ, 再び一晩冷凍した後 15 時間凍結乾燥器で凍結乾燥させた後に重量を測定して求めた。粗灰分 (ASH) および粗脂肪 (CFAT) は常法 (森本, 1971), N はケルダール法 (森本, 1971), 中性デタージェント繊維 (NDF) および中性デタージェント液に不溶な N (NDIN) は VAN SOEST の方法 (VAN SOEST *et al.*, 1991) によりそれぞれ分析した。NSC は以上の分析結果から STERN *et al.* (1994) の方法を一部修正した下記の式

を用いて算出した。

$$NSC = OM - (CFAT + CP + NDF - NDIP)$$

DIP は飼料成分の CP から NDIP を差し引いて算出し (RUSSELL and HESPELL, 1981), これを DIP (*in vitro*) とした。

$$DIP (in vitro) = CP - NDIP$$

これに対し、十二指腸への N 移行量などから下記の式より算出した DIP を DIP (*in vivo*) とした。

$$DIP (in vivo) \text{ 摂取量} = N \text{ 摂取量} - (\text{十二指腸への非アンモニア態 N (NAN) 移行量} - \text{十二指腸への微生物態 N 移行量})$$

十二指腸内容物は凍結乾燥後、乾物、N を飼料の化学成分と同様の方法、酸化クロムはリン酸カリ試薬法 (森本, 1971), プリンは比色法 (ZINN and OWENS, 1986) によって分析した。十二指腸内容物のアンモニア態 N は除タンパク直接比較法 (斎藤ら, 1979) により分析した。十二指腸への乾物移行量および微生物態 N 移行量は以下の式より算出した。

$$\text{十二指腸への乾物移行量} =$$

$$1 \text{ 日の酸化クロム投与量} \div \text{十二指腸内容物中の酸化クロム濃度}$$

$$\text{十二指腸への微生物 N 移行量} =$$

$$\text{反芻胃内微生物態 N 含量} \div \text{反芻胃内微生物プリン含量}$$

$$\times \text{十二指腸へのプリン移行量}$$

反芻胃内容液のアンモニア態 N は十二指腸内容物と同様の方法で分析し、血清中の尿素態窒素はジアセチルモノオキシム法 (尿素 N-テストワコー, 278-04801, 和光純薬工業株式会社) により分析した。反芻胃内微生物は SMITH and MCALLAN (1974) の方法により反芻胃内容液から遠心分離し、凍結乾燥後、微生物態 N と微生物中のプリンを十二指腸内容物と同様の方法で測定した。

結果および考察

供試飼料の化学成分含量および NSC 含量に対する DIP 含量の割合を表 1 に示した。供試飼料の N 含量は 3.5 から 1.5% の範囲であり、アルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を増加させることにより低下した。飼料成分から算出した DIP (*in vitro*) も供試飼料の N 含量と同様にアルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高めることで低下し、19.2 から 7.9% の範囲であった。供試したアルファルファサイレージの原料草は 4 番草であり、草丈 30 cm, 再生期間が 46 日間と短かったため、一般的なアルファルファサイレージの NDF 含量よりもかなり低く、供試したコーンサイレージよりも NDF 含量は少なかった。このため、供試飼料の NDF 含量は AS 100 区の 25.3% から AS 0 区の 32.5% とアルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高めることにより増加した。また、NSC 含量はコーンサイレージの給与割合を増やすことにより 39.1 から 50.8% と増加し、その結果、NSC 含量に対する DIP (*in vitro*) 含量の割合は、AS 100 区の 0.49 から AS 0 区の 0.16 と低下した。

代謝体重当たりの乾物、OM、N、DIP、NSC 摂取量および NSC 摂取量に対する DIP (*in vitro*) 摂取量の割合を表 2 に示した。飼料給与量を TDN 維持要求量でそろえたため、アルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合の増加に伴い乾物および OM 摂取量は低下した。N および DIP (*in vitro*) 摂取量はアルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高めることで低下し、N 摂取量は AS 100 区の 2.7 g/MBS/日 から AS 0 区の 0.9 g/MBS/日、DIP (*in vitro*) 摂取量は AS 100 区の 14.4 g/MBS/日 から 4.9 g/MBS/日の値を示した。NDF および NSC 摂取量はアルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高めても変わらな

Table 1 Chemical composition of experimental feed (%).

	Latin square 1				Latin square 2			Difference between squares
	AS100	AS80	AS60		AS40	AS20	AS0	
DM	41.0 ^a	39.2 ^b	37.4 ^c	%FM	35.1 ^x	33.2 ^y	31.2 ^z	P<0.05
				%DM	91.7 ^z	93.5 ^y	95.4 ^x	P<0.05
OM	86.3 ^c	88.0 ^b	89.8 ^a		2.3 ^x	1.9 ^y	1.5 ^z	P<0.05
N	3.5 ^a	3.1 ^b	2.7 ^c		12.5 ^x	10.2 ^y	7.9 ^z	P<0.05
DIP (<i>in vitro</i>)	19.2 ^a	16.9 ^b	14.7 ^c		29.7 ^z	31.0 ^y	32.5 ^x	P<0.05
NDF	25.3 ^c	26.6 ^b	27.9 ^a		46.0 ^z	48.4 ^y	50.8 ^x	P<0.05
NSC	39.1 ^c	41.5 ^b	44.0 ^a	%/%	0.27 ^x	0.21 ^y	0.16 ^z	P<0.05
DIP (<i>in vitro</i>)/NSC	0.49 ^a	0.41 ^b	0.33 ^c					

$$DIP (in vitro) = CP - NDIP$$

a, b, c: Means on the same line with different superscripts are significantly different (P<0.05)

x, y, z: Means on the same line with different superscripts are significantly different (P<0.05)

Table 2 DM, OM, N, DIP, NDF, NSC intake (g/MBS/d) and the ratio of DIP intake to NSC intake.

	Latin square 1			Latin square 2			Difference between squares
	AS100	AS80	AS60	AS40	AS20	AS0	
	g/MBS/d						
DM	75.2	72.6	70.1	65.7	64.9	61.6	P<0.05
OM	64.8	63.9	62.9	60.2	60.7	58.7	P<0.05
N	2.7 ^a	2.3 ^{ab}	1.9 ^b	1.5 ^x	1.2 ^{xy}	0.9 ^y	P<0.05
DIP (<i>in vitro</i>)	14.4 ^a	12.3 ^{ab}	10.3 ^b	8.2 ^x	6.6 ^{xy}	4.9 ^y	P<0.05
NDF	19.0	19.3	19.6	19.5	20.2	20.0	NS
NSC	29.4	30.2	30.9	30.2	31.4	31.3	NS
	g/g						
DIP (<i>in vitro</i>)/NSC	0.49 ^a	0.41 ^b	0.33 ^c	0.27 ^x	0.21 ^y	0.16 ^z	P<0.05

DIP (*in vitro*)=CP-NDIP

a, b, c: Means on the same line with different superscripts are significantly different (P<0.05)

x, y, z: Means on the same line with different superscripts are significantly different (P<0.05)

NS: no significance (P>0.05)

Table 3 DIP (*in vivo*) intake, the ratio of DIP (*in vivo*) intake to NSC intake and duodenal total nitrogen, non-ammonium nitrogen, microbial nitrogen flows.

	Latin square 1			Latin square 2			Difference between squares	
	AS100	AS80	AS60	AS40	AS20	AS0		
	g/MBS/d							
DIP (<i>in vivo</i>)	10.4	9.2	7.0	5.6	3.0	2.8	P<0.05	
	g/g							
DIP (<i>in vivo</i>)/NSC	0.35	0.31	0.23	0.19 ^x	0.10 ^y	0.09 ^y	P<0.05	
	g/MBS/d							
Doudenal flows	total N	1.78	1.46	1.37	1.33	1.29	1.17	NS
	NAN	1.57	1.26	1.24	1.24	1.23	1.13	NS
	microbial N	0.58	0.46	0.45	0.63	0.48	0.67	NS

DIP (*in vivo*)=nitrogen intake-(duodenal non-ammonium nitrogen flow-duodenal microbial nitrogen flow)

x, y: Means on the same line with different superscripts are significantly different(P<0.05)

NS: no significance (P>0.05)

かった。その結果、NSC 摂取量に対する DIP (*in vitro*) 摂取量の割合は、アルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高めることで低下した。

DIP (*in vivo*) 摂取量、NSC 摂取量に対する DIP (*in vivo*) 摂取量の割合および十二指腸への全 N、NAN、微生物態 N 移行量を表 3 に示した。飼料成分から算出した DIP (*in vitro*) と十二指腸への移行量から算出した DIP (*in vivo*) 摂取量を比較すると、DIP (*in vivo*) 摂取量は AS 100 区の 10.4 g/MBS/日 から AS 0 区の 2.8 g/MBS/日 と DIP (*in vitro*) 摂取量に比べかなり低い値を示し、NSC 摂取量に対する DIP (*in vivo*) 摂取量の割合も AS 100 区の 0.35 から AS 0 区の 0.09 と、NSC 摂取量に対する DIP (*in vitro*) 摂取量の割合との間に大きな差があった。このことから、RUSSELL and HESPELL (1981) の方法では DIP を過大評価する可能性が高く、今後 DIP 評価法についての再検討が必要であると考えられた。十二指腸への全 N および NAN 移行量は AS 100 区で最も多く、コーンサイレージを加えた他の区よりも高い傾向がみられ、アルファルファサイレージに対するコーンサイレージ

の給与割合を高めても全 N、NAN の十二指腸への移行量は増加しなかった。また、十二指腸への微生物態 N 移行量はアルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高めても増加しなかった。

図 1 に NSC 摂取量に対する DIP (*in vivo*) 摂取量

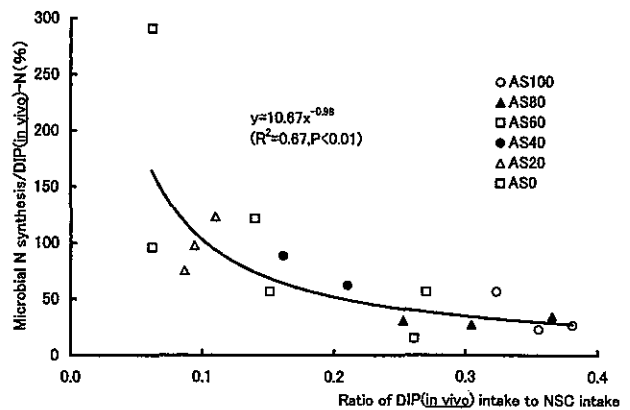


Figure. 1 Relationship between the ratio of DIP intake to NSC intake and the efficiency of microbial nitrogen synthesis from DIP (*in vivo*)-N.

の割合と DIP (*in vivo*)-N 摂取量の微生物態 N への転換効率との関係を示した。DIP (*in vivo*) 摂取量に対する微生物態 N 合成量は、NSC 摂取量に対する DIP (*in vivo*) 摂取量の割合が小さくなるにつれ増加し、アルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高めることにより、DIP の微生物態 N への転換効率は高まり、DIP の利用性は改善すると考えられた。

これらのことからアルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高めると、DIP の微生物態 N への転換効率は高まり、反芻胃での DIP の利用性は改善されたが、十二指腸への微生物態 N 移行量は増加せず、期待どおりの結果とならなかった。

表 4 に反芻胃からの N 吸収量、反芻胃内での NDF 消化率および反芻胃内と血液の性状を示した。反芻胃からの N 吸収量は、AS 100 区で 0.88 g/MBS/日であったがアルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を増加させることにより少なくなり、AS 20 区と AS 0 区でそれぞれ -0.06, -0.27 g/MBS/日と負の値を示した。反芻胃内容液中アンモニア態 N 濃度と血清中尿素態 N 濃度も、アルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を増加させることで低くなった。特にコーンサイレージの給与割合を高めた AS 20 区と AS 0 区では反芻胃内容液中のアンモニア態 N 濃度が 2.5 mg/dl 付近の値を示し、微生物 N 合成が抑制されるといわれている 5 mg/dl (SATTER and SLYTER, 1974) よりもかなり低い値となった。また、血清中尿素態 N 濃度も 10 mg/dl 以下と低い値であった。これらのことから反芻胃内における NDF 消化率が、AS 20 区と AS 0 区で他の処理区よりも低くなったのは、反芻胃内への DIP 供給の不足によるものと考えられた。

図 2 に NSC 摂取量に対する DIP (*in vivo*) 摂取量

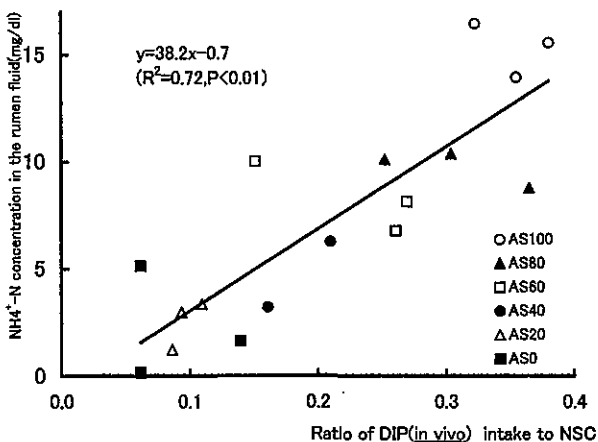


Figure. 2 Relationship between the ratio of DIP (*in vivo*) intake to NSC intake and ammonium nitrogen concentration in the rumen fluid.

の割合と反芻胃内容液中アンモニア態 N 濃度との関係を示した。反芻胃内容液中アンモニア態 N 濃度は NSC 摂取量に対する DIP (*in vivo*) 摂取量の割合を小さくすると低下し、その比を 0.15 より下げるとアンモニア態窒素濃度は 5 mg/dl 以下となった。したがって、NSC 摂取量に対する DIP (*in vivo*) 摂取量の割合を 0.15 以下にすると反芻胃への DIP 供給不足を引き起こし、微生物態 N 合成に影響を及ぼすと考えられた。

アルファルファサイレージに対するコーンサイレージの給与割合を高め、NSC 摂取量に対する DIP (*in vivo*) 摂取量の割合を小さくすると、DIP の微生物態 N への転換効率は増加し、DIP の利用性は改善されると考えられたが、NSC 摂取量に対する DIP (*in vivo*) 摂取量の割合を小さくしても十二指腸への微生物態 N 移行量は増加しなかった。この原因として、十二指腸への N 移行量などから測定した DIP (*in vivo*) は RUSSELL and HESPELL (1981) の方法の飼料成分から算出した DIP (*in vitro*) よりも少なく、AS 20 区と AS 0 区では反芻胃への DIP 供給不足が生じたことが考えられた。これらのことからコーンサイレージの割合を高くすると DIP の微生物態 N への転換効率は改善されるが、コーンサイレージの割合を高めすぎて NSC に対する DIP 割合を 0.15 以下にすると反芻胃への DIP 供給不足を招き、その結果、反芻胃での微生物態 N 合成を妨げるため、微生物態 N 合成量の増加は期待できないと考えられた。

文 献

- MABJEESH, S. J., A. ARIELI, I. BRUCKENTAL, S. ZAMWELL and H. TAGARI (1997) Effect of Ruminant Degradability of Crude Protein and Nonstructural Carbohydrates on the Efficiency of Bacterial Crude Protein Synthesis and Amino Acid Flow to the Abomasum of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, **80**: 2939-2949.
- 森本宏 (1971) 動物栄養試験法 第 1 版。養賢堂。東京。283-297.
- 農林水産省農林水産技術会議事務局編 (1995) 日本飼養標準肉牛用 (1995 年版)。中央畜産会。東京。
- PELTEKOVA, V. D. and G. A. BRODERICK (1996) In Vitro Ruminant Degradation and Synthesis of Protein on Fractions Extracted from Alfalfa Hay and Silage. *J. Dairy Sci.*, **79**: 612-619.
- RUSSELL, J. B. and R. B. HESPELL (1981) Microbial Rumen Fermentation. *J. Dairy Sci.*, **64**: 1153-1169.
- 斎藤正行・北村元仕・丹波正治 (1979) 臨床化学分析 II。東京化学同人。52-54.
- SATTER, L. D. and L. L. SLYTER (1974) Effect of Ammonia Concentration on Rumen Microbial Protein Production In Vitro. *Br. J. Nutr.*, **32**: 190

- SMITH, R. H and A. B. McALLAN (1974) Some Factors Influencing the Chemical Composition of Mixed Rumen Bacteria. *Br. J. Nutr.*, **31**: 27-34.
- STERN, M. D, G. A. VAGA, J. H. CLARK, J. L. FIRKINS, J. T. HUBER and D. L. PALMQUIST (1994) Evaluation of Chemical and Physical Properties of Feeds that Affect Protein Metabolism in the Rumen. *J. Dairy Sci.*, **77**: 2762-2786.
- VAN SOEST, P. J., J. B. ROBERTSON and B. A. LEWIS (1991) Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J. Dairy Sci.*, **74**: 3583.
- ZINN, R. A and F. N. OWENS (1986) A Rapid Procedure for Purine Measurement and Its Use for Estimating Net Ruminal Protein Synthesis. *Can. J. Anim. Sci.*, **66**: 157-166.