Infusoria の人工発生に就て

反芻胃の消化に関する研究 VI

神 立 誠・山 本 鎮 雄

(東京大学農学部)

The artificial development of rumen *Infusoria*

Studies on reticulo-rumen digestion VI

MAKOTO KANDATSU and SHIZUO YAMAMOTO

(Dept. Agr. Chem., Fac. Agr., Univ. of Tokyo)

緒 言

反芻獣の第1胃内に、多数棲息する *Infusoria* の栄養上の意義に関する研究の一部として、著者等は *Infusoria* の人工発生実験を行ったのでその結果を次に報告する。

Infusoria の人工発生に就て成功した報告は唯一つ赤司⁽¹⁾のものがあるのみであり、それによると第1胃内容を30%塩酸に40分、10~20%塩酸に24時間作用させて後中和、リンゲル血清(8:1)に培養すると *Entodinium*, *Dasytricha*, *Isotricha*, *Diplodinium* 等が活動体になる。

実験及び考察

(第1実験) 赤司⁽¹⁾は屠殺直後の牛より第1胃内容物を採取し、雑菌抑制の為に、各々1.5, 2, 3, 4%の塩酸で1分間処理し、之を3000回転10分間遠心処理した沈澱物を、薬6分、乾草4分を混合し、之に少量の水を加えた培養基で培養すれば *Infusoria* は包囊を形成するが運動は認められず、雑菌も生存すると報じた。

著者等は、第1胃に *Fistula* を着けた山羊より採取した第1胃内容物に就て実験を行った。

i) 新鮮な第1胃内容物に依る実験 採取直後の試料に、直接前記の濃度の塩酸を作用させ得た沈澱物を50cc三角瓶に入れ、培養液50ccを加えて38°Cで培養を行い24及び48時間後に100倍及び600倍で検鏡を行った。その結果は、酸処理に依り活動体は不活動体(活動体が活動を停止したのみで、形の変化は認められない。また真の包囊体か否かは確認していない)になるが再び活動体になる事は認められなかった。

ii) 塩酸処理後苛性ソーダで中和する実験

i) の実験に於いて遠心器にかける前に苛性ソーダで中和し pH6.8~7.2 にした後同様に培養を試みたが、結果はi) と同様であった。

iii) 風乾試料に依る実験 試料を約1mmの厚さに径

10cmのシャーレに入れ紙で覆つて室温で5~6日風乾し、酸処理後中和して培養を行つたが、その結果、何れも包囊体、又は活動体は認められなかった。又、酸処理を行わない試料に就いても検鏡したが、同様包囊体らしいものは認められなかったし、リンゲル液で洗つて、洗液を検鏡しても同様包囊体は認められなかった。

之は風乾の際に *Infusoria* が死滅し、溶解したものか又は雑菌に依る食害、或は顕微鏡下に於いて識別の困難な為であると考えられる。

(第2実験) 赤司は第1実験に於いて雑菌の存在は酸処理時間の短い為であるとして、それを各々10, 20, 30, 50, 及び60分に延長して、同様に実験を試みた結果同様に包囊体から活動体への回復は認められず、且雑菌の存在を認めたと報告している。

著者等は同様に時間を延長し、前実験 i) ii) 及びiii) と同様に追試を行つた。

結果は i) ii) に於いては包囊体らしいものは認められたが活動体は認められなかった。iii) に於いては、試料を充分風乾したもの及び生乾きのものに就て何れも包囊体、活動体共に認められなかった。

(第3実験) 赤司の方法に依つて、山羊の第1胃内容物を風乾して、酸処理し、次の様なAB2種の培養基を用いて実験を行つた。

i) 培養基の調整

(A) リンゲル血清液

リンゲル液8分及び牛血清1分

(B) 乾草浸出液とリンゲル液

野乾草 100g を 2l の水で約1時間煮沸し 1l に煮詰めそれを1晩放置した後再び30分間煮沸し之を濾過する。之を原液として更に10%リンゲル液で稀釈し、その10%溶液 95cc に更に新鮮な卵白の10%水溶液 0.5cc 加える。

尚赤司氏はチモシーを用いたが著者等は種々の禾本科植物より成る野乾草を用いた。

尚リンゲル液の組成は次の通りである。

NaCl	7.0g
CaCl ₂	0.2g
KCl	0.2g
蒸溜水	1l

ii) 試料の風乾及び酸処理

試料を直接径 10cm のシャーレに 5mmの厚さに入れ 2重ガーゼで覆い、室温で1〜7昼夜風乾して、その各々を10〜20%塩酸で24時間、又は30%の塩酸で40分間処理する。

iii) 培養並びに結果

上記の試料に就いて、処理後苛性ソーダで中和したものの、又はしないものをA、B両液の培養基を用い37〜39°Cで培養を行い、24及び48時間後に検鏡した。

その結果は凡て *Entodinium* 属及び *Diplodinium* 属の包囊体らしいもののみが認められたが、活動体は認められなかった。

赤司に依ると、試料を風乾して包囊体に変化させ、酸に対する抵抗性を与え、酸処理に依つて、雑菌を十分に除いて培養を試みた結果、酸処理後中和しない場合は30%塩酸で処理してB液で培養を行つた場合のみは包囊体の運動開始は認められなかったが、他は何れも認められ、且、雑菌は存在しない。又、此の場合 *Infusoria* は *Entodinium* 属のみで、他の属は認められない。その理由として、各属の酸濃度に対する抵抗性の異なる為であるとしている。

更に赤司は本実験に於いて苛性ソーダで中和して培養を行つた場合には *Diplodinium*, *Isotricha*, *Dasytricha* 等の活動体が認められたと報告し、A液はB液に比し良好な結果を得たと報じているが、著者等の実験に於いては、明らかに活動体は認められなかった。此処に著者等が包囊体と記したのは、前記第1実験の項に記したものと異つて、附録図版に、掲載した様な個体を示す事にする。此れが真の包囊体か否かに就いては確認していないが、便宜上以下第4実験iii) の場合を除き使用する事とする。

iv) *Infusoria* を遠心分離に依り集めた試料の風乾物を使用した実験

第1胃内容物をガーゼで濾過し、濾液を毎分3000回転10分間遠心分離して沈澱物をii)と同様に風乾し、中和して実験を試みた。

結果は、同様に包囊体のみを認め、活動体は認められなかった。

v) 定温器で風乾した試料に依る実験

濾紙を敷いたシャーレに新鮮な第1胃内容物を二重ガーゼで濾過し、その濾液を取り、38°Cの定温器で24、48又は72時間乾燥し、その各々に就て ii) と同様酸処

理し、中和して培養を試みたが、結果は iii) と同様、活動体は認められなかった。

(附図参照)

(第4実験) i) 第1胃内容液を培養基とした実験

第3実験に於いて活動体を認めなかったのは、培養基の不適に依るものと推定されるので第3実験 iii) の中和した試料を同動物の第1胃内容液を用いて培養を試みた。第1胃内容液は *Infusoria* の生育に最も良い条件を有する筈であるが、24、48時間後に検鏡した結果は、活動体、包囊体は共に認められなかった。

ii) 酸処理を行わない試料に依る実験

包囊体より活動体にならないのは酸処理に依る包囊体の衰弱が原因ではないかと推定して、第3実験ii)の試料を酸処理を略してB液に依り培養を試み24時間後に検鏡した結果は包囊体、活動体共に認められなかった。

iii) 風乾しない試料に依る実験

採取直後の試料中には、活動体の他に包囊体が存在する事も予想される。依つて、これ等の発生を検する為、採取直後の試料を直ちに第3実験 ii) と同濃度の酸で同時処理を行つて検鏡した。結果は30%酸処理の場合には *Infusoria* と認められる個体は認められず、20%酸処理では *Diplodinium* 属と想定される個体が少数認められ、10%酸処理では *Entodinium* 属と認められる個体が多数及び *Diplodinium* 属と認められる個体が少数認められた。

此処に見出された個体は風乾に依り得た包囊体に比し著しく形が小であつた。

次に、此れ等の試料を中和後、A、B両液で培養を試みて24及び48時間後に検鏡すると、処理直後と同様に包囊体は認められたが、何れも運動は認められなかった。30%酸処理に於いて個体が消失したのは著しく高濃度の酸に依り、死滅溶解した為と考えられる。

以上4種の実験に於いて何れも活動体の出現を認めなかった。その理由としては赤司の用いたのは牛の *Infusoria* であり、著者等のは山羊のそれであつた事があげられる。又 *Infusoria* は山羊反芻胃中で盛んに発生しているものであるから胃内の条件を与えれば発生する筈であるが、之等の点に就いては更に研究を続ける予定である。

総括

(1)山羊の第1胃から得た試料を用いて先に赤司の発表した牛の胃内容物を用いて行つた方法に従つて発生実験を試みた。

(2)試料を直接又は遠心分離に依り集めたものに就いて風乾の温度、時間等種々条件を変えて試みたが何れも活動体にならなかった。

(3)風乾又は酸処理を行わず、或は培養基として、第1

胃内容液を使用する等を試みたが、何れも活動体を認めなかつた。(1955, 7. 20受付)

引用文献

- 1) 赤司景 (1951) : 本誌, 23; 9.

Résumé

(1) The development of *Infusoria* found numerous in the rumen, was reexamined by AKASHI's method (this journal, 23; 9, 1951) using bovine rumen contents.

Rumen contents were obtained from an indigestion goat through a permanent rumen fistula adapted to it. The rumen contents were dried up for a different period of time at a different tempera-

ture immediately or after centrifuged, and used for culture. No motile organisms could be found in any of the samples.

(2) Rumen contents not dried up nor soaked in acid were cultivated with goat's rumen fluid as culture medium. But contrary to the results reported by AKASHI, no motile organisms were found in all the specimens.

I *Entodinium* II *Diplodinium*

第1 胃内容物を 38°C, 48時間乾燥後リンゲル液に浮遊して撮影