

飼料学(32)

| | |
|-------|--------------------------|
| 誌名 | 畜産の研究 = Animal-husbandry |
| ISSN | 00093874 |
| 著者名 | 板橋,久雄 石橋,晃 |
| 発行元 | 養賢堂 |
| 巻/号 | 60巻11号 |
| 掲載ページ | p. 1211-1218 |
| 発行年月 | 2006年11月 |

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



飼料学 (32)

— V. 産業動物 IV. 反芻動物 (2) —

板橋 久雄*・石橋 晃**

4. ルーメン微生物の種類

反芻動物に摂取された飼料は主にルーメンで微生物により消化される。ルーメンの内容物は成牛では約100Lと大きい、そこには内容物1g当り $10^{10} \sim 10^{11}$ 個の細菌(バクテリア)と、 $10^5 \sim 10^6$ 個のプロトゾア(原生動物)、および $10^3 \sim 10^5$ 個の真菌(ツボカビ類)が生息している。

さらに、バクテリオファージが内容物1g当り $10^7 \sim 10^{10}$ 個の密度で存在し、細菌に感染し溶菌を引き起こす。これらの微生物のほとんどはルーメンに固有のものであり、嫌気性である。微生物の中でバイオマス(生物量)としては細菌が最も多いが、プロトゾアの体積は細菌の1,000~10,000倍にもなるので、その量は細菌に匹敵する(表4)。

これらの微生物は飼料中のセルロースや澱粉などの炭水化物を嫌気発酵により分解し、酢酸、プ

ロピオン酸、酪酸などの揮発性脂肪酸(VFA)を生成し、また、蛋白質の多くを分解しアンモニアを経て自らの微生物蛋白質を合成する。VFAはルーメン粘膜から吸収され、微生物蛋白質は第四胃以降で消化・吸収され、これらは動物の維持、成長、乳や肉などの生産に利用される。以下では、ルーメン内の微生物の種類と生態、主要な栄養素の代謝について概略を述べる。

1) ルーメン微生物に影響する物理化学的要因

ルーメンには、外部からの飼料や飲水、付着微生物の流入が絶えず行われ、酸化還元電位、pH、浸透圧、温度などの物理化学的環境要因が常に変化し、これらは微生物の生存にさまざまな影響を及ぼしている。

(1) 酸化還元電位

ルーメン内は嫌気的環境であることが大きな特徴であり、酸化還元電位(Eh)は $-150 \sim -350$ mVに維持されている。生後間もない幼獣では -100 mV程度であるが、ルーメン機能の発達とともにEhは低下し、セルロース分解菌やメタン菌の活性も高まる。飼料を摂取すると空気中の酸素がルーメンに混入するため、内容液には微量の酸素($< 3 \mu\text{M}$)が検出されるが、これは飼料とともに侵入する好気性菌や乳酸桿菌や連鎖球菌などの通性嫌気性菌によって直ちに除去される。ルーメン細菌のほとんどを占める偏性嫌気性菌はカタラーゼをもたず酸素の存在は有害である。この酸素消費はプロトゾアによっても行われ、その程度は好気性菌類によるものとほぼ等しいとされ、ルーメン内酸素除去に大きく寄与している。プロトゾアや真菌にはミトコンドリアがなく、チトクロームもほとんど検出されないが、細胞小器官であるヒドロゲノソームをもち酸素を消費する。ヒドロゲノソームは絶対嫌気性の真核微生物がもつエネルギー代謝を行う器官であり、ミトコンドリアのよ

表4 ヒツジのルーメン内における細菌とプロトゾアの容積と表面積[†]

| | 2時間毎に 飼料給与 | 12時間毎に 飼料給与 |
|---|---------------|----------------|
| ルーメン容積 | 4.7 | 6.3 |
| 細菌容積 ($\mu\text{L}/\text{mL}$) | 93.0 | 51.5 |
| ($\text{mL}/\text{ルーメン}$) | 437 | 324 |
| プロトゾア容積 ($\mu\text{L}/\text{mL}$) | 104.8 | 41.1 |
| ($\text{mL}/\text{ルーメン}$) | 492 | 259 |
| 容積比 (細菌/プロトゾア) | 0.89 | 1.25 |
| 細菌表面積 (cm^2/mL) | 1945 | 1795 |
| ($\text{m}^2/\text{ルーメン}$) | 914 | 1140 |
| プロトゾア表面積 (cm^2/mL) | 65 | 27 |
| ($\text{m}^2/\text{ルーメン}$) | 31 | 17 |
| 面積比 (細菌/プロトゾア) | 30 | 66 |

[†]アルファルフア乾草給与 (Hungate *et al.*, 1971)

* 東京農工大学大学院 (Hisao Itabashi)

** (社) 日本科学飼料協会 (Teru Ishibashi)

うに ATP を生産する。プロトゾアの中で全毛類はさらに NADH オキシダーゼ, NADH ペルオキシダーゼおよびカタラーゼにより酸素消費に関与している。プロトゾアを除去するとルーメン内酸素濃度はやや上昇することが知られている。

(2) pH

ルーメン内容物は、唾液や飼料に由来する炭酸水素塩、リン酸塩、蛋白質や VFA の存在により緩衝能が高いが、給与飼料の種類や量によってその pH は 5.5~7.5 に変化する。飼料給与後の発酵で VFA が増加し pH は 3 程度に低下するはずであるが、VFA の多くはルーメン粘膜から速やかに吸収され、また高い緩衝能のために pH は微酸性に維持される。反芻動物の唾液は、非反芻動物に比べ炭酸水素塩、リン酸塩や Na^+ 濃度が高く、逆に Cl^- 濃度が低く、pH8.3 前後のアルカリ性という特徴がある。唾液分泌量は飼料の構成や給与回数などによって異なるが、通常ウシでは 1 日に約 100L であり、これはほぼルーメン容積に匹敵し、内容物の酸性化を防いでいる。

濃厚飼料を多給するとルーメン pH はしばしば 6 以下になる。これは澱粉や水溶性糖類などの易発酵性の成分が多量にルーメン内に流入して発酵され、澱粉分解菌の *Streptococcus bovis* などにより多量の VFA や乳酸が生成するためである。通常、乳酸は乳酸利用菌やプロトゾアに利用されるので、ルーメン内の濃度は 7mM 以下であるが、これらの微生物による処理量を超えるほどの乳酸が生成されるとルーメン内 pH が低下し始める。pH はルーメン微生物の生存を規制する主な要因になっている。ルーメン細菌の pH 抵抗性は菌種によりかなり異なるが、主要な細菌の発育のための至適 pH は 6.0~6.7 である。主要なセルロース分解菌は特に低 pH に弱く、pH6 以下では発育速度は急激に低下し、溶菌するものもある。プロトゾアは pH5 以下では生存できないが、小型の *Entodinium* sp. は低 pH に対する抵抗性が最も強い。各種のプロトゾアは摂取した炭水化物の一部から貯蔵多糖類を合成し急激な発酵を抑制するとともに乳酸を代謝するので、ルーメン pH の安定化に寄与している。

(3) 浸透圧

ルーメン液の浸透圧は採食量、飲水量や唾液分

泌量により変化するが、通常では 250~350mOsm/kg の範囲で維持されている。浸透圧の変化は微生物の中では細胞壁がないプロトゾアに影響することがあるが、細菌などはあまり影響をうけない。一般に、プロトゾアや細菌の密度は飼料給与直後には低下するが、これは主に飲水や唾液の流入による内容物の希釈のためであり、浸透圧自体の変化のためではない。

(4) 温度

ルーメン内の温度は通常では 39°C 前後であるが、かなりの変動幅がある。ウシで环境温度を 20°C にした場合、ルーメン内の温度は 31°C まで低下し、逆に 33°C にした場合には 43°C に上昇した。また、ルーメン内の下層部は微生物による発酵が最も活発な部位であるが、発酵熱によりルーメン内で温度は最も高くなっており、上層部にいくにつれて温度はやや低下する。ウシの体温は約 39°C であり、ルーメン内の温度がそれ以上に高まると熱はルーメン粘膜に分布する血管を介してウシの体内に移り、体温の上昇を引き起こすことになる。これは飼料摂取量の低下を引き起こし生産性に大きく影響する。ルーメン細菌は温度に対する増殖応答から中温菌とされている。また、プロトゾアは温度に比較的敏感である。しかし、通常のルーメン内では温度が微生物の構成に及ぼす影響は大きくはない。

5. ルーメン微生物生態系

ルーメンでは、上記の安定した環境の中で、各種の微生物が相互に関連性をもちながら生息し嫌気発酵を営んでいる。これらのルーメン微生物と基質である飼料の流入によって、ルーメン内では嫌氣的発酵が常に行われるので、連続培養型の微生物生態系といわれる。この系は単なる混沌ではなく、そこには整然とした法則性があるのであり、これにより生態系の安定性が保たれ、宿主動物とのみごとな共生が営まれている。一般に微生物生態系は閉鎖系と開放系に大別される。開放系では栄養物質が絶えず供給され、微生物群の代謝産物や微生物細胞が連続的に系外に除去され、代謝産物の著しい蓄積が起こらず、微生物群のはっきりとした遷移減少は認められない。そこで、ルーメン生態系も開放系といえる。

ルーメン微生物生態系では細菌により嫌気発酵が担われている割合が大きい。ルーメン細菌は生態学的観点から3群に類別される。これらは、ルーメン内に常在し、かつルーメン発酵の特定の作用能を説明するのに十分な数(約10⁶個/mL以上)で存在する主導菌、幼獣のときからルーメン内に多数出現し、成獣では減少するが比較的多く常在する固有菌、飼料などとともルーメン内に侵入するが、ルーメンに定着せず容易に排除される一過性外来菌から構成される。

また、培養法によりルーメン内から分離される細菌は、酸素に対する発育応答によって、①嫌気的環境下でのみ発育する偏性嫌気性菌、②嫌気的環境と好気的環境のいずれでも発育できる通性嫌

気性菌、および③好気的環境下でのみ発育する偏性好気性菌に大別される。これらの中で主導的な役割を担っているのは偏性嫌気性菌群である。しかし、培養できるルーメン細菌は限られており、全体の数~20%程度とされている。近年、分子生物学的手法の進展により、ルーメン内には生存しているが培養不能な細菌(viable but not cultured VBNC)が多く生息していることが明らかになり、ルーメン生態系の理解は進んだが、その理解における複雑さは増大している状況である。

1) ルーメン細菌の種類と機能

ルーメン細菌は機能的な面からはセルロース分解菌、澱粉分解菌、中間代謝産物利用菌およびメタン菌などに分けられる。中間代謝産物利用菌

表5 ルーメン微生物の代謝的性質

| 微生物 | 発酵能 | | | | | | | | | | 発酵産物 | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|-------|--------|----|--------|-------|-------|--------|----|-----|----------|------|----|--------|----|----|------|-------|----|-----|----|
| | セルロース | セロビオース | 澱粉 | デキストリン | マルトース | グルコース | フルクトース | 乳酸 | 蛋白質 | 水素・二酸化炭素 | ギ酸 | 酢酸 | プロピオン酸 | 酪酸 | 乳酸 | コハク酸 | 二酸化炭素 | 水素 | メタン | 多糖 |
| 1. セルロース分解菌 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Fibrobacter succinogenes</i> | + | + | ± | ± | ± | + | - | • | + | • | + | + | + | - | - | + | • | - | - | ± |
| <i>Ruminococcus flavefaciens</i> | + | + | † | - | † | † | - | • | • | • | ± | + | - | - | ± | + | • | ± | - | ± |
| <i>Ruminococcus albus</i> | + | + | - | - | ± | ± | † | • | • | • | + | + | - | - | ± | ± | + | + | - | ± |
| <i>Eubacterium cellulosolvens</i> | + | + | - | • | ± | + | ± | • | • | • | + | + | • | • | + | • | • | • | - | ± |
| <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> | ± | + | + | + | + | + | + | † | • | + | + | - | + | + | ± | + | + | - | ± | |
| 2. デンプン分解菌 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Ruminobacter amylophilus</i> | - | - | + | + | + | - | - | • | + | • | + | + | + | - | ± | + | • | • | - | + |
| <i>Streptococcus bovis</i> | - | + | + | ± | + | + | + | - | • | • | ± | ± | - | - | + | - | ± | - | - | + |
| <i>Succinimonas amylolytica</i> | - | - | + | + | + | + | - | - | • | • | ± | ± | + | - | ± | + | • | - | - | + |
| 3. 可溶性糖類利用菌 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Prevotella ruminicola</i> | - | + | † | ± | ± | + | + | - | + | • | ± | + | - | - | ± | + | • | - | - | + |
| <i>Megasphaera elsdenii</i> | - | - | + | • | + | + | + | + | • | • | • | • | + | + | - | + | + | - | - | + |
| <i>Selenomonas ruminantium</i> | - | + | ± | ± | + | + | + | - | + | • | ± | ± | ± | ± | ± | ± | + | - | - | + |
| <i>Eubacterium ruminantium</i> | - | - | † | ± | ± | ± | ± | ± | + | • | + | + | + | - | ± | - | - | + | - | • |
| 4. メタン生成菌 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Methanobacterium formicicum</i> | - | - | - | • | • | • | • | • | • | + | - | - | - | - | - | - | • | • | + | • |
| <i>Methanomicrobium mobile</i> | - | - | - | • | • | • | • | • | • | + | - | - | - | - | - | - | • | • | + | • |
| <i>Methanobrevibacter ruminantium</i> | - | - | - | • | - | - | - | - | • | + | - | - | - | - | - | - | • | • | + | • |
| 5. 真菌 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Neocallimastix</i> sp. | + | + | + | • | + | + | • | • | + | • | + | + | - | • | + | - | + | + | - | ± |
| <i>Piromyces</i> sp. | + | + | - | • | + | + | • | • | + | • | + | + | - | • | + | - | + | + | - | ± |
| <i>Caecomyces</i> sp. | ± | + | ± | • | + | + | • | • | + | • | + | + | - | • | + | - | † | • | - | ± |
| 6. プロトゾア | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Dasytricha ruminantium</i> | - | ± | - | • | ± | + | + | - | + | • | • | + | • | + | + | • | + | + | - | + |
| <i>Isotricha</i> sp. | - | ± | + | • | - | + | + | - | + | • | • | + | - | + | + | • | + | + | - | + |
| <i>Entodinium</i> spp. | † | • | + | + | + | + | - | + | + | • | + | - | + | • | • | + | + | - | + | |
| <i>Epidinium</i> sp. | + | • | + | • | + | + | - | + | + | • | + | - | + | • | • | + | + | - | + | |
| <i>Polyplatron multivesiculatum</i> | + | • | + | • | + | - | + | + | • | • | + | - | + | • | • | + | + | - | + | |
| <i>Ophryoscolex</i> sp. | + | • | + | • | • | + | - | + | + | • | • | + | - | + | • | • | + | + | - | + |

± 多くの種類が利用または生産 † 少数の種類が利用または生産 • データなし

は、ルーメン発酵で作られたエタノール、乳酸、コハク酸、ギ酸、水素などを利用する菌群である。しかし、これらの菌群は必ずしも単一種が一つの機能をもつものではなく、例えばかなりの細菌が蛋白質分解活性を示すように、いずれも多様な基質利用性と代謝特性をもっている。また、多くの細菌にはアンモニアからアミノ酸や蛋白質を合成し、増殖できる機能がある。通常よく検出される細菌は以下の通りである(表5)。

(1) セルロース分解菌

① *Fibrobacter succinogenes* ルーメン内から分離された最初のセルロース分解菌で、ウマ、ブタ、ウサギの下部消化管にも生息するグラム陰性桿菌。セルロースのほかグルコース、セロビオース、ペクチンなども利用できる。菌株によっては数種の二糖類や澱粉も利用できる。セルロースより、酢酸、コハク酸、ギ酸などを生成する。

② *Ruminococcus albus* ウシなどのルーメン内に多数生息する小型のグラム陰性球菌で、セルロース、キシロース、キシランを利用するが、他の糖類を利用できない狭食性セルロース分解菌である。発酵産物には酢酸、ギ酸、エタノール、乳酸などがある。

③ *Ruminococcus flavefaciens* グラム陽性連鎖球菌で、セルロース、セロビオース、キシランなどを利用する狭食性のセルロース分解菌。コハク酸、酢酸、ギ酸、乳酸などを生成し、黄色色素を作る特徴がある。

④ *Butyrivibrio fibrisolvens* 鞭毛をもち、運動性のあるやや大きい湾曲桿菌で優先菌の一つである。植物細胞壁の分解、脂質の分解と水素添加、蛋白質の分解の作用ももっており、広食性のセルロース分解菌である。分解により酪酸、酢酸、ギ酸、乳酸などを生成する。

⑤ *Eubacterium cellulosolvens* 鞭毛をもつ尖端性のグラム陽性桿菌で運動性がある。セルロースの他にグルコース、セロビオース、ガラクトース、キシランなどの各種の糖質を分解でき、ルーメン内のセルロース分解菌のうち50%を占める場合もあるほど多く生息している。

(2) 澱粉分解菌

① *Streptococcus bovis* 通性嫌気性グラム陽性球菌でしばしば連鎖状でみられる。グルコースな

どの糖類を利用するほか、澱粉、ペクチン、蛋白質なども分解する広食性の澱粉分解菌で、グルコースからは乳酸、酢酸、ギ酸などを生成する。増殖が速く穀類多給で急増し、アシドーシスや鼓脹症の原因菌の一つとされている。

② *Ruminobacter amylophilus* グラム陰性桿菌で澱粉、デキストリン、マルトースのみを利用するルーメン内で優勢な狭食性澱粉分解菌であり、多くの形態をもつ。澱粉からギ酸、酢酸、コハク酸、エタノールを生成する。

③ *Prevotella ruminicola* 多くの飼養条件下で多数存在するグラム陰性桿菌。澱粉、キシラン、ペクチンなどを利用する広食性の糖類分解菌で、コハク酸、ギ酸、酢酸、プロピオン酸などを生成する。

(3) 水溶性糖類分解菌

① *Selenomonas ruminantium* 三日月状のグラム陰性桿菌で比較的大きく、鞭毛をもち、運動性がある。グルコース、フルクトース、セロビオースなどを利用し、乳酸、酢酸、酪酸、ギ酸、プロピオン酸、コハク酸などを生成する。糖類の多給で急増する。細胞内に貯蔵多糖をもつ。

② *Eubacterium ruminantium* グラム陽性桿菌で、グルコース、セロビオースやフルクトースを利用できるが、澱粉やキシランについては分解能をもつ菌種ともたないものがある。

(4) 中間代謝産物利用菌

① *Veillonella alcalescens* 稀少の球菌で、連鎖、集塊を形成する。ルーメン内以外に、ウマ、ブタ、ウサギ、ヒトなどの下部消化管内にも生息する。ピルビン酸、乳酸、オキサロ酢酸、リンゴ酸、フマル酸などの中間代謝産物を利用し、酢酸、プロピオン酸、水素、二酸化炭素を生成する。

② *Megasphaera elsdenii* やや大型のグラム陰性球菌で、通常は二連球であるが8~10個の連鎖状になることがある。ブタやヒトの腸管内にも生息する。グルコース、フルクトース、乳酸などを利用し、カプロン酸、酪酸、バレリアン酸、水素、二酸化炭素を生成する。同様な乳酸利用菌としては、機能は劣るが *Veillonella parvula* がある。

③ *Desulfotomaculum ruminis* 周毛性鞭毛をもち運動性があるグラム陰性桿菌。硫酸塩の存在で乳酸、ピルビン酸、ギ酸を利用し、硫化水素を生

成する硫酸還元菌である。

(5) 脂質分解菌

Anaerobrio lipolytica 鞭毛をもつグラム陰性湾曲菌で、細胞外にリパーゼを分泌し脂質の分解に大きく寄与している。乳酸から酢酸、プロピオン酸、二酸化炭素などを生成する。

(6) メタン生成菌

① *Methanobrevibacter ruminantium* 運動性のないグラム陽性球状桿菌でルーメンでのメタン生成に大きく寄与している。通常、メタン生成の主な基質は水素と二酸化炭素であるが、ギ酸も濃度が高いと基質になる。酢酸や3-メチル酢酸も利用できる。ヒトの腸管内や嫌気性污水浄化槽内にも生息している。

② *Methanomicrobium mobile* 単毛性鞭毛をもち、運動性がある桿菌で、二酸化炭素と水素から、あるいはギ酸を利用し、メタンを生成する。しかし、酢酸などのVFA、コハク酸、ピルビン酸、エタノールなどは利用できない。

③ *Methanosarcina barkeri* 非運動性のグラム陽性菌で、古くから汚泥で認められていたメタン菌。メタン生成の基質は、水素、二酸化炭素、メタノール、メチルアミン、酢酸で、メチル基を二酸化炭素に酸化する機能をもっている。

(7) 大型細菌類

① *Oscillospira guilliermondi* 通常のルーメン内にみられるグラム陰性大型桿菌。両端が円形の線虫様形態で縞状の多くの横隔壁をもっており、容易に識別できる。しばしば高濃度で検出される。純粋培養されていないので、詳しい性質は分かっていないが、酪酸を多く生成する。

② *Eadie's oval* 大型の卵形菌で酵母様形態を示すグラム陰性菌で、鞭毛をもち運動性を示す。グルコース、フルクトースなどの水溶性糖類を分解し、乳酸、プロピオン酸、酢酸、二酸化炭素などを生成する。

③ *Quin's oval* 運動性を示す大型細菌であるが *Eadie's oval* よりもやや小さい。グルコースなどの水溶性糖類から乳酸を生成するとともに、多糖類を蓄積する。個体数はあまり多くないので、発酵に対する寄与の程度は大きくないとされている。

これらの細菌は反芻家畜が出生後、母獣などと

の接触によりルーメン内に定着するようになる。子牛の場合、細菌数は出生後急速に増加し、はじめは連鎖球菌と大腸菌が優先菌種となり $10^7 \sim 10^8$ 個/gの菌数となる。その後、これらの細菌は減少するが、代わりに相当数の偏性嫌気性菌が定着し始める。初期の streptococci は *Streptococcus faecium* であるが、次第に *S. bovis* が優先菌種となる。2週齢頃からは乳酸菌群が認められ、*Lactobacillus acidophilus*, *L. platarum*, *L. fermentum* などが多くなり、 $10^6 \sim 10^8$ 個/gで推移する。セルロース分解菌は比較的早く出現し、生後1週齢から認められ、乾草をかなり採食できるようになる3カ月齢では成牛とほぼ同じレベルとなる。キシランやペクチンを分解する菌群の変化もほぼ同様である。メタン菌や真菌はこれらに比べやや遅れて定着する。ルーメン細菌はこれまでに同定されたものだけでも80種以上に及ぶが、主要な菌群は20種程度とされている。

2) ルーメンプロトゾアの種類と機能

プロトゾアは細菌と同じ単細胞生物であるが、大型で複雑な体制と活発な運動性をもっている。ルーメンプロトゾアのほとんどは繊毛虫類で、他には鞭毛虫が少数存在する。プロトゾアは細胞が $10 \sim 200 \mu\text{m}$ と大きいので顕微鏡で容易に観察できる。飼料中の繊維、澱粉や蛋白質を活発に分解するが、アンモニアを利用できないことは細菌と大きく異なる点である。そのため、窒素源としては主に細菌を捕食し生育する。栄養素要求は複雑でいまだに無菌培養は困難である。

これまでに約300種以上のプロトゾアが検出されているが、わが国の反芻動物から見出されているのは約60種である。これらはヒツジ、ヤギ、ウシなどに共通して認められるが、宿主動物に固有のものも知られている。ルーメンプロトゾアは形態的には2つの科に属しており、個体前方の一部に繊毛を有するオフリオスコレックス科 (Ophryoscolexids) と体表全体が繊毛でおおわれているイソトリカ科 (Isotrichids) に分けられる。

(1) オフリオスコレックス科 (貧毛類)

この科に属するプロトゾアは細菌、澱粉、植物片などの粒状物質を主な栄養源としている(写真1)。また、繊維や蛋白質の分解、不飽和脂肪酸の水素添加に関与している。ルーメンでの繊維分解

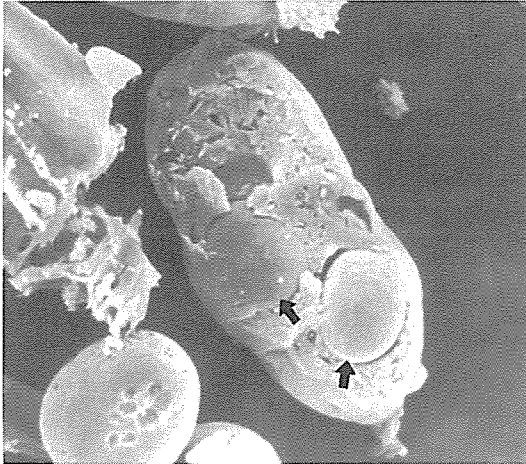


写真1 澱粉粒子を取り込んだプロトゾア

の30~40%はこの科のプロトゾアによるとされている。分解により酢酸、酪酸、二酸化炭素、水素などを生成するが、プロピオン酸の生成はほとんどない。蛋白質の分解産物としてはペプチドを多く生成する特徴がある。

① Entodiniinae 亜科

小型でほとんどの反芻動物のルーメン内から検出され、プロトゾア総数の70%以上を占める。約120種が知られており、いずれも細菌や澱粉などの粒状物質を主な栄養源とする。

② Diplodiniinae 亜科

形態的に異なる多くの種を含む。大型~中型が多いが、ルーメン内の生息密度はあまり高くはない。ウシでは大型種の *Eudiplodinium maggii* がしばしばみられ、最大種の *Polyplastron multivesiculatum* も高頻度で検出されるが、これらはセルロースを消化できる。*Polyplastron* とよく似ているが、小型のものに *Diplodinium affine* がいる。

③ Epidiniinae 亜科

中型~大型の *Epidinium* spp. が特にウシでしばしばみられるが、本種はB型のプロトゾア群に属し、A型群の *P. multivesiculatum* に選択的に捕食されるので同種とは共存できない。本種は澱粉粒子を好んで摂取する。

④ Ophryoscolecinae 亜科

中型の体型で体後方に多数の尾棘をもち、剛直な形態をしている。ウシからは *Ophryoscolex purkynjei* がしばしばみられる。

(2) イソトリカ科 (全毛類)

体表全体が短い繊毛に覆われ、ゾウリムシ状をしている。オフリオスコレックス科に比べ体構造の分化が少なく、種の数も少ない。ウシをはじめ多くの家畜から検出されるが、個体数が総プロトゾア数の10%を超えることはほとんどない。

主なものは大型の *Isotricha* 属 (*I. intestinalis* と *I. prostoma*) と小型の *Dasytricha* 属 (*D. ruminantium*) で、これらは通常ほとんどのウシで認められ、ルーメン内で活発に動き回る。飼料が給与されると個体数が直ちに急増し、その後は減少するという日周変化を示す。グルコース、フルクトース、ショ糖などの可溶性糖類を好み、酢酸、酪酸、乳酸などを生成するが、プロピオン酸の生成はほとんどない。これらの糖類を多く含むビートなどを多く給与すると個体数は増加する。澱粉やイヌリンなどの多糖類を利用できるが、セルロース、ヘミセルロースなどの構造的炭水化物を利用できない。蛋白質を分解できるが、貧毛類に比べると活性は低い。脂質の不飽和脂肪酸の水素添加能を持っている。

新生子牛にはプロトゾアは見られず、子牛へのプロトゾアの感染はそれを含む成牛が嘔み戻したルーメン内容物との接触感染によって行われる。普通はこれによって、生後2~3週齢で小型の *Entodinium* spp. が定着するようになり、その後各種のプロトゾアが定着する。プロトゾアはpHに対する抵抗性が弱く、pH6以下の状態が長く続くとルーメンから消失することがある。これは濃厚飼料を多給する肥育牛でしばしばみられる。

3) ルーメン真菌類の種類と機能

ルーメン真菌はラクダ、ウマ、ロバ、ゾウ、サイからも単離されている。これまでに *Neocallimastix* 属、*Piromyces* 属など5属17種が知られている。遊走子は球形、楕円形などさまざまで、単一~多数の鞭毛をもつ。いずれも個体数は少ないが、強い繊維分解能をもっており、飼料片の奥深くに菌糸を進入させ、細胞壁を破壊できる特徴をもっている。真菌は多くの種類の細胞壁分解関連酵素を生産でき、セルロソームをつくり細胞壁を効率よく分解する。しかし、ペクチンの分解に関与する酵素活性はほとんど検出されないが、蛋白質分解活性をもっている。ほとんどの菌株はセ

ルコース、キシラン、澱粉などの多糖類や可溶性糖類を分解し、水素、二酸化炭素、ギ酸、乳酸、コハク酸、酢酸、エタノールを生産する。飼料中の繊維成分が多いほどルーメン真菌の密度は高いが、粗飼料のみの場合よりも濃厚飼料が適量給与されている方が遊走子数は高くなる。真菌はルーメン内だけでなく、大腸まで消化管全体に分布している。

ルーメン真菌はメタン菌とは共生関係にあり、共存により真菌類のセルロース分解活性は高まる。

真菌の生活環は、鞭毛をもち運動性を示す遊走子のステージと、非運動性で栄養成長と繁殖のステージに大別できる。遊走子は成熟した遊走子嚢から生育場所の液相中へと放出される。飼料がルーメンに入ると30分以内に遊走子が放出され、植物片の破断部分などに向かって移動する。遊走子が植物片に付着すると鞭毛が脱落し、被嚢胞子となり発芽する。その後仮根が植物組織へ侵入し遊走子嚢を形成し、これが成熟すると遊走子の放出が起こり、つぎの生活環が始まる。通常、一つの生活環は24～32時間で完了する。

4) ルーメン微生物の存在様式

ルーメン内は均質な構造ではなく、液状部と固形部とからなっており、それぞれに存在する細菌の種類構成には差が認められる。湊（1985）は、ルーメン細菌を微生物生態学的視点から考察し、その生息している場から、遊離型菌群、固形性飼料固着菌群、ルーメン上皮固着菌群、プロトゾア体表固着菌群に群別した。

(1) 遊離型菌群

液状部には多種類の細菌が浮遊した状態で生息している。これらは、広食性のセルロース分解菌および澱粉分解菌の一部、ヘミセルロース分解菌、グルコースなどの水溶性糖類分解菌、コハク酸などの中間産物利用菌の一部および脂質分解菌などから構成されている。

(2) 固形性飼料固着菌群（写真2）

ルーメン内に存在する菌群全体のうち、50～75%は固形性飼料部に付着しており、ルーメン発酵の活性に重要な役割を果たしている。セルロース分解菌、澱粉分解菌など各種の菌群から構成されている。固形飼料のルーメン内滞留時間は液状部

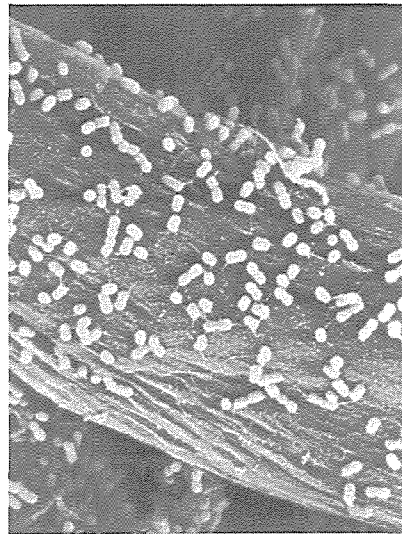


写真2 セルロースに付着したルーメン細菌
（工藤原図）

に比べると長いので、飼料に付着する菌群はルーメン内に長く生存でき数的にも主要な菌群となりうる。これらが分泌する消化酵素は液状部に拡散することなく、飼料に直接作用してそれを分解することができ、分解産物は細菌に効率的に取り込まれる。したがって、遊離型菌群に比べ飼料の分解活性は高い。

(3) ルーメン上皮固着菌群

ルーメン粘膜を通じて血液中の酸素の一部がルーメン内に拡散するが、そこには主にグラム陽性の通性嫌気性菌が生息し、酸素を利用している。これにより、ルーメン内の酸素は除去され酸化還元電位は低く保たれる。また、上皮細胞は常に一部が剥離し脱落するが、これに多数の蛋白質分解菌が付着しそれを消化する。さらに、血液に含まれる尿素の一部が流入するが、これは上皮に固着する尿素分解菌により分解されアンモニアが生成される。ルーメン上皮固着菌群の数は全ルーメン細菌の約1%と少ないが、このように独特な機能によってルーメン発酵に重要な役割を果たしている。

(4) プロトゾア固着菌群（写真3）

プロトゾアの体表には数種の細菌が付着し、プロトゾアが生成する発酵産物を利用している。このなかでよく知られているのはメタン菌である。プロトゾアは水素を発生するが、メタン菌は二酸

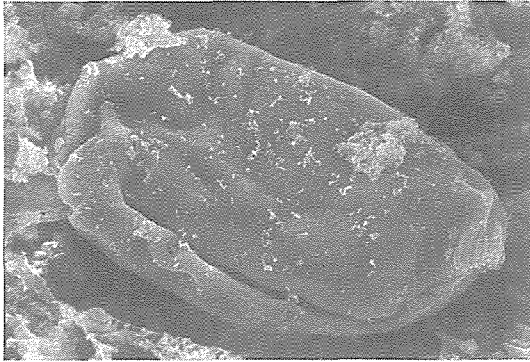


写真3 プロトゾアの体表に付着する細菌群
(小林原図)

化炭素を水素により還元しメタンを生成する。水素は微生物の発酵に阻害的に作用するので、メタン菌による水素の除去(消費)はプロトゾアの発酵能の増強に寄与しており、両者は栄養的に相利共生の関係にある。各種のプロトゾアにメタン菌が付着するが、全毛類に属するプロトゾアでは付着は観察されていない。近年、細菌はプロトゾアの体表よりも細胞内に多く生息していることが明らかとなった。また、メタン菌はほかの細菌に比べ増殖速度は遅いが、プロトゾアに付着することで、ルーメンからの流下が遅れ生存に有利になる。これはメタン生成を抑制する上で重要な点である。

このように、ルーメン細菌にはそれぞれ特有な生存様式があるが、細菌をはじめとした微生物は互いに共生的な関係にあることが重要な点である。ルーメン内に流入した飼料は、セルロース分解菌や澱粉分解菌などによって分解されるが、これらの細菌の増殖にはほかの細菌が産生する脂肪酸が必要であり、また、発酵で生じた水素がメタン菌により除去されることでセルロース分解活性などが維持される。さらに、中間産物利用細菌は他の微生物が生成し、あまり利用しない有機酸類などの発酵生成物を利用し、生存している。このように、ルーメン内では基質あるいは発酵生成物の授受を通して各種の微生物間で複雑な関係がつけられている。これにより、ルーメン微生物生態系は全体として強固で安定したものとなり、さま

ざまな飼料に対して微生物が適応することが可能となる。

5) 細菌制御物質

また、近年、ルーメン細菌が産生し、他の細菌の生存に影響するなど細菌制御に関わる以下のような因子の検出に関する研究が進展し、これらの応用が検討されている。

(1) バクテリオシン

バクテリオシンは、細菌が産生する抗菌作用を示すペプチドで、その抗菌スペクトラムは多様である。ナイシンは、ルーメン細菌ではない *Lactococcus lactis* が産生するバクテリオシンで、グラム陽性菌のペプチドグリカンの合成を阻害することで抗菌作用を示すので、食品産業などで実用化されている。ルーメン発酵に及ぼすナイシン添加の影響を調べた結果によれば、メタン生成の抑制、プロピオン酸生成の増大、アンモニア産生の減少が認められ、抗生物質モネンシンの代替物としての応用が考えられている¹¹⁾。ルーメン細菌由来のバクテリオシンについては、*Streptococcus bovis*, *Butyrivibrio fibrisolvens* など数種の細菌からのその単離と性状の確認が進められている。これらの利用による安全なルーメン発酵制御技術が開発されることが期待される。

(2) 細胞間情報伝達物質

グラム陰性の海洋細菌 *Vibrio harveyi* では細菌細胞間の情報伝達について研究され、細胞密度感知システムの存在が知られている。このシステムは当該細菌の密度が高くなると蛍光物質産生を開始させるもので、菌密度に依存して菌体外に情報伝達物質が分泌され、この濃度が一定以上になるとそれを感知した菌細胞が蛍光物質の産生を始めるというものである。本システムは2種類の情報伝達物質で稼働し、オートインデュサー1(AI-1)および2(AI-2)と呼ばれる。近年、ルーメン細菌からAI-1およびAI-2が検出され、ルーメン内でも細胞密度感知システムが存在することが示された。このシステムの作用機序の解析がすすめば、特定の細菌種あるいは広範囲の細菌種の制御が可能になることが期待される。