

異なる飼養管理下におけるホルスタイン乳牛の
ルーメンプロトゾアの観察

照井英樹・安宅一夫

Observations of the rumen protozoa of Holstein cows under various feeding systems

Hideki TERUI and Kazuo ATAKU

酪農学園大学紀要 別刷 第31巻 第2号

Reprinted from

”Journal of Rakuno Gakuen University” Vol.31, No.2 (2007)

異なる飼養管理下におけるホルスタイン乳牛の ルーメンプロトゾアの観察

照井英樹¹⁾・安宅一夫²⁾

Observations of the rumen protozoa of Holstein cows under various feeding systems

Hideki TERUI and Kazuo ATAKU
(October 2006)

緒言

近年の畜産を取り巻く環境の変化に伴い、乳用ホルスタイン牛の飼養形態も、フリーストール牛舎、混合飼料給与 (TMR) に代表される集約的管理や循環型集約的放牧、あるいは観光資源としての粗放型放牧など、多様化する傾向が見られる。一方、飼料利用の効率化を求める結果、ルーメン発酵の変化や繁殖率の低下など、乳牛およびルーメン内微生物に対する様々な負荷が問題視されている。ルーメン内微生物は、飼料の発酵のほか、菌体タンパク質として良質なタンパク質源とされているが、飼養管理方法によってはルーメン内環境への影響が大きく、高い生産性を求めるために発酵性の高い飼料の多量給与を行うと、微生物活動の制限、すなわち菌体タンパク質の生産量の減少などの影響が指摘されている。しかし、飼養方法の違いによる影響の検証例は少ない。本研究では、北海道内の酪農家数戸の協力を得て、異なる飼養管理下における牛体への影響を検討するため、ルーメン液内のプロトゾアの分布と活性を調査、検討した。

方法

(1) 調査対象

調査対象は北海道内で飼養されている乳用ホルスタイン泌乳牛とし、以下の5戸の酪農家を選定した (表1)。A牧場：江別市内の農場にて飼養されていたホルスタイン泌乳牛よりランダムに選択された牛 (n=2) を対象とした。B牧場：江別市内の酪農家で飼養されていた北米からの輸入高泌乳牛 (n=1) を対象とした。C牧場：安平町内の酪農家で、2004年

および2005年度の牛群平均検定乳量の北海道記録を取めた牛群のトップクラスの乳牛 (n=4) を対象とした。D牧場：豊頃町内の酪農家で、年間検定乳量が2万kgを超える、または超えると見込まれる乳牛 (n=3) を対象とした。E牧場：洞爺湖町内の酪農家で、搾乳時のみ繋留しそれ以外を放牧飼養している牛群の牛 (n=3) を対象とした。

(2) ルーメンジュースの採取

対象牛には、ルーメン内pHが最も低くなると推定される濃厚飼料成分の採食2時間後に手動式ポンプを口よりルーメンに挿入し、ルーメンマット直下部のルーメンジュース約200mlを2回採取した。その後すみやかにpHを計測し、約37度の温湯に保管、顕微鏡による観察に供した。

(3) ルーメンプロトゾアの観察

採取したサンプルは、サンプル液の入った瓶をゆっくりと攪拌後、サンプル瓶の中央部分のルーメン液を約0.2ml採取し、顕鏡に供した。島津製作所製カメラ付顕微鏡 (GLB-B1500MBIT型、対物レンズ倍率10倍) にて観察、カバーガラスの中央部を1サンプルあたり約2分間×3回顕鏡し、デジタルビデオカメラにて撮影した。ビデオテープに録画された動画はパーソナルコンピュータに、繰り返し再生しても画質が劣化しないようデジタル信号 (AVI形式) として記録、保存した。各動画について、撮影開始から一定時間 (1分30秒) 経過後より10秒間に画面上に現れる全プロトゾアの個体数と活性度を目、亜科ごとに分類^[4,5,6]し、計測した。対象牛の産乳成績は、直近の乳牛検定結果を用いた。

¹⁾ 株式会社アイデーイーシー (酪農学園大学短期大学部非常勤講師)
IDEC Abira, Hokkaido, 059-1433, Japan

²⁾ 酪農学園大学酪農学部酪農学科家畜飼料科学研究室

Faculty of Dairy Science, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido, 069-8501, Japan

表1 サンプル採取牧場の概要

牧場	A	B	C	D	E
飼料給与方法	TMR	分離給与	TMR+ トップドレス	分離給与	分離給与+ 放牧草
飼養形態	フリーストール	繋留	繋留	繋留	繋留/放牧
給与粗飼料 ^A	GS・CS ^B	チモシー乾草	GS・CS ^B	GS	放牧草
濃厚飼料給与回数 (回/日)	—	4	4	5	4
サンプル採取頭数	2	1	4	3	3
産乳量 (kg/日)	27.5	23.8	58.9	46.7	27.2
乳脂率 (%)	3.8	3.9	3.0	3.6	3.7

^A GS: グラスサイレージ, CS: コーンサイレージ

^B TMRの場合はTMRの粗飼料成分

結果および考察

表2に調査結果を示した。ここでは、TMRを給与されているA牧場のpHが最も低い結果となった。一般的にTMRは濃厚飼料を摂取する際に粗飼料も摂取するので、唾液の分泌量が高く、ルーメンpHを一定に保つ効果が期待される。A牧場では、グラスおよびコーンサイレージを粗飼料としたTMRを調製し、1日1回給与していた。TMRの給与直後から、牛がそのTMRの濃厚飼料部分を選び食っており、そのためにルーメンpHが低い値となったと考えられる。一方で、パラチディウム目のプロトゾアの個体数、活性度とも、A牧場の対象牛は調査対象酪農家中トップレベルであった。ルーメンプロトゾアは、ルーメン内での飼料の分解に加え、ルー

メンバクテリアを捕食することも知られている^[4]。A牧場の場合、プロトゾアが飼料を分解することで消化率を高める作用の一方で、プロトゾアのバクテリア捕食活動により、ルーメン内の特定または複数の発酵が抑制されている可能性が考えられるので、今後更に詳細な調査が望まれる。低いルーメンpHと高いプロトゾアの数および活性の関連は今後の検討課題となる。

B牧場の対象牛は受精卵移植のドナー牛として供されており、サンプル採取時点で日乳量は23.8kgであった。給与飼料は、チモシー乾草を不断給与し、濃厚飼料および製造粕類を産乳量に応じて1日4回に分けて給与する方法で、ルーメンpHも一般的な泌乳中期の乳牛におけるルーメンpHと近い値であった。ルーメンプロトゾアは、パラチディウム

表2 採取ルーメン液のpHおよびプロトゾアの動画観察結果

牧場	A	B	C	D	E
平均ルーメンpH	6.20	6.33	6.78	6.42	6.70
パラチディウム目	個体数 (平均)				
イソトリカ科	9.0	12.9	1.9	5.1	3.3
エントディニウム目					
オフリオスコレックス科					
エントディニウム亜科	45.1	17.0	74.0	26.2	10.8
ディプロディニウム亜科	—	0.2	1.1	1.8	0.5
エビディニウム亜科	—	—	—	—	1.4
オフリオスコレックス亜科	—	—	4.5	—	—
各プロトゾアの運動量(◎=活発, ○=普通, △=静止)					
パラチディウム目					
イソトリカ科	◎	○	◎	○	◎
エントディニウム目					
オフリオスコレックス科					
エントディニウム亜科	◎	○	◎	△	△
ディプロディニウム亜科	—	○	○	○	△
エビディニウム亜科	—	—	—	—	○
オフリオスコレックス亜科	—	—	◎	—	—

目の占める割合が高く、パラチディウム目エントディニウム亜科のプロトゾアの個体数は少なかった。この対照牛の産乳量は極めて高く、その生理的特徴を示唆する報告もある^[3]が、ルーメン内環境と生産性の関連性については、バクテリアフローラ等も含めた検討が必要と考えられる。

C牧場では、細胞壁消化酵素を含む添加剤を使用して調製されたグラスおよびコーンサイレージを粗飼料としたプレミックス TMR に加え、1日に4回、産乳量に応じて濃厚飼料をトップドレスする飼養方法であった。対象牛の平均乳量が調査酪農家中最も高かった(58.9 kg)。一般的に、産乳量が高くなるほどエネルギー密度の高い濃厚飼料を多給し、濃厚飼料中の炭水化物が急激に発酵することでルーメン pH が低くなる傾向があるが、対象牛の平均ルーメン pH は 6.78 と調査酪農家中で最も高い値となった。C牧場の対象牛の場合、乾物摂取量が平均で 23.9 kg と高く、全飼料中に占める粗飼料の割合が高いという特徴が見られた。C牧場の粗飼料が細胞壁分解酵素を含む添加剤を用いたサイレージであり、そのために高品質かつ高消化率^[1,7]のサイレージであったと推測される。したがって、一般的なサイレージと比較してルーメンでの消化率が高く、粗飼料から相当のエネルギーを摂取できると推測され、その分濃厚飼料由来のエネルギーへの依存を抑えることが可能なためと考えられる。C牧場で飼養されている対象牛のルーメンプロトゾアは、その数、種類、活性度とも、全対象酪農家中でもっとも高く、特にエントディニウム目エントディニウム亜科とみられるプロトゾアは、全対象農家中最も高い個体数および活動度を示した。また、他の調査対象では見られなかった、エントディニウム目オフリオスコレックス亜科のプロトゾアが観察されたのもC牧場の特徴であった。以上の結果から、C牧場の対象牛の場合、プロトゾアによる飼料の発酵、分解も高い乳生産を支えている可能性が示された。しかし、乳脂率は対照牛群中最も低く、プロトゾアによる繊維分解菌の捕食の可能性も推測され、今後詳細な調査が望まれる。

D牧場では、高品質グラスサイレージを不断給与し、他の飼料は1日に5回に分けて給与されていた。また、給与順も粗剛な飼料から順に給与し、非構造性炭水化物の割合が高い飼料を最後に給与することでルーメン発酵の安定を図る、などの工夫がみられ、調査対象牛の平均産乳量が全対象農家中2番目に高かった。また、体重あたりの乾物摂取量の推定量も全調査対象農家中で最も高く(4.6%)、乳脂率も高

い水準であった。ルーメンプロトゾアの個体数、特にパラチディウム目の個体数は低かったが、エントディニウム目ディプロディニウム亜科とみられるプロトゾアが観察された数は全対象農家中もっとも多かった。今回の調査では、D牧場におけるルーメンプロトゾアと高い産乳の関連を説明する項目は確認されなかったが、ルーメンジュースの性状は、全酪農家、全対象牛と比較して特に粘度が低い状態であった。調査に先立って飲水の制限は行われなかったことから、粘度の低さは飲水の影響も考えられるが、サンプル採取牛の全てが同様の物理的性状を呈していたので、飲水以外の要因、もしくは、飲水行動が他の牛群よりも促進されるような要因の影響と考えられる。

E牧場では、朝晩の各搾乳前後に濃厚飼料を給与し、搾乳時間以外はペレニアル・ライグラス主体の放牧地で放牧草を自由採食していた。パラチディウム目のプロトゾアが個体数、活性ともに高いが、エントディニウム目のプロトゾアは、全調査対象中最も少なかった。また、エントディニウム亜科のプロトゾアは、移動は少ないが繊毛の活動が確認される個体が多く見られた。また、エビディニウム亜科とみられるプロトゾアも少数存在した。採取したルーメンジュースには泡沫も見られたが、泡沫鼓張症の原因となるレベルではなかった。これらの結果から、E牧場の対象牛ではルーメンプロトゾアによる発酵は他の調査対象牛よりも少ないことが示唆された。E牧場の乳脂率は、産乳量と比較して低いレベルだが、これは放牧草中に含まれる繊維が不十分であることと、放牧草中に含まれる脂肪酸の影響も考えられる^[2]が、今回の調査では、プロトゾアの活動との関連を示す明確な情報は得られなかった。

ルーメン pH が低いA牧場とB牧場ではイソトリカ科のプロトゾアが多くなる現象がみられた。一般的に、発酵性炭水化物の摂取量が高くなるとルーメン pH は低下しやすくなる。イソトリカ科のプロトゾアは、構造的炭水化物よりも非繊維炭水化物の分解活性が高い^[4,5,6]。A牧場、B牧場ともに濃厚飼料成分の摂取量が比較的短時間に集中する傾向があり、それがイソトリカ科のプロトゾアの個体数に影響する要因の一つと考えられる。一方エントディニウム目には構造的炭水化物の分解活性が高いプロトゾアがあり^[4,5,6]、本研究の結果ではサイレージの給与が行われていたA、CおよびD牧場では全プロトゾア中のエントディニウム亜科の割合が高かったが、チモシー乾草を自由採食させていたB牧場および高水分粗飼料(放牧草)を給与していたE牧場の結果は

これと一致しなかった。このことから、サイレージの給与とプロトゾア組成におけるエントディニウム亜科の割合とに何らかの関連性が推測された。今後は摂取飼料成分とプロトゾア組成のより詳細な検討が望まれる。

本研究では大部分の酪農家で、産乳量などによって飼料給与量が毎日微調整されており、粗飼料は自由採食、または TMR 給与とされている場合が多く、栄養成分の詳細な摂取量は把握できなかったため、今後は飼料および栄養成分の摂取量とルーメン内環境との関連を検討することが望まれる。調査対象牛のうち、B牧場、C牧場、D牧場の対象牛は、いわゆるスーパーカウと呼ばれる水準の産乳成績を収めていた。スーパーカウのように、一般的な高泌乳牛よりも高い乳生産を支える要因として消化率の高い飼料の給与が挙げられるが、その飼料を分解するルーメン内微生物の活動を高い水準で維持することも重要と言える。プロトゾアは菌体タンパク質としてアミノ酸組成に優れているが、下部消化管への流出が少ないことが指摘されている^[6]。したがって、乳牛が利用できる菌体タンパク質の生産量を増やすには、プロトゾアよりもバクテリアを増殖させるほうが効果的であると推測される。今後の研究においては、様々な飼養管理条件下でのルーメンバクテリアの組成および活動も精細に調査されることが望まれる。今回の調査では、ルーメンプロトゾアの活動をプロトゾアの固定を伴わずに行う方法としてコンピュータ上のデジタル画像を用いた。この方法では動画を繰り返し再生しても物理的に劣化する要因が無く、理論上画像の劣化はみられない。しかし、動画への変換および再生に使用したパーソナルコンピュータの処理能力およびデジタル画像の圧縮技術の限界から、移動速度の速いプロトゾアの場合は低速度再生を行うと画素が大きくなり画像が粗くなるので、プロトゾアの識別が難しくなり、分類上の誤差が比較的大きいと考えられる。今後は動画の低速再生時における解像度の確保が課題となる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、調査活動を快諾し暖かいご協力を頂いた各酪農家および従業員の皆様、また、サンプリングおよび解析作業その他において数々のご支援を賜った酪農学園大学家畜飼料学研究室の皆様へ深く感謝の意を表す。

要 約

北海道内における様々な飼養形態におけるホルス

タイン泌乳牛のルーメンプロトゾアの種類および活動を調査し、産乳成績との関連を検討した。TMR 牛群では、ルーメン pH は最も低く、プロトゾアの種類も少なかったが、その数と活動は高かった。産乳能力に極めて優れた形質を持つと見られる個体では、パラチディウム目のプロトゾアが多かったが、エントディニウム目のプロトゾアは少なく、活動も中程度であった。平均乳量が全国的に最高水準の牛群では、ルーメン pH とプロトゾアの種類および活動が高く、他の調査対象では確認されない種類のプロトゾアも見られ、高い乳生産との関連が示唆された。個体乳量が高い牛群では、エントディニウム目のプロトゾアが多く観察された。放牧牛群ではルーメン pH は高かったが、プロトゾアの個体数は最も少なく、パラチディウム目のプロトゾアを除き、活動も低めであった。いわゆるスーパーカウとルーメンプロトゾアの個体数および種類との関連性は確認できなかったが、摂取栄養成分とプロトゾア組成との関連性が示唆された。プロトゾアの活性と個体数はスーパーカウの高い生産性に影響をおよぼす一因であることが示唆された。

参 考 文 献

1. 艾尼瓦尔艾山, 安宅一夫, 檜崎昇, 野英二. *Acremonium cellulolyticus* Y-94 株由来の細胞壁分解酵素の添加がサイレージの発酵品質, 乾物回収率および細胞壁成分に及ぼす影響. 日草誌, 43, 406-412. (1998).
2. Mackle, T.R., J.K. Kay, M.J. Auldist, A.K.H. McGibbon, B.A. Philpott, L.H. Baumgard, and D.E. Bauman. Effects of abomasal infusion of conjugated linoleic acid on milk fat concentration and yield from pasture-fed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:644-652. (2003).
3. Terui, H., S. Hitomi, K. Nakata, E. No, Y. Handa, E. Miyagawa, and K. Ataku. p. 69-77. Observations of Rations, Feeding Managements, and Physiological Aspects of Super Cows in Hokkaido, Japan. Feeding management for high producing dairy cows in asian countries. Proceedings of 13 th Asia Dairy Conference. Rakuno Gakuen University. Ebetsu, Hokkaido, JAPAN. (2005).
4. 牛田一成. ルーメンプロトゾアの種類と生態. 新ルーメンの世界—微生物生態と代謝制御—. 第1章ルーメン内の微生物と生態. 2. 小野寺良次監修・板橋久雄編. 農山漁村文化協会.

- p. 29-43. 2004.
5. Van Soest, P.J. Rumen Microbes. p. 152-177. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press. Ithaca, New York. USA. (1987).
6. Yokoyama, M.T. and K.A. Johnson. Microbiology of the rumen and intestine. p. 125-144. The ruminant animal. D.C. Church (Ed.). Prentice Hall. New Jersey. USA. (1988).
7. 庄益芬, 安宅一夫, 野英二. 乳酸菌およびセルラーゼ添加アルファルファサイレージの発酵品質, 細胞壁成分および in vitro 乾物消化率に及ぼす貯蔵温度の影響. 日草誌. 45, 181-186. (1999).

Abstract

The rumen protozoa flora of Holstein cows under various feeding systems in Hokkaido was observed for examinations of the relationships with milk productions of the animals. The ruminal pH of cows of herd fed TMR was the lowest, and the variety of the rumen protozoa were also low, but those numbers and activity level were high. *Vestibuliferida* protozoa were observed in the rumen fluid of a cow whom genetic ability was expected to be very high, but the number of *Entodiniomorphida* protozoa was low, and their activity level was intermediate. Cows of a herd of which average milk production was the highest level in nation wide had high ruminal pH and the number of the protozoa is the highest among the observed farms, and the widest in the variety of the protozoa; there were unique protozoa which was not observed in the other farms. Those large number and wide variety of the protozoa may support the high level of milk production of the observed cows. The rumen juice of cows, whose annual milk yield were among the highest, contained many *Entodiniomorphida* protozoa. Cows on grazing showed high ruminal pH, but small in the number of the protozoa, and those activity levels were also low except *Vestibuliferida* protozoa. The relationships between “super cow” and the rumen protozoa was not confirmed, however, the results may indicate that relationships between intake nutrients and the rumen protozoa profile, and the number or variety or both of the rumen protozoa is one of the factors affecting the high production of “super cows.”