

黒毛和種およびホルスタイン種のルーメン内 繊毛虫の性状に及ぼす飼料の影響

森田二郎*・土屋平四郎*・恵本茂樹*

昭和60年5月31日受付

Ciliate Numbers and Fluid Parameters in Ruminal Contents of Cattle Fed Low- or High-Concentrate Diets

Ziro MORITA*, Heishiro TSUCHIYA* and Shigeki EMOTO*

The percentage composition of genera of the rumen ciliates was investigated in 45 cattle (Japanese Black and Holstein). Concentration and gas productivity of ciliates and ruminal pH were also measured in cows fed low- or high-concentrate diets.

Protozoal fauna of ciliates in the rumen of cows fed high concentrates was simpler and the concentration of ciliates was considerably higher as compared with cows fed forage diets. *Charonina*, *Dasytricha* and *Diplodiniinae* of ciliates tended to disappear in cows fed high concentrates. The ciliates of *Fntodinium* were the most predominant in all cows. Two species, *Diplodinium polygonale* and *Eodinium dilobosum*, were new records in Japan.

The number of ciliates declined after feeding and then increased to a maximum at 8 hr postfeeding while the gas production increased to a maximum immediately after feeding.

Although the number of ciliates was influenced by feeds, the variation was definite and there was consistency in the numbers of ciliates in the rumen of cows fed a definite diets.

緒 言

本邦の家畜のルーメン内繊毛虫の地域的分布や種類構成についての報告は少なく、今井ら^{11,15}が宮城、福島、栃木、東京、兵庫、山口、大分、沖縄の各都県の家畜で調査を行っている程度で、その他の道府県での報告はなされていない。今井ら^{11,15}の調査では牛で3科42種12型の繊毛虫を認めているが、調査の対象となった牛の品種、性別、年齢、飼養条件などについてはふれておらず平均値として表わしている。そこで今回著者はまだ報告が行

なわれていない鳥取県内の牛の繊毛虫について調査を行った。そして飼養条件の違いが繊毛虫の構成、出現する繊毛虫種およびその種の出現頻度、繊毛虫密度に及ぼす影響を検討した。また一方で基礎的な実験としてルーメン液のpH、繊毛虫密度、ガス産生量を測定し、その変動要因を検討するとともに、pH、繊毛虫密度、ガス産生量の日内変動および長期変動を観察した。

材料および方法

(1)供試材料

*鳥取大学農学部獣医学科畜産学研究室

Department of Veterinary Science, Faculty of Agriculture, Tottori University

調査に用いたルーメン液は、鳥取大学附属農場牛12頭、実習牛2頭、鳥取県畜産試験場牛12頭、大栄町農協飼育牛19頭の計45頭の牛より、ルーメンカテールを通じて経口的に採取した。45頭の牛群は飼養管理の条件により濃厚飼料と粗飼料の割合が9対1の飼料を給餌されている牛群を濃厚飼料多給牛群とし、逆に1対9の飼料を給餌されている牛群を粗飼料多給牛群とした。濃厚飼料多給牛群は品種により黒毛和種去勢牛群(B・S)とホルスタイン種去勢牛群(H・S)とに分け、粗飼料多給牛群は黒毛和種繁殖雌牛群(B・C)とホルスタイン種搾乳牛群(H・C)に分け、検索の結果は上記の4群(B・S, H・S, B・C, H・C)について比較、検討を行った。

(2)材料の採取条件

繊毛虫の構成、出現繊毛虫種およびその頻度、繊毛虫密度を検索するためのルーメン液は午後1時より2時までの間に経口的に採取した。またルーメン液の性状の日内変動を観察するための試料採取は午前11時に開始し、午後12時に給餌し、実験終了時まで2回目の給餌は行わなかった。本牛のルーメン液採取は3時間間隔で12時間行った。一方、ルーメン液の性状の長期的変動を観察するための試料は1984年6月23日より8月25日まで計6回採取し、採取時間は午後1時から2時の間であった。またルーメン液の1回の採取量は100~200mlであった。

(3)試料の調整

採取した材料は2重ガーゼでろ過し大型の食塊を除去した。鏡検材料はろ液に4倍量のMFG²⁴⁾(10倍希釈液ホルマリン700ml, グリセリン300ml, NaCl 8.5g, メチルグリーン0.3g)を混じ、固定、核染色を施し、密栓して冷蔵庫内に保存した。各個体につき鏡検材料は10ml、試験管に5本用意した。鏡検材料をとった残りの材料はN₂ガスで空気を置換し、37℃の恒温槽で保存し、すみやかにガス産生量、pHを測定した。

(4)繊毛虫種の同定および計算

種の同定はKonfroid & Mac LennanおよびLubinskyの分類体系に従った扇元・今井の方法²⁴⁾によって行った。繊毛虫の計算は鏡検材料をよく攪はんした後、スライドグラス上にマイクロピペットで5 μ l材料を滴下し、18 \times 18mmのカバーグラスをかけ、倍率100倍で全視野で行った。この操作は1本の試験管につき2回、計10回行い、1ml当たりの繊毛虫数を計算し、これを繊毛虫密度とした。なお5倍希釈材料では繊毛虫の数が多すぎて計算が困難な場合(全視野2,000個以上)、さらにMFG液で希釈し、同様の操作を行って繊毛虫密度を求めた。

(5)繊毛虫種の出現頻度と構成比

繊毛虫種の出現頻度は同定した繊毛虫種が検出された宿主頭数の供試頭数に占める百分率で求めた。

また繊毛虫の構成比は各検体について10回計数を行った繊毛虫の中で占める各属の割合とした。

(6)ルーメン微生物のガス産生量とpHの測定

ガス産生量の測定にはTAIYO O₂ up Test-erを用いた。まず2重ガーゼをろ過した材料をよく攪はんし、5mlを専用の検圧容器に取り蓋をした。100% N₂ガスを5秒間検圧容器内に流し、空気をN₂で置換した後、検圧計に装着した。検圧計は37℃の恒温槽に装着し、5分間静置し、容器内温度を安定させた。その後検圧計の目盛りを0に調節し、10分間隔で60分間に産生されるガス量を測定した。この時検圧容器に材料と同量の蒸留水を入れ、水温および大気圧の変動による誤差を補正するための温圧計として使用した。そこでガス産生量は60分間に材料が産生したガス量から温圧計の示すガス量を差し引いて求めた。またCO₂以外のガス産生量を測定する場合、検圧容器の蓋の内側に円形のろ紙をはりつけ、20% KOHを100 μ lしみこませ、CO₂を吸着させた。したがってCO₂以外のガス産生量は吸着剤を装着した時に産生するガス量から温圧計の示すガス量を差し引いて求めた。

結 果

(1) 繊毛虫の構成

各牛群の繊毛虫の構成をTable 1に示した。濃厚飼料多給牛群(B・S, H・S)の繊毛虫の構成は粗飼料多給牛群(B・C, H・C)のそれに比べ単調になっていた。*Dasytricha*属はH・S群において、*Charonina*属はB・S群およびH・S群において検出されなかった。また*Diplodiniinae*亜科の繊毛虫についてはH・S群でまったく検出されず、B・S群では*Eremoplastron*属を除く他の属がわずかに検出されるかまたは、まったく検出されないかであった。全牛群を通じて繊毛虫の大部分を占めていたのが*Entodinium*属で、B・C群、H・C群、H・S群では85%以上を占め、特にH・S群では97%を占めていた。B・S群では*Entodinium*属の占める割合が他の牛群に比べ低くなっていた。これは本牛群の中に*Entodinium*属をわずかに有すか、またはまったく有しない個体が存在したためである。また各牛群の繊毛虫の構成の特徴としては、*Elytroplastron*属がB・C群でのみ、*Ophryoscolex*属がH・C群でのみ検出され、さらにB・S群では*Isotricha*属の占める割合が高く、H・S群では

Table 1 各牛群の織毛虫の構成

	織毛虫の構成 (%)				Mean	SD	Range
	B・C (6)	B・S (14)	H・C (6)	H・S (19)			
ISOTRICHIDAE							
Isotricha	1.5	19.0	1.0	0.4	6.4	20.7	0~95.8
Dasytricha	5.5	0.5	0.6	ND	1.0	2.6	0~14.5
BLEPHAROCORYTHIDAE							
Charonina	0.2	ND	1.5	ND	0.2	1.0	0~ 6.9
OPHRYOSCOLECIDAE							
Entodiniinae							
Eodinium	88.2	76.6	89.0	97.1	88.4	23.3	0~100
Diplodiniinae							
Diplodinium	1.8	<0.1	1.8	ND	0.5	1.1	0~ 5.8
Eodinium	0.4	<0.2	1.1	ND	0.2	0.5	0~ 2.1
Eremoplastron	1.0	1.2	1.6	ND	0.4	0.8	0~ 2.4
Eudiplodinium	ND	ND	<0.1	ND	<0.1	<0.1	0~ 0.1
Diploplastron	0.2	<0.1	0.4	ND	0.1	0.2	0~ 1.0
Polyplastron	0.2	<0.1	0.2	ND	0.2	0.9	0~ 5.7
Elytroplastron	0.6	ND	ND	ND	0.1	0.4	0~ 2.7
Ostracodinium	0.4	ND	2.6	ND	0.4	1.1	0~ 4.9
Ophryoscolecinae							
Epidinium	ND	3.1	0.1	2.5	2.0	4.5	0~23.1
Ophryoscolex	ND	ND	0.3	ND	<0.1	0.1	0~ 0.6

(n) : 頭数 ND : not detected SD : Standard deviation
 B : 黒毛和種 H : ホルスタイン種 C : 雌牛 S : 去勢牛

Entodinium 属の占める割合がほぼ100%に近い値をとっていた。全牛群の平均値から織毛虫の大部分を占めていたのが *Entodinium* 属で88.4%、次いで *Isotricha* 属6.4%、*Epidinium* 属2.0%、*Dasytricha* 属1.0%であった。

(2) 出現した織毛虫種とその出現頻度

各牛群の織毛虫種の出現頻度を Table 2 に示した。今回出現した織毛虫種は35種6型であった。各牛群別に出現頻度の高い織毛虫種をあげると、B・C群では *Isotricha prostoma*, *Dasytricha ruminantum*, *Charonina ventriculi*, *Entodinium exiguum*, *E. nanellum*, *E. simplex*, *E. ovinium*, *E. longinucleatum*, *E. rostratum*, *E. dilobum*, *E. caudatum*, *Diplodinium anisacanthum*, *D. polygonale*, B・S群では *Entodinium caudatum*, H・C群では *Isotricha prostoma*, *Dasytricha ruminantum*, *Charonina ventriculi*, *Entodinium nanellum*, *E. simplex*, *E. ovinium*, *E. longinucleatum*, *E. rostratum*, *E. caudatum*, *Eodinium posterovesiculatum*, *Eremoplastron rostratum*, *Diploplastron affine*, *Polyplastron multivesiculatum*, *Ostracodinium gracile*, *O. mammosum*, *Ophryoscolex purkynjei*,

H・S群では *Isotricha prostoma*, *Entodinium nanellum*, *E. simplex*, *E. caudatum*, *Epidinium ecaudatum*, *Ep. c. caudatum* であった。各牛群で検索された特徴的な織毛虫種としては、B・C群で *Elytroplastron bubali*, H・C群で *Eremoplastron monolobum*, *Er. dilobum*, *Eudiplodinium maggii*, *Ostracodinium mammosum*, H・S群で *Epidinium ecaudatum* の5つのタクソン型があげられる。今回同定した織毛虫種の中に沖縄や他の国の水牛でよく検出される *Diplodinium polygonale* が含まれていた。本織毛虫は鳥取大学附属農場で飼育されている牛でのみみられた。全牛群を通じて出現頻度の高かった織毛虫種は、*Entodinium caudatum* (100%), *E. simplex* (91%), *E. nanellum* (84%), *Isotricha prostoma* (82%) であり、次いで *E. ovinium* (62%), *Epidinium ecaudatum caudatum* (53%) であった。

(3) 出現織毛虫種数と織毛虫密度

各牛群における平均出現織毛虫種数と平均織毛虫密度を Table 3 に示した。粗飼料多給牛のB・C, H・Cの両群の出現織毛虫種が19.7種および23.1種であるのに比べ、

Table 2 各牛群の繊毛虫種の出現頻度

	B・C	B・S	H・C	H・S	Mean
<i>Isotricha prostoma</i>	100	57	83	100	82
<i>I. intestinalis</i>	50	43	67	11	33
<i>Dasytricha ruminantium</i>	100	14	100	ND	32
<i>Charonina ventriculi</i>	83	ND	100	ND	24
<i>Entodinium exiguum</i>	100	36	67	ND	35
<i>E. nanellum</i>	100	71	100	84	84
<i>E. minimum</i>	50	7	67	ND	18
<i>E. parvum</i>	50	14	17	ND	13
<i>E. simplex</i>	100	71	100	100	91
<i>E. dubardi</i>	67	ND	ND	ND	9
<i>E. ovinum</i>	100	50	100	47	62
<i>E. bursa</i>	50	14	67	ND	20
<i>E. longinucleatum</i>	100	21	100	ND	33
<i>E. rostratum</i>	100	7	100	ND	29
<i>E. dilobum</i>	100	21	33	ND	24
<i>E. caudatum</i>	100	100	100	100	100
<i>Diplodinium dentatum</i>	67	7	50	ND	18
<i>D. anisacanthum anisacanthum</i>	100	7	67	ND	24
<i>D. polygonale</i>	83	7	67	ND	22
<i>Eodinium posterovesiculatum</i>	ND	7	83	ND	13
<i>Eo. lobatum</i>	50	ND	17	ND	9
<i>Eo. monolobosum</i>	17	ND	67	ND	11
<i>Eremoplastron rostratum</i>	67	7	83	ND	22
<i>Er. monolobum</i>	ND	ND	17	ND	2
<i>Er. dilobum</i>	ND	ND	17	ND	2
<i>Eudiplodinium maggii</i>	ND	ND	17	ND	2
<i>Diploplastron affine</i>	67	7	100	ND	24
<i>Polyplastron multivesiculatum</i>	67	43	100	ND	36
<i>Elytroplastron bubali</i>	33	ND	ND	ND	4
<i>Ostracodinium obtusum</i>	33	ND	50	ND	11
<i>O. gracile</i>	17	ND	100	ND	16
<i>O. clipeolum</i>	33	ND	33	ND	9
<i>O. mammosum</i>	ND	ND	100	ND	13
<i>Epidinium ecaudatum ecaudatum</i>	ND	ND	ND	100	42
<i>Ep. e. caudatum</i>	ND	36	17	95	53
<i>Ep. e. bicaudatum</i>	ND	ND	ND	32	13
<i>Ep. e. eberlelni</i>	ND	ND	ND	16	6
<i>Ep. e. cattanei</i>	ND	ND	33	16	11
<i>Ophryoscolex purkynjei</i>	ND	ND	100	ND	13

ND: not detected B: 黒毛和種 H: ホルスタイン種 C: 雌牛 S: 去勢牛

濃厚飼料多給牛のB・S, H・Sの両群のそれは6.6種お

Table 3 各牛群における平均出現織毛虫種数と平均織毛虫密度

牛群 (n)	出現織毛虫種数			織毛虫密度 ($\times 10^5$ /ml)		
	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range
B・C(6)	19.7	2.6	16~23	1.5	0.9	0.1~2.4
B・S(14)	6.6	3.5	2~15	3.1	3.4	0.01~11.0
H・C(6)	23.1	2.1	21~26	1.5	0.5	0.8~2.1
H・S(19)	5.4	0.8	4~7	11.0	7.8	0.8~31.0
Total(45)	10.0	7.4	2~26	6.0	6.8	0.01~31.0

(n): 頭数 SD: Standard deviation

B: 黒毛和種 H: ホルスタイン種 C: 雌牛 S: 去勢牛

および5.4種と低い値であった。全体の平均出現織毛虫種は10.0種であった。

また織毛虫密度は出現織毛虫種数とは逆の傾向があり、濃厚飼料多給牛群で織毛虫密度が高く、粗飼料多給牛群では低くなっていた。全体の平均織毛虫密度は 6.0×10^5 /mlであった。出現織毛虫種数および織毛虫密度ともに個体差が大きく、前者は2種から26種、後者は 0.01×10^5 /mlから 31.0×10^5 /mlであった。

(4) 織毛虫群の型の分布

各牛群における織毛虫群の型の分布をTable 4に示

Table 4 各牛群における織毛虫群の型の分布

	織毛虫群の型				
	A	B	K	A・B	その他
B・C(6)	4		2		
B・S(14)	7	5			2
H・C(6)	4			2	
H・S(19)		19			
Total(45)	15	24	2	2	2

(n): 頭数

A: *Polyplastron multivesiculatum*, *Diploplastron affine* を有する

B: *Eudiplodinium maggii* を有する

K: *Elytroplastron bubali* を有する

その他: A, B, K型のいずれの優占種も有しない

した。この指標織毛虫種による型はEadie^{7,8)}が最初に見出し、扇元・今井¹²⁾により再検討され、*Polyplastron multivesiculatum*, *Diploplastron affine* を有する織毛虫群をA型、*Epidinium ecaudatum*, *Eudiplodinium maggii* を有する織毛虫群をB型、さらに*Elytroplastron bubali* を有する織毛虫群をK型とした。その結果45頭のうちA型が15頭、B型が24頭、K型が2頭、さらにA型とB型の指標種織毛虫をともに有するものが2頭、

A, B, K型のいずれの指標種織毛虫を有しないものが2頭存在していた。K型はB・C群でのみ、A・B型はH・C群でのみ検出された。またA型の織毛虫群中に*Elytroplastron bubali*を有する個体を見つけ、6か月後*Ely. bubali*が消失しているのを確認した。

(5) ルーメン液のpH, 織毛虫密度, ガス産生量の相互関係

ルーメン液のpH, 織毛虫密度, ガス産生量との相関係数をTable 5に示した。まずpHとガス産生量および

Table 5 pH, 織毛虫密度, ガス産生量の相関係数

	織毛虫密度	ガス産生量	ガス産生量(吸)
ガス産生量	0.18		
ガス産生量(吸)	0.60**	0.81**	
pH	-0.34	-0.79**	-0.82**

(吸): 20%KOHでCO₂を吸着させた場合のガス産生量
**: P < 0.01

pHとガス産生量(吸)に有意な負の相関(p < 0.01)がみられた。さらにガス産生量(吸)と織毛虫密度およびガス産生量(吸)とガス産生量との間に有意な正の相関(P < 0.01)がみられた。pHと織毛虫密度との間に負の相関がみられたが有意ではなかった。

(6) ルーメン液の性状に及ぼす採食の影響

ルーメン液のpH, 織毛虫密度, ガス産生量はさまざまな要因によって変動していると考えられる。なかでもそれらの値に大きな影響をあたえる要因として採食が考えられた。そこで採食の前後にルーメン液を採取し、織毛虫の構成, 織毛虫密度, pH, ガス産生量を測定し、その結果をTable 6に示した。織毛虫の構成はTable 1

Table 6 ルーメン液の採食前後の比較

	採食前	採食後
織毛虫の構成 (%)		
ISOTRICHIDAE	2.1	3.9
BLEPHAROCORYTHIDAE	0.6	0.5
OPHRYOSCOLECIDAE		
<i>Entodiniinae</i>	88.3	89.3
<i>Diplodiniinae</i>	8.3	6.0
<i>Ophryoscolecinae</i>	0.7	0.3
織毛虫密度 ($\times 10^5$ /ml)		
pH	1.2	1.1
ガス産生量 (μ l/hr)	7.41	7.09
	103	241**

** : P < 0.01

のように属ごとではなく、科または亜科単位でまとめた。

ISOTRICHIDAE科 (*Isotricha*属, *Dasytricha*属を

含む)の増加がみられた。またOPHRYOSCOLECIDA科のDiplodiniinae亜科(Diplodinium属, Eodinium属, Eremoplastron属, Eudiplodinium属, Diploplastron属, Polyplastron属, Elytroplastron属, Ostracodinium属を含む)およびOphryoscolecidae亜科(Epidium属, Ophroscolex属を含む)の減少がみられた。またBLEPHAROCORYTHIDAE科(Charonina属を含む)とOPHRYOSCOLECIDAE科のEntodimae亜科(Entodinium属を含む)は著明な変化が見られなかった。

一方pH, 繊毛虫密度はともに採食後に減少した有意でなく, ガス産生量は有意に(P<0.01)増加した。

(7) ルーメン液の性状の日内変動

3時間間隔12時間にわたりルーメン液を採取し, そのpH, 繊毛虫密度, ガス産生量の変化を調べた結果をFig. 7にまとめて示した。pH, 繊毛虫密度はTable 6で

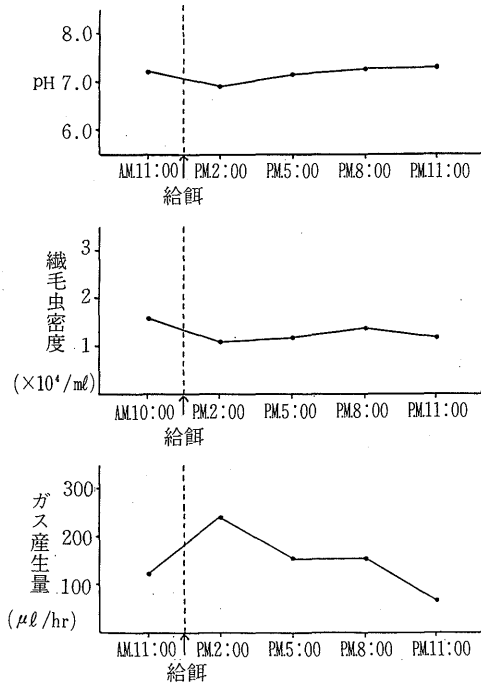


Fig. 1 ルーメン液のpH, 繊毛虫密度, ガス産生量の日内変動

示したように採食により一時的に低下し, その後採食前の状態に回復していった。ガス産生量は採食により一時的に増加し, その後採食前の状態に復帰していったが, 給餌後10時間には採食前よりも低い値をとった。

(8) ルーメン液の性状の長期的変動

1984年6月23日より8月25日までの2か月間にわたり,

2頭の牛よりルーメン液を採取し, pH, 繊毛虫密度, ガス産生量の変化を観察した結果をFig. 2に示した。pHは繊毛虫密度やガス産生量に比べると安定していた。A牛とB牛を比較すると, B牛の方がより安定していた。繊毛虫密度は採取日によって変動しており, 最高値と最低値との差は2~3倍であった。しかしながらその変化パターンは両牛共よく似た傾向を示していた。またガス産生量も採取日により変動が大きく, 最高値と最低値と

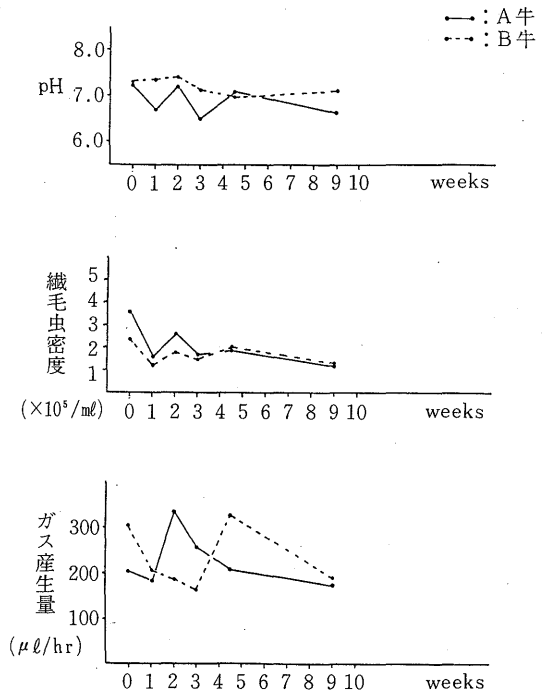


Fig. 2 ルーメン液のpH, 繊毛虫密度, ガス産生量の長期的変動

の差は1.5~2倍あった。しかしTable 5で見られたような相関関係はこの表からは見い出せなかった。

考 察

(1) ルーメン内繊毛虫に及ぼす濃厚飼料の影響

濃厚飼料の多給はルーメン内に生息する繊毛虫に大きな影響をあたえていることが推測された。

繊毛虫の構成 (Table 1) から見てみると, 粗飼料を多給している牛にみられた繊毛虫のうちDasytricha属, Charonina属, Diplodiniinae亜科の繊毛虫は濃厚飼料を多給している牛では検出されることが少なかった。繊毛虫におよぼす飼料の影響について Dehority³⁾はプロトゾ

アフリー羊を用い飼料別に定着する絨毛虫を観察し、その結果濃厚飼料を多給した羊では、*Diplodinium* 属、*Ostracodinium* 属、*Dasytricha* 属が確立せず、*Eutodinium* 属の占める割合が増加したと述べ、さらに *Diplodinium* 属、*Ostracodinium* 属は接種3日後に、*Dasytricha* 属は接種7日目に消失したと報告している。またDenniら⁵⁾はホルスタイン種若齢雌牛に給与する濃厚飼料の割合を変えると、*Entodinium* 属は濃厚飼料の増加に伴い増加したと述べている。これらのことと考えあわせると、濃厚飼料の多給が *Entodinium* 属の増加と *Dasytricha* 属、*Charonina* 属、*Polyplastron* 属を除く *Diplodiniinae* 亜科の減少または消失を生じさせる要因となっているのかもしれない。

また今回の結果を今井ら^{11) 15)}の報告と照し合わせると、*Entodinium* 属の占める割合は類似した値をとっているが、その他の属については一致した結果は得られなかった。しかし他の国の研究者の報告でRumeyら²⁵⁾は *Eutodinium* 属の占める割合が30%以下であったと、またClark¹⁾は35%以下であったと述べている。そしてこのことから今井ら¹¹⁾は本邦の牛は海外の牛に比べ濃厚飼料を多給されているために *Entodinium* 属の占める割合が高いと結論している。しかし今回粗飼料を多く給与されている牛でも *Entodinium* 属の占める割合が高かったことから考えて、濃厚飼料の多給以外に粗飼料の質も関係しているのではないかと考えられる。

次に出現した絨毛虫種およびその出現頻度 (Table 2) からも濃厚飼料による影響がうかがえた。すなわち、粗飼料多給牛群 (B・C, H・C) で出現頻度が高く、濃厚飼料多給牛群 (B・S, H・S) でその頻度が低くなっている絨毛虫種が存在しており、特に *Dasytricha ruminantum*, *Charonina ventriculi*, *Entodinium rostratum*, *E. longinucleatum*, *Polyplastron multivesiculatum*, *Diploplastron affine* を除く *Diplodiniinae* 亜科、*Dasytricha ruminantum* の消失を観察しており、濃厚飼料により消失する絨毛虫種が一定していることが推測された。

また特定牛群でのみ出現した絨毛虫種が存在したが、検体数が45頭と少ないうえ、特定地域の牛群を使用したため、その絨毛虫種が牛の種に固有のものかは判断できなかった。さらに広い範囲での検体の採取が必要と思われる。

一方今回の検索で *Diplodinium polygonale* が同定された。本絨毛虫は沖縄や海外^{4) 13)}の水牛で頻繁に同定されているもので、本邦の牛においては初めての記録と思われる。また実験の途中で原因不明の死をとげた黒毛和種

雌牛のルーメン内で検出した *Eodinium* 属の絨毛虫は今井によって *Eodinium dilobosum* と同定された。本絨毛虫の存在は初めての報告と思われる。

今回出現頻度の高かった *Entodinium caudatum*, *E. simplex*, *E. nanellum*, *Isotricha prostoma* は今井らの報告^{11) 15)}でも高い値を示しており、これらの絨毛虫種は飼料による影響をうけにくいのではないかと推測された。

さらに濃厚飼料は出現絨毛虫種数および絨毛虫密度 (Table 3) にも影響をあたえているのではないかと考えられる結果となった。絨毛虫密度についてDennisら⁵⁾は濃厚飼料の増加に伴い増加したと報告している。このことから濃厚飼料を多給することによって絨毛虫密度は高くなる傾向があると考えられるが、一方調査を行った濃厚飼料多給牛群の中には、 $1.0 \times 10^3 / \text{m}^2$ 程度の絨毛虫密度をもつ個体が存在していた。したがって一概に濃厚飼料の増加によって絨毛虫密度が高くなると結論するのは困難だと考えられる。また濃厚飼料多給牛群で出現する絨毛虫種が少ないのは濃厚飼料の影響により消失する種があるためだと推測された。

(2) 絨毛虫群の型の分布

今回調査した牛45頭をEadie^{7) 8)}および扇元・今井ら¹²⁾の報告に基づき指標絨毛虫による絨毛虫群の型の分布をみた (Table 4)。その結果A型とB型が混在するまれな個体を見いだした。Eadie^{7) 8)}はA, B型について、実験的にはつくりだせるが、自然には存在しないのではないかと述べている。またEadieの型の分類の再考を行った扇元、今井ら¹²⁾は同一宿主内において共存し得ないものは、A型構成絨毛虫群のうち *Polyplastron multivesiculatum* 及び *Epidinium ecaudatum* および *Eudiplodinium maggii* に限定し、その要因として *P. multivesiculatum* による *Ep. ecaudatum* の捕食拮抗をあげている。このことから考えて今回の調査で見いだしたA・B型は定着していたB型絨毛虫群にA型絨毛虫群が侵入し、B型からA型への移行過程の途中ではないかと考えられた。それを確認するために今後の追跡調査が必要と思われる。またB・C群でK型がみられた。K型はA型またはB型への移行型であるかもしれないと扇元・今井ら¹²⁾は推測している。そして今回A型絨毛虫群に *Elytroplastron bubali* をもつ個体が、6か月後には完全なA型絨毛虫群に変化していったことを観察した。このことからK型が移行型であることを示唆している。また今回の調査ではA型よりもB型の絨毛虫群をもつ個体が多く、扇元・今井ら¹²⁾の報告とは逆の傾向になった。これは材料を採

取した場所にかたよりがあったためであろう。

(3) ルーメン液の性状の変動とその要因

今回ルーメン液中の繊毛虫を調査するとともにpHおよびルーメン微生物の活性を測定した。ルーメン微生物の活性は単位時間内に産生するガス量で表わした。そして45頭中24頭の測定値からpH、繊毛虫密度、ガス産生量のそれぞれの相関係数を算出した結果 (Table 5), pHとガス産生量, pHとガス産生量 (吸) と負の相関 ($P < 0.01$), さらにガス産生量 (吸) と繊毛虫密度, ガス産生量 (吸) とガス産生量に正の相関 ($P < 0.01$) 見られた。pHの低下がルーメン微生物の活性と密接に関係していると考えられた。このpHの低下の要因として、採食¹⁰⁾および濃厚飼料の給与¹⁰⁾が考えられ、特に採食はpH以外に微生物の密度も変化させる要因⁹⁾として知られている。そこで採食前と採食後のルーメン液の性状を観察し、採食の影響を検討してみた (Table 6)。同様の実験を試みたWarnerは採食後の*Entodinium*属のわずかの低下、また採食前から急激に増加し採食後にその数が最大に達する*Dasytricha*属の変化を観察している。この*Dasytricha*属の繊毛虫は第二胃壁に付着しており、採食前になると第一胃へ移動して行くことも知られている。今回の観察ではISOTRICHIDAE科の採食後の増加がみられたものの、有意ではなかった。また繊毛虫密度が減少していたが、これは採食によってルーメン液が希釈されたものと考えられた。同時にpHも減少しており、これはルーメン微生物によって揮発性脂肪酸が活発に産生されるため、ガス産生量が有意に上昇していることからそれが裏付けられる。そしてさらにルーメン液の性状の日内変動を観察した結果 (Fig. 1), 大きく性状が変化するのは採食時だけで、その後は一定の値を保っていることがわかった。また長期にわたる観察 (Fig. 2) では、ある幅で変動しているものの、pH、繊毛虫密度、ガス産生量は比較的安定していた。繊毛虫密度を2年間にわたり観察したWarner²⁹⁾は同様の変動を報告し、さらに彼は繊毛虫密度に影響をおよぼすのは飼料の量よりも質ではないかと述べている。これらのことから繊毛虫密度はある幅をもって変化しており、飼料の急変がないかぎり急激な変動はないものと推測される。pH、ガス産生量についても同様なことが推測される。

結 論

鳥取県内で飼育されている牛45頭を調査し、飼養条件の違いによる出現繊毛虫種、その出現頻度、さらに繊毛虫構成の比較を行った。また一方でルーメン液のpH、繊

毛虫密度、ガス産生量を測定し、それらの相互関係、日内変動および長期的変動を観察した。

その結果、濃厚飼料多給牛群は粗飼料多給牛群に比べ繊毛虫構成が単調で、*Dasytricha*属、*Charonina*属、*Diplodiniinae*亜科の繊毛虫の消失または減少がみられた。繊毛虫群で大部分を占めていたのは*Entodinium*属で従来の報告とよく似た結果となった。また出現する繊毛虫種は濃厚飼料多給牛群では少なく、逆に繊毛虫密度は本牛群で高くなる傾向があった。さらに指標種繊毛虫による繊毛虫群の型の分布を観察した結果、A・B型というきわめてめずらしい型の存在を確認した。また今回、*Diplodinium polygonale*および、*Eodinium dilobosum*を同定した。前者は本邦の牛で、また後者は本邦で初めての報告であった。

一方、pHとガス産生量およびpHとガス産生量 (吸) とに負の相関 ($P < 0.01$)、繊毛虫密度とガス産生量 (吸) およびガス産生量とガス産生量 (吸) とに正の相関 ($P < 0.01$) がみられた。また採食によるルーメン液の性状の変化として、ISOTRICHIDAE科の増加、OPHRYOSCOLICIDAE科の*Diplodiniinae*亜科、*Ophryoscoleciniae*亜科の減少、繊毛虫密度、pHの減少、ガス産生量の有意な増加 ($P < 0.01$) がみられた。日内変動については採食により変動し、その後は採食前の状態に回復した。また長期的変動についてはpHが最も安定しており繊毛虫密度およびガス産生量はある程度の幅をもって変動していた。

これらのことから濃厚飼料はルーメン内繊毛虫群に対し、その構成、繊毛虫種およびその密度に大きな影響を与えていると推測された。またpH、繊毛虫密度、ガス産生量の間には一定の関係が存在し、採食によりpH、繊毛虫密度の低下、ガス産生量の増加が生じた。日内変動は採食により生じ、それ以外ではきわめて安定しており、長期的変動についてはそれぞれが一定幅で変化していると推測された。

本実験の材料を提供していただき実験に御協力願った鳥取県畜産試験場、大栄町農協の職員の各位に厚く感謝の意を表し、さらに繊毛虫の同定をしていただいた日本獣医畜産大学の今井壯一先生に深く感謝申し上げる次第である。

文 献

- 1) Clarke, R. T. J. : N. Z. J. agric. Res., 7 248-257 (1964)
- 2) Coleman, G. S. : Biochemistry and Physiology

- of Protozoa (2nd Ed.) Vol. 2, Academic Press, New York (1979) pp. 381-406
- 3) Dehority, B. A. : J. Protozool., **25** 509-513 (1978)
 - 4) Dehority, B. A. : J. Protozool., **26** 536-544 (1979)
 - 5) Dennis, S.M., Arambel, M.J., Bartey, E.E., and Dayton, A.D. : J. Dairy Sci., **66** 1248-1254 (1983)
 - 6) Eadie, J.M. : J. gen. Microbiol., **29** 563-578 (1962)
 - 7) Eadie, J.M. : J. gen. Microbiol., **29** 579-588 (1962)
 - 8) Eadie, J.M. : J. gen. Microbiol., **49** 175-194 (1967)
 - 9) Hungate, R. E. : Parasitic Protozoa, vol. 2, Academic Press, New York (1979) pp. 655-695
 - 10) 左久 : 日畜会報, **50** 835-844 (1979)
 - 11) 今井壯一・勝野正則・扇元敬司 : 日畜会報, **49** 494-505 (1978)
 - 12) 今井壯一・勝野正則・扇元敬司 : 日畜会報, **50** 79-87 (1979)
 - 13) Imai, S., Chang, C.H., Wang, J. S., Ogimoto, K., and Fujita, J. : 日本獣医畜産大学研究報告, **30** 77-81 (1981)
 - 14) Imai, S., Yanagida, N., Katagiri, K., and Ogimoto, K. : Jpn. Zootech. Sci., **52** 606-613 (1981)
 - 15) 今井壯一・志水政徳・木下正保・渡口政司・石井俊雄・藤田尋吉 : 日本獣医畜産大学研究報告, **31** 70-74 (1982)
 - 16) 栗原康 : 日畜会報, **22** 132-153 (1969)
 - 17) Lubinsky, G. : Can. J. Zool., **35** 111-133 (1957)
 - 18) Lubinsky, G. : Can. J. Zool., **35** 135-140 (1957)
 - 19) Lubinsky, G. : Can. J. Zool., **35** 141-159 (1957)
 - 20) Naga, M. A., Akkada, A. R. A., and Shazly, K. E. : J. Dairy Sci., **52** 110-112 (1968)
 - 21) 小野寺良次 : 日畜会報, **46** 661-670 (1975)
 - 22) 扇元敬司 : 日畜会報, **51** 808-822 (1980)
 - 23) 扇元敬司 : 畜産の研究, **37** 73-78 (1983)
 - 24) Ogimoto, K., and Imai, S. : Atlas of Rumen Microbiology, Japan Scientific Societies Press, Tokyo (1981) pp. 7-61
 - 25) Rumsey, T., Kern, S. D. L., and Slyter, L. L. : J. Animal Sci., **48** 1202-1208 (1979)
 - 26) Shimizu, M., Kinoshita, M., Fujita, J. and Imai, S. : 日本獣医畜産大学研究報告, **32** 83-88 (1983)
 - 27) 玉手英夫 : 日畜会報, **44** 83-90 (1973)
 - 28) 田中桂一 : 日畜会報, **45** 307-318 (1974)
 - 29) Warner, A. C. I. : J. gen. Microbiol., **28** 129-146 (1962)