牛の鼓脹症と反芻胃内性状

星 野 貞 夫

三重大学農学部, 津市 514

Foamy Bloat and Related Reticulo-Ruminal Phenomena in Cattle

Sadao HOSHINO

Faculty of Agriculture, Mie University, Tsu 514

牛の鼓脹症は古くから知られており、栄養価の高いマメ科牧草の草地への放牧時に発生し、死亡することも希ではないから、草地を主体とする畜産業にとっては看過できない障害の一つである。また、濃厚飼料多給を特徴としているフィードロット肥育牛にも鼓脹症は発生し、わが国の肥育牛の疾病の3割近くを占め、呼吸器病と双壁をなしている¹⁾。鼓脹症による損失は、1) 急性な経過をたどる死廃および慢性的な発症のための淘汰、2) 発症牛の生産性の低下、3) 発症防止のための高栄養価牧草の低栄養価牧草への転換、4) 予防または治療のための医療費と労力、5) 発症による経営管理者の精神的肉体的苦痛、6) 鼓脹症の研究への投資などが見積られなければならない、これらの総計は莫大な額に達するものと思われる。しかし、通常は1)のみを損失として計上するが、それでも米国の年間損害額は400億円にのぼり、カナダ、ニュージーランド、オーストラリアなどでも相応な損害額が報告されている²⁾。わが国でもわれわれの試算では、肥育牛で最小に見積っても年間10億円は下らないものと思われる³⁾。

鼓脹症の発生率は気象状況によっても違い、世界の統計はなく正確なことは分らないが、報告されている数値からみると畜牛の1%程に発症している²⁾。わが国では、1961～1963年の平均で発生率19～38%、死亡率1.7～3.8%と報告されている⁴⁾。最近は飼養頭数も増え、大規模なフィードロット方式の肥育が増加していることから発症率、死亡率ともに増加するにしても減少していないものと推察される。

鼓脹症は発症率、死亡率も高く、それによって被る損害も大きいことから、これまでに多くの研究がなされてきた。総説も多く、最近のものを掲げるとCOLE and BODA (1960)⁵⁾、HUNGATE (1966)⁶⁾、CLARKE and REID (1970)⁷⁾ (1974)⁸⁾、REID ら (1975)⁸⁾、BARTLEY ら (1975)⁹⁾ などで、わが国では篠崎 (1966)⁴⁾、星野 (1981)¹⁰⁾ の総説がある。従って本総説では、これまでの研究のすべてをカバーすることを目的とせず、CLARKE and REID²⁾ が総括した研究とそれ以後の研究を中心に、特に発症因と関連した反芻胃内性状に力点をおいて概説することを試みた。

I. 鼓脹症の分類

鼓脹症は正常時にはあい気として排出される多量のがスが、何らかの原因で排出不能となり、ルーメン（以下第一胃、第二胃を含めルーメンという）に蓄積し、腹部が太鼓のように膨張し、そのため呼吸困難に陥り、窒息死するものを主徴としている。死に至らず、自然に治癒したり、発生をくり返す場合もある。COLE ら¹¹⁾ によれば、症状により次のように分類される。

1. 慢性鼓脹 飼料の質に関係なく腹部膨張がみられるもので、矮性牛や慢性的消化器障害か腹膜炎を患っている牛に発生する鼓脹症。飢餓時には発症しないが、飼料給与時には摂取量により発症状況は変化する。

2. 亜急性鼓脹 多汁のマメ科牧草とか濃厚飼料など特殊な飼養条件の下で発生する。排糞尿が頻繁になるとか呼吸困難などの苦痛症状はみられないが、ルーメン

圧は最高 57 mmHg までになる。

3. 急性鼓脹 亜急性鼓脹と同様だが、症状が急速に進み、頻排泄、呼吸困難など苦痛症状を示し、ルーメン圧は 45～69 mmHg となる。

HUNGATE⁶⁾ はルーメンガスの状況から遊離ガス鼓脹 (Free-Gas Bloat) と泡沫性鼓脹 (Frothy Bloat) とに分けている。それ以後の総説では、この分類によるものが多い^{2,7-9)}。遊離ガス鼓脹は継発性または単純性鼓脹ともよばれている¹²⁾。HUNGATE の観察によれば、この種の鼓脹はヘレホード種の矮性牛にみられ、あい気反射を抑制する生理上の欠陥がある。非常に少しの飼料しか摂取しないが、ルーメンのガス圧のため肋骨が奇形的に拡大していた。胃カテーテルを挿入すると噴門部で強い抵抗があり、それを突破するとガスが噴出し、腹部の膨張はほぼ正常となり、ルーメン内容物中の微生物に顕著な差異は認められなかったと報告している。このように遊離ガス鼓脹は、胃カテーテルまたは套管針による穿刺によって過剰のガスを排除できる点が特徴である。しかし、泡沫性鼓脹の場合には、そのような方法ではガスの排除ができない。

泡沫性鼓脹は、マメ科牧草鼓脹とフィードロット鼓脹にみられ、前者は牧草 (地) 鼓脹 (Pasture Bloat)、後者は穀物鼓脹 (Grain Bloat) ともいわれる。鼓脹症は慢性、急性を問わず泡沫性鼓脹が一般的で、本論でもこの種の鼓脹症を対象にしている。しかし、厳密に遊離ガス鼓脹と泡沫性鼓脹を分けることは、両方の性質をもった鼓脹症も観察されているから困難である⁵⁾。

鼓脹症状の軽重はルーメン圧の測定で判定するよう提唱されている⁵⁾が、研究の多くは腹部の膨張度合を触診、視診して判定している。ELAM ら¹³⁾ は腹部の膨張の程度から症状を軽、中、重度鼓脹に区別している。

II. ルーメンガス排出の生理

ルーメンには常時各種のガスが検出できる。その主なものは、二酸化炭素とメタンであり、ともにルーメン発酵の最終産物としてつくられる。二酸化炭素は唾液としてルーメンに供給される重炭酸塩からも生じる。この他に一酸化炭素、窒素、酸素、硫化水素、水素などが少量検出できる。これらのガスの割合は、飼料によっても変化するが、二酸化炭素 45～70%、メタン 25～30% である。McARTHUR and MILTIMORE¹⁴⁾ の分析例では二酸化炭素 65.35%、メタン 26.76%、窒素 7.00%、酸素 0.56%、水素 0.18%、硫化水素 0.01% である。

ルーメンガスはルーメン内容物に溶解している部分と遊離ガスの状態にあるものとが存在するが、これらはル

ーメン壁から吸収され、血液を介して肺から、内容物とともに下部消化管へ移動して、またはあい気反射で食道からのいずれかの経路で排出処理される。二酸化炭素のように溶解しやすいガスは血管系を経て排出される部分もかなりあるが、メタンは溶解しにくく、あい気反射での排出が主要な経路となっている¹⁵⁾。ルーメン発酵で生産されるメタンの割合は 15～20% であるが、ルーメンガス中のそれは 25～30% であることは、ルーメンに放出される二酸化炭素の 1/4～1/3 がルーメン壁から吸収されていることを示している⁶⁾。

ルーメンでのガス生産速度は、絶食中の牛で 0.2 l/min. 以下^{16,17)}、摂食後 2.0 l/min. が計測されている¹⁶⁻²⁰⁾。あい気反射で排出されるガス量は 10～50 l/hr. であり²¹⁾、羊では 6 l/hr. という値が報告されている²²⁾。従って、何らかの原因であい気反射が抑制、阻止されるとたちまちガスはルーメンに蓄積し、重大な事態を招くことになる。

あい気反射の機構は DOUGHERTY ら^{23,24)} によって解明され、反射は脳幹にあるあい気中枢に調節されている。あい気反射はルーメンにガスを吹き込んで内圧を高めると刺激される^{25,26)}。胸部背側迷走神経の電気刺激でもルーメン収縮運動の増加、あい気反射の増加が認められる²⁷⁾。通常、ルーメンの B 型運動のときにあい気反射はおきるが、A 型運動のときにも、また時としてルーメン運動なしでもおきる^{28,29)}。噴門部周辺がルーメン内容物、水、泡、鉱物油などのいずれで被われてもあい気反射は阻止される³⁰⁾。従って、あい気反射の誘起には噴門部周辺がきれいにされることが必要で、ルーメン運動はその条件を整える役割を果たしている。また噴門部周辺には反射を誘起または阻止する受容器の存在が示唆されている。

ルーメンの収縮でルーメンガスは前方上部へ押しやられ、同時に第一・二胃嚢 (特に羊) および前筋柱の収縮でルーメン前部の内容物は後方へ保持されるため、遊離ガスは第二胃の背部へ移動する。この時噴門が開口し、食道へガスが送りこまれ、咽頭一食道括約筋が閉じて食道はルーメンガスで満たされる。噴門および前横膈膜括約筋が閉鎖し、咽頭一食道括約筋が弛緩すると食道の早い逆ぜん動収縮でガスは食道から咽頭の方へ押しやられる。鼻咽頭括約筋の閉鎖でガスの多くは肺に入り、そこで吸収または呼気として排出される。こうしてあい気の半分以上が肺を経由することによってルーメンガスのフレーバーが乳汁に移行することもあるが、他方あい気による発生音を弱める作用もし、野生の反芻獣には外敵に発見されにくいという防衛的役割を果たしている²⁴⁾。

反芻食塊の吐き戻しや食道溝反射は、ガス排出への寄与は少なく、鼓脹症との関連はない。哺乳動物でみられる嘔吐反射も反芻動物では普通みられない。しかし、嘔吐反射はユリ科の植物 *Veratrum* のアルカロイドで誘起することができるので、嘔吐反射中枢が存在することを示している^{24,31)}。鼓脹症に罹患している時にも嘔吐反射はおきない。

III. 鼓脹発症時のルーメン内容物性状

鼓脹症牛のルーメン内容物は正常牛のそれとは外見的にも違い、牧草鼓脹の内容物は明るい緑色で、黄色が勝っている。また固形物は少なく、消化がより進んでいるように見える。正常牛のルーメン内容物は色調は黒ずんでいて、固形物が多く、液体部分は固形物と容易に分離し、激しく振ると上層部に泡が形成されるが徐々に沈降する。発症牛では、一見泡はみえず、振っても表面に泡の層が形成されないが、よくみると無数の小泡沫が内容物中に閉じ込められており、粘質な内容物のため上部へ浮上するものは少ない。しかし、これらの小泡は徐々に大きくなり、発酵が続くと新たな小泡が形成される⁹⁾。CLARKE and REID²⁾も鼓脹を発症しやすい個体のルーメン内容物は泡沫を安定させる細かい粒状物が多く、摂食後18時間目の内容物は発症しにくい個体のそれより乾物量が少なく、粗いせんいの食物残渣が少ないことを観察している。しかしこれらの観察とは逆に発症牛の内容物は乾物量が多いという報告もある³²⁾。BARTLEY³³⁾は発症牛の内容物より正常牛のそれの方がより水様性であるといっている。

ルーメン内容物の発症によって表われる外見上の差異は液体部分にある泡沫によるもので、泡沫が多くなると明るい色調になる。泡沫はルーメン液、飼料片、微生物などの微細な粒子に被われているが、分析してみると脂質が多く、色素、タンパク質、核酸などが検出できる³⁴⁾。クローバーで発症した牛のルーメン内容物はエタノールで沈でんする粘質物が多く含まれ、この粘質物は61～64%のタンパク質、8～14%の糖質、7～10%のリボ核酸を含んでいた³⁵⁾。

一般にルーメン内容物は泡立つ性質があるが、普通には泡は消えやすく、泡の量も多くない。しかし鼓脹症ではタンパク質様の薄膜にガスが閉じ込められた泡³⁶⁾が形成されるため泡は強固で、消泡せず持続する。ルーメンで生産されたガスの多くは小泡となって内容物を通過し、ルーメンの気層との界面で消泡し、ガスを放出し、ルーメンのガスキャップ(遊離ガス層)をつくる。ガスキャップはルーメン運動で効果的に噴門部方向へ移動

し、あい気反射が連動して排出される。ところが鼓脹症では泡が消えないために遊離ガスとして放出されず、そのうえ泡沫のためにルーメン内容物の容積が増大し、噴門部の清浄化が困難となるのであい気反射が抑制され、ガスの排出ができなくなる。泡立ったルーメン内容物が食道に入ると少量が口腔へ吐き出されるが、同時に燕下反射が誘発されるためガスの排出に役立たない。このように鼓脹症はルーメン内容物中に安定な泡沫が発生することが原因であるとする研究は多い^{19,37-42)}。実験的にも卵白を与えて泡沫性状をつくり、発症させた例もある⁴³⁾。

ルーメン内容物に発生する泡は、他の分散系の場合と同様熱力学的に不安定で、特に界面自由エネルギーが大きく、正であると不安定となり、消泡して界面積を減少させ安定する。ところが、ある種の泡の場合には熱力学的にも安定な場合があり⁴⁴⁾、消泡しなくなる。タンパク質などが起泡剤となっているときには、タンパク質が泡表面に不可逆的に吸着され、変性し、石けんなどによる泡よりはるかに安定な泡をつくる。また温度変化で自然に破裂する石けん泡の薄膜の厚さは $5\sim50\times10^{-7}\text{cm}$ であるのにタンパク質泡では $2.4\times10^{-4}\text{cm}$ もあり、強固である⁴⁵⁾。鼓脹症と関連した泡沫についての物理的な研究は多い⁴⁶⁻⁵⁴⁾。

JACOBSON ら⁵⁵⁾は、ルーメン内容物の発泡力と泡の安定性を推定するために IVI (Ingesta Volume Increase) と安定 IVI (Stable IVI) を測定した。IVI は採取したルーメン液 200 ml を 500 ml の目盛つきのシリンダーにとり、39°Cの水浴中に1時間静置し、この間に増加した容積の割合をパーセントで表わしたものであり、安定 IVI は IVI を測定後シリンダー中の内容物を容器の底まで届くようなガラス棒で12回攪拌した後容積を測定し、加温前の容積のパーセントで表わしたものである。IVI は容積増加能を、安定 IVI はルーメン運動のような衝撃を受けた際の泡沫の安定性の尺度となる。これらの値はルーメン液の採取時刻や個体の違いにより変動するが、鼓脹症状の重さにほぼ比例するからルーメンでの安定な泡沫の形成が発症の一条件となっていることを示唆している。

発症牛のルーメン内容物のもう一つの特徴は、粘度が高いことである。ルーメン液の粘度を測定した例は少ないが、MEYER and BARTLEY⁵⁶⁾は鼓脹症の発症頻度や症状の軽重度とルーメン液の相対粘度の間には正の相関があることを認めている。GUTIERREZ ら⁵⁷⁾も鼓脹症状の発生にともなってルーメン液の粘度が高まり、症状が重くなる程高くなるのを観察している。CHENG and HIRONAKA⁵⁸⁾

は、濃厚飼料だけの飼料を細かく粉碎して牛に与えるとルーメン内容物は泡沫状を呈するようになり、ルーメン液の粘度は乾草のみを給与している場合 7.4 センチポイズ (cP) なのが 30.7 cP に上昇することを確認している。坂内・星野⁵⁹⁾ もフィードロット鼓脹症牛では、ルーメン液の粘度が 67 cP (正常牛 16 cP) にもなることを観察している。宇佐川らも牛⁶⁰⁾ または羊⁶¹⁾ で鼓脹症状の発症にルーメン液の粘度上昇がともなうと報告している。ルーメン液の発症による粘度増加は、ルーメン内容物の液体部分の割合が減少すること⁵⁵⁾ と関係がある。また、他の諸要因、特に微生物活動と関連している。ルーメン内容物の粘度増加は泡沫の安定性を高め、発症を助け、症状の悪化に寄与するものと推察される。

発症牛のルーメン内容物の化学組成にも特徴がある。EMERY ら⁶²⁾ は発症牛では Na, ヘキソサミン, 窒素化合物、脂質などが多いが、その程度は個体差でもみられる範囲のものであると述べている。BROWN ら⁶³⁾ はルーメン内容物の P 含量が発症牛で高いことを観察している。ルーメン発酵の通常の最終産物である揮発性脂肪酸 (VFA) やアンモニア濃度は、発症牛で大きな差はないと報告されている^{13, 64)}。しかし、これらの報告は対照群も発症しており、適当な比較とはいえない。筆者ら^{3, 65, 66)} の分析では、総 VFA 濃度には発症牛と正常牛の間に差はみられないが、発症牛のルーメン内容物は酢酸濃度が高く、プロピオン酸濃度が低い傾向がみられ、VFA 構成割合を計算してみるとこの傾向は一層明確になり、有意差がみられる。従って酢酸:プロピオン酸比を算出すると発症牛のそれは症状の軽重に関係なく正常牛の 2 倍以上の値となった。JACOBSON ら⁶⁷⁾ もフィードロット鼓脹症誘発飼料 (大麦 61%, 大豆粕 16%, アルファルファミール 22%, 食塩 1%) を給与するとルーメンの VFA は総量が増加し、酢酸割合が減少し、プロピオン酸割合が増加するが、給与開始後 6 週間目頃からこの傾向が逆転し、酢酸割合が増加、プロピオン酸割合が減少しだすことを観察している。濃厚飼料と稲わら、バガスなどを不断給餌しているフィードロットで採食行動を観察すると、発症牛は食欲不振となり、特に濃厚飼料の摂取量が低下し、粗飼料のそれが多くなる⁶⁸⁾。このような採食行動の変化が VFA 組成の変化に関係するように思われる。

ルーメン内容物のアンモニア濃度も発症牛で高い傾向が認められる^{3, 65, 66)}。ルーメンでのアンモニアの資化は、いろんな経路で行われるが、適当な炭素源の供給を前提としている⁶⁹⁻⁷³⁾ から、全体の採食量の低下や濃厚飼料の摂取量の低下がアンモニアの利用を抑制しているの

であろう。VFA やアンモニア濃度にみられる発症牛のルーメン内容物の特徴は、上述のように採食量や摂取飼料の質などの違いが原因と推定されるが、発症牛を粗飼料多給の状態にし、発症がみられなくなっても正常牛とは明確な差異がみられる⁶⁵⁾ から、動物の素質、体質などとよばれる要因も関与しているのであろう。

ルーメン内容物の pH は牧草鼓脹の発症によって、あるいは発症時には低下する⁷⁴⁻⁷⁶⁾ とみられるが、必ずしもそうではなく⁷⁷⁾、炭酸ソーダを添加してルーメンの pH を高くした状況でも発症が認められる⁷⁸⁾。鼓脹症誘発飼料を給与したフィードロット鼓脹症でもルーメン pH は必ずしも低いことはなく、発症との相関は低い^{13, 79)}。発症時に pH の低下が観察される場合もあるが、同一の飼養条件の他の発症牛では観察されず、pH 低下を発症時の一般的症状とはみなせない⁸⁰⁾。一般にルーメンアシドーシスの場合にはプロトゾアが消失するが、鼓脹症牛ではプロトゾアの存在が認められる例が多い^{3, 59, 65, 66)}。このことは、鼓脹症牛のルーメン pH が極端に低くないことを示している⁸¹⁾。ルーメン内容物の粘度上昇と pH の関係を見ると pH 5.5~5.8 および 7.5~8.5 の範囲にある時に粘度上昇の極大値がある⁵⁸⁾。従って、粘度上昇が発症因となっているとしても低 pH 環境が発症の必須条件ではない。

ルーメンの遊離ガス組成は、発症牛で死亡直後に測定したもので二酸化炭素 74.33%, メタン 23.46%, 窒素 2.21% で、羊では二酸化炭素が 76% であった⁸²⁾。HUNGATE¹⁹⁾ もラジノクローバー草地で発症した牛のルーメンガス組成を分析し、二酸化炭素とメタンの構成比率は正常牛のそれと変わらないことを報告している。このように発症中のルーメンガス組成は正常な範囲内にあり、発症によってルーメン発酵が著しい変更を受けていないことが分る。

IV. 泡沫形成に関与する要因

鼓脹症の発症経緯は、上述のように消えにくい泡沫が形成されるためルーメンで生産されたガスが遊離ガスとして放出され、噴門部へ移動してあい気反射で排出される行程が順序よく進まなくなることである。従って安定な泡沫形成は発症因として重要な役割を果たしているが、泡沫形成に関与する要因は多く、複雑である。これらの要因には、給与する飼料の質、量、形状、ルーメン微生物、家畜の体質などが掲げられ、研究されている。

1. 飼料とその特定成分

a. タンパク質: 牧草鼓脹では牧草の総窒素含量と発症率に正の相関が認められ⁸³⁻⁸⁶⁾、特に可溶性の窒素区分

含量との相関が高い⁸⁶⁾。MILTIMORE ら⁸⁷⁾ は葉緑体の分画 I タンパク質含量と発症率に高い相関 ($r=0.99$) があり、このタンパク質量が 1.8% 以上のアルファルファは危険であると言っている。高等植物の緑葉部の可溶性タンパク質は、分画 I と II が区別され、分画 I は分子量約 550,000 の酵素タンパク質 (ribulose diphosphate carboxylase)^{88,89)} で、葉緑体の主要タンパク質である⁹⁰⁾。分画 II は分画 I 以外の可溶性葉タンパク質で、分子量 10,000~200,000 のタンパク質を含んでいる⁹¹⁾。牧草鼓脹を誘発するクローバーやアルファルファは分画 I タンパク質を乾燥重の 3.9~5.3% 含んでいるが、鼓脹をおこさないトレフォイルは約 0.5% しか含有しない⁹²⁾。

摂食および微生物による分解でルーメンに放出された分画 I タンパク質は、ルーメン液に溶解して表層に移り、そこで変性し、ルーメンの泡沫を安定させる物質となる⁹³⁾。Ca や Mg の結合は分画 I タンパク質の変性を促進し、症状を悪化させる⁹⁴⁾。これらの分画 I タンパク質が発症の引き金になっているという説^{85,98,94)} に対してタンパク質の分画、分離法に問題があるという批判もあり⁴⁹⁾、分画 I だけでなく分画 I, II ともルーメン液表層で変性し、pH 5.4~6.0 の範囲で安定な泡沫形成に寄与しているとする報告^{7,49,50,86,95-97)} も多い。また、クローバーの葉部を取り除き分画 I タンパク質をほとんど含まない茎部のみを牛に与えても発症がみられる⁹⁵⁾。葉タンパク質の 1/3~2/3 が咀嚼によってルーメン液に移行し⁹⁹⁾、微生物の攻撃に曝される¹⁰⁰⁾、葉緑体の多くを entodinia が採食する¹⁰¹⁾などを考え合わせると分画 I タンパク質が発症時にルーメンに相当量、常時存在しているとは考えにくく、分画 I のみを主要な発症因とすることは承認しがたい⁷⁾。従って、牧草中の可溶性タンパク質含量を指標とする方が合理的で、HOWARTH ら⁸⁶⁾ は三年間の観察で発症の閾値として牧草乾燥重 1g あたり 1~6mg の可溶性タンパク質の値を掲げており、6mg 以上では発症が直線的に増加することから現在の発症誘発アルファルファの可溶性タンパク質含量を半減する育種目標を提案している。栽培学的には牧草の可溶性タンパク質を減少させるために日照量を制限¹⁰²⁾したり、窒素施肥量を減少させ¹⁰³⁾たりするが、そうすると収量も減少するので問題が残る。

b. 脂 質: ルーメン泡沫の安定性と牧草脂質の関係は、泡沫の安定性を増す、消泡効果がある、関係がないなどの結果に分れており、統一したものはない。牧草の葉緑体には糖脂質が含まれている¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾ が、葉緑体またはその脂質を取り除くとルーメン泡沫の安定性が増

す³⁶⁾。STIFEL ら⁹⁴⁾ は極性分子である脂質は、分画 I タンパク質が金属イオンと結合、変性をおこす際に金属イオンを取り合うため泡沫の安定性を減少させる作用があると主張し、アルファルファの葉緑体脂質と鼓脹症の間に負の相関がある⁸⁵⁾と言っている。JONES⁴⁸⁾ は、赤クローバーの極性脂質が分画 I タンパク質泡沫を消泡する効果を *in vitro* で測定し、消泡効果は phosphatidylcholine, digalactosyl diglyceride, monogalactosyl diglyceride, sulfolipid の順に低下することを示した。

一方、BUCKINGHAM⁵⁴⁾ は脂質はルーメン泡沫中のタンパク分子の会合を促進し、泡沫の安定性を高めると報じている。MILTIMORE ら⁸⁷⁾ はアルファルファ脂質含量と発症率に正の相関を得ている。BAILEY ら^{107,108)} は赤クローバーの糖脂質などについて研究し、鼓脹症と関連が低いことを観察している。FRASER¹⁰⁹⁾ もクローバー給与の発症牛と非発症牛でルーメンの脂質分画に差がみられないと言っている。

アルファルファのリポタンパク質量と *in vitro* での泡沫量とに正の相関がある¹¹⁰⁾が、発症率とは有意な関係はみられない⁸⁶⁾。

c. 糖 質: 易利用性の糖質を多く含む飼料は、ルーメンでのガス生産を促進し、鼓脹症の誘因となる可能性がある¹¹¹⁾。ペクチン、グルコース、ガラクトースなどをアルファルファ繊維に添加給与するとガス生産が高まり、泡沫の安定性が増す^{112,113)}。フィードロット鼓脹症でもルーメン液の糖質量とルーメン液の粘度上昇は比例する^{114,115)}。マメ科牧草に多く含まれるペクチンはペクターゼによってメチルエステル結合が加水分解されるが、その際 Ca^{++} イオンが存在するとゲル化しやすい。このためルーメン液の粘度を上昇させ、ルーメンガスを閉じ込め、ガスの放出を困難にすることが考えられる^{116,118)}。アルファルファのペクチン含量¹¹⁹⁾ または家畜のペクターゼ摂取量^{120,121)} と発症率には正の相関がみられ、ペクターゼ阻害剤 alkyl aryl sulfonate の給与で牧草鼓脹の発生が防止できた¹²²⁾。これらの結果はペクチンがルーメンの泡沫の安定性を高め、発症の誘因となる可能性を示すが、一般にペクチンはルーメンで消化されやすく、ルーメンに蓄積することはない¹²³⁻¹²⁶⁾。またペクチンは *in vitro* では、アルファルファ抽出物の泡の安定性を増す¹²⁵⁾が、可溶性ペクチンまたは総ペクチン量と発症率に関連はみられないという報告¹²⁷⁾もあるから、ペクチンだけが原因物質とは言い難い。従って現在のところ、ペクチンは主要な泡沫形成物質ではなく、ルーメン液の粘度を高めることによって葉タンパク質の泡沫を安定化し、発症に寄与していると考えられている^{48,128,129)}。

d. ミネラル：鼓脹をおこすマメ科牧草は、イネ科牧草より Ca, Mg 含量が高く、羊に Ca または Mg 塩や尿素を散布した牧草を与え、これらのミネラルや窒素の摂取量を増加させると発症頻度が高まり¹³⁰⁾、症状が重くなる¹³¹⁾が、キレート剤の投与で軽減される¹³¹⁾。アルファルファ葉の Mg^{84,94)}、Ca, Ni, Zn⁸⁷⁾ 含量と発症率に正の相関がみられ、Ca/P 比の高い飼料は発症を起しやすい¹³²⁾。これらのミネラルは、上述のタンパク質やベクテンまたはサポニンと反応して泡沫を安定化することによって発症誘因となると考えられている^{86,48,128,133)}。しかし、アルファルファ葉の Ca^{86,94)}、Mg⁸⁷⁾ 含量と発症率に負の相関があるという逆の関係も得られており、またミネラル含量との相関はないという結果^{83,134-137)}も多く、明確ではない。

e. サポニン：サポニンは植物界に分布する配糖体で、マメ科牧草のそれはトリテルペノイドをアグルコンとする。サポニンは界面活性物質で泡だつ水溶液をつくるが、溶血作用や他の薬理作用も認められている。家畜に摂取されると消化管内微生物によってサポニンゲンと糖に分解され、サポニンゲンはさらに分解を受ける^{138,139)}。鼓脹誘発牧草は乾燥重の 0.2~1.8% のサポニンを含有し、安全な牧草の 2~18 倍も高い¹⁴⁰⁾。LINDAHL ら¹⁴¹⁾ はアルファルファのサポニンを経口的または静注して羊に与え、鼓脹症状を発生させた。GUTIERREZ ら¹⁴²⁾ はアルファルファ生草を与えている牛からサポニン分解菌を分離し、これらの分解菌のサポニン発酵にともなって大量の粘質物 (slime) が生産されることを示した。これらの研究からサポニンがルーメンの泡沫形成およびその安定化に役立ち、発症に寄与していると推察されているが、上の LINDAHL ら¹⁴¹⁾ の実験で用いられたサポニン量は大量すぎることに⁵⁾、サポニンによる泡は pH 5.0 で最も安定で、牧草鼓脹の際のルーメン内容物の pH 6.0 よりかなり低いこと³⁶⁾などからサポニンが泡沫形成に主要な役割を果たしているとはみられていない^{143,144)}。

サポニンの筋肉の呼吸抑制など薬理作用と発症との関連も疑問視されている^{136,145-147)}。

f. タンニン：タンニンは水溶性の植物成分であるが化学的には分子量 500~3,000 の多価フェノールで、タンパク質と結合し、沈でんする。しかし、タンニンの種類は多く、赤クロバーのタンニンのようにタンパク質を沈でんさせないものもある。鼓脹で問題になる可溶性葉タンパク質、唾液タンパク質などを効果的に沈でんさせるタンニンは縮合タンニン (flavolans) で¹⁴⁸⁾、安全なマメ科牧草に多く含まれている⁴⁸⁾。KENDALL¹⁴⁹⁾ は鼓脹誘発牧草の葉抽出物での泡沫形成は、タンニンの添加で抑制

されることを示し、JONES ら¹⁵⁰⁾ は可溶性タンパク質が誘発牧草からは多く抽出できるが、安全牧草からは除タンニン剤を添加した時のみ抽出可能であることを確めた。またタンパク質沈でんをおこすタンニン濃度と発症率には負の相関がみられる^{84,151-153)}。これらの結果は、タンニン含量の高い牧草では咀嚼くまたはルーメンでの分解過程でタンニンが放出され、可溶性タンパク質と結合沈でんする、またはタンニン-サポニン結合を生じる¹⁵⁴⁾ため起泡が減少し、発症が抑制される可能性を示している。従って、タンニン含量に着目した牧草の育種は発症予防の見地から意義がある^{48,148,150)}。

g. 飼料の物理性：鼓脹症は粗飼料の不足した状態でおきやすく、フィードロットでは濃厚飼料が摂取量の半分以上となった時¹⁵⁵⁾、特に肥育仕上げ期に発症頻度が高い。牧草鼓脹も多汁で粗せんい含量の少ない牧草が誘発する。発症牛に粗飼料を飽食させて飼い直しをすると治癒する。この粗飼料効果の本体は必ずしも明確ではないが、粗飼料の不足がルーメン運動、あい気反射、唾液分泌などの失調を来すことと関係がある¹⁵⁶⁻¹⁶²⁾。多汁牧草も唾液分泌の刺激が十分でなく、ルーメン内容物の粘度を高め、発症を誘発しやすい^{161,163)}。

同一の飼料でも粉砕の粒度によって影響を受け、粒度が細かい程発症頻度は高く、症状も重くなる^{58,59,158,164-166)}。この粉砕効果は上記のルーメン運動^{165,167)}、唾液分泌¹⁶⁸⁾への影響に加えてルーメンでの飼料の分解速度が高まり、ガス生産が加速される⁵⁹⁾とともに泡沫安定物質が多く放出されるためと考えられる。

2. ルーメン微生物

a. 細菌：牧草鼓脹の場合、ルーメン細菌の数および種類に大きな変化は生じないと報告されている^{159,167-169)}。このことはルーメン発酵の最終産物であるガス^{19,170)}、VFA^{19,159)}、窒素化合物^{32,159)}などに大差なく、ルーメン pH³²⁾にも差異がみられないことと符号する⁷⁾。しかし発症しない牛ではムチン分解菌数が多い^{171,172)}、発症牛のルーメン液の方が *in vitro* での発酵速度は速い¹⁹⁾とか差異がない訳ではない。鼓脹誘発牧草は細菌による分解が急速¹⁷³⁾で、ガスが生産される速度も速い¹⁷⁴⁾。

HUNGATE ら¹⁹⁾ は、発症因として微生物による slime 形成を示唆し、GUTIERREZ ら^{142,175)} はサポニン分解菌 (*Butyrivibrio fibrisolvens*, *Bacteroides rumenicola* など) が時に大量の slime をつくること、この slime は核酸成分として RNA のみを含み³⁵⁾、サポニンの分解で生じるサポニンゲン由来のものであり^{35,169)}、フィードロット鼓脹症の slime が微生物起源のものである⁵⁷⁾のと対照的であることを報告している。slime の形成は、ルーメン液の

粘度を増し泡沫を安定化するので発症の原因となるが、発症牛で *Butyrivibrios* 数が特に増加することもなく¹⁶⁷⁾、培養菌でみられる現象がそのまま発症時におきているとは限らない。同様なことが *Streptococcus bovis* によるデキストラン slime^{176,178)} についても言える。

フィードロット鼓脹の場合も細菌の変動は複雑で、同一飼料で発生した2頭についてみると細菌相の一致がみられず⁸⁰⁾、細菌の数や種類が著しく異っている個体でも発症することを示している。筆者ら^{3,59,65,66)}の観察では、発症によって小型のグラム(-)球菌、グラム(+)球菌、グラム(-)桿菌、グラム(+)桿菌に有意な変化がみられた。発症にともなう細菌相の変化はslime形成との関係で研究され、多くの報告^{9,55,56,59,81,114,176-180)}があり、特に *S. bovis*, *Megasphaera elsdenii* の変化が注目されているが、それらの詳細については総説^{9,10)}を参照されたい。

b. プロトゾア: 発症にともなうプロトゾアの変化も興味あるもので、発症因として多くの仮説が立てられている。CLARKE^{181,182)}は発症にともなう holotrich プロトゾアの減少がおきることに注目し、誘発飼料の摂取とともにこのプロトゾアの崩壊がおこり、放出された細胞内容物、多糖や核酸がルーメン内容物の粘度を高め、泡沫の安定化を促進し、発症因となるとした。これらのプロトゾアに特異的な抗プロトゾア剤(1, 2-dimethyl-5-nitroimidazole)¹⁸³⁾を与えると発症率が60.5%から12.1%に低下する¹⁸⁴⁾こと、プロトゾア細胞内物質がpH5.5~6.5の範囲で強靱な泡沫を形成することなどから、holotrich プロトゾア説には根拠がある。しかし、これらのプロトゾアが完全にルーメンから除かれても発症がみられ、上記の抗プロトゾア剤はルーメン細菌にも作用がある¹⁸⁴⁾、CLARKEの観察した holotricha の発症による急激な減少を他の例では再確認できない^{3,66,81,88)}など弱点がある。従来 holotricha は糖の蓄積調節ができず、可溶性の糖質が十分与えられると蓄積過剰となって崩壊すると言われていたが、最近 PRINS ら^{185,186)}の研究によればそのようなことはなく、ルーメン環境の悪化、とりわけpHの低下(pH5.0以下)によるものである。鼓脹症の場合ルーメンpHが5.0以下になることは希れであるから、holotricha 説にはこの点も具合が悪い。

Epidinium 属のプロトゾアが消泡作用のある葉緑体脂質を摂取するため発症するという説¹⁰¹⁾、*Ophryoscolex* 属のガス生産に原因を求める説¹⁸⁷⁾などもあるが、発症時のプロトゾア組成を調べた結果^{3,59,66,81,88)}からは支持されていない。

プロトゾアを発症因または誘発補助生物とみる説とは

逆にプロトゾアの存在が発症を抑制し、その極端な減少が発症を促進するという見方もある^{9,180)}。それはプロトゾアが糖質などを摂取し¹⁸⁸⁻¹⁹⁰⁾、ルーメンでの発酵が急激に進むのを抑えとともに鼓脹誘発に関係のある細菌類を摂食し⁶⁾、ルーメン環境を維持するのに貢献しているからである。

c. ルーメン発酵産物: ルーメンで微生物活動の結果産出される発酵最終産物であるVFA、アンモニア、ガスなどの組成、濃度についてはⅢ章で述べた。VFAは高濃度ではルーメン運動を阻害し¹⁹¹⁾、発症誘因となる可能性があるが、通常観察される発症牛のVFA濃度、組成では、その可能性は低い^{3,13,64-67)}。ガスの生産速度は発症牛で若干速い^{9,59)}か変りがない^{64,65,79)}かで、生産速度より排出速度に問題のあることが分る。ルーメンでヒスタジンの脱炭酸によって生じるヒスタミンおよび類似物質もルーメン運動阻害作用がある¹⁹²⁾ことから発症誘因物質の一つと考えられるが、発症牛で特に高濃度であることもなく、経口的に投与してもルーメン機能障害がみられず¹⁸³⁾、発症もしない⁹⁾からヒスタミンが発症因であるとは考えにくい。血糖の増加はルーメン運動を抑制し、インスリンによる低血糖は逆に促進する¹⁹⁴⁾ことが観察されているが、発症との関連は明らかでない。飼料のルーメンから下部消化管への移行速度などもルーメン発酵に影響を与えるので発症と関係がある。食塩添加量を増して通過速度を早めると発症率が下がる例¹⁹⁵⁾が報告されている。

3. 家畜の体質に由来する発症因

鼓脹症は同一の飼養条件である個体は発症し、他の個体は発症しないというような家畜の体質または素質による差異があり、CLARKE and REID⁷⁾はこの差異を鼓脹症に対する感受性の違いとし、感受性の高い(High Susceptibility: HS)個体、低い(Low Susceptibility: LS)個体と区別し、遺伝的差異であるとしている。それは、特定の種牡の子孫に多く発症し^{39,75,196-199)}、双生子では鼓脹症に対する反応が類似している^{39,196)}、品種によって感受性が異なる^{199,200)}などの観察に基づいている。

感受性要因の本態は唾液分泌の速度や量、唾液組成、あい気反射およびルーメン運動、食物の下部消化管への流動、ルーメン微生物相とその代謝速度等々の差異として把握されている。これらの研究の詳細については、紙数の制約上触れられないので総説^{2,7,8,10,32,75)}を参照されたい。

感受性要因のうち唾液組成、特に唾液タンパク質の組成についてはよく研究されている。REID ら⁸⁾はHS、LS

動物の唾液タンパク質をポリアクリルアミドゲルの電気泳動で分画し、10個の主要なタンパク質を確認し、このうち第4、第6、第10のバンドに分画されたタンパク質量がHSとLSで明確に異なり、第4、第6タンパク質はHSで多く、第10タンパク質は少ないことを示した。JONESら²⁰¹⁾は最近これらの唾液タンパク質をさらに精製し、性質を明らかにした。CHENGら²⁰²⁾はHS動物の唾液は粘度が低く、乾物量が少なく、タンパク質量が多いが、糖タンパク質バンドが少なく、糖タンパク質でLS動物と区別が可能であると言っている。

唾液のタンパク質については、従来泡沫形成促進または安定作用^{7,48,52,203)}と逆の消泡作用^{204,205)}の相反する性質が報告されているが、上記の電気泳動で分画されたタンパク質が泡沫形成、または消泡にどのように関わっているかは不明である。しかし、唾液タンパク質の差異でHS、LS動物を区別できるとすれば産業上も極めて有益であり、発症機作の研究にも大いに役立つ。

牛の唾液または血清に *S. bovis* と特異的に凝集反応をおこす免疫グロブリンが含まれているという報告^{9,206)}も発症と唾液の関係を研究するのに興味深い。

む す び

牛の鼓脹症は牧草鼓脹、フィードロット鼓脹とも畜牛の1%程度に発症がみられ、畜産経営上軽視できない病気である。泡沫性鼓脹はルーメン液の粘度が高まり、ルーメンガスが遊離ガスとして放出されず、無数の泡沫となって液中に閉じこめられ、あい気反射での排出が困難となり、ルーメンに蓄積する。この消えにくい泡沫の形成には飼料成分の多くが関連を持ち、ルーメン微生物や家畜の体質も深く関わっており、複数の要因が関与していると思われる。発症因については多くの提案があり、相応する根拠が示されている。しかし、現在でもHUNGATE⁶⁾が言うように“特定の仮説(発症因)を世界の各地で多くの研究室が実証するまでは、不確実性が残る”段階にあり、今後の研究が期待される。

本稿では述べなかったが、予防・治療研究も多くあり、この面からの発症因の解明も期待できる。最近イオノフォア抗生物質、モノニンシン、サリノマイシンに治療効果があると報告され^{59,207-209)}ており、ルーメン微生物の発症への関与が注目される。

文 献

- 小林一雄・山本道生、畜産技術研修会会報(愛知県畜産課) 91-94. 1980.
- CLARKE, R. T. J. and C. S. W. REID, *J. Dairy Sci.*, **57**: 753-785. 1974.
- 坂内良二・星野貞夫、日畜会報, **52**: 118-124. 1981.
- 篠崎謙一、乳牛の科学(梅津元昌編), 357-374. 農文協, 東京. 1966.
- COLE, H. H. and J. M. BODA, *J. Dairy Sci.*, **43**: 1585-1614. 1960.
- HUNGATE, R. E., *The Rumen and Its Microbes*. 442-454. Academic Press. New York and London. 1966.
- CLARKE, R. T. J. and C. S. W. REID, in *Physiology of Digestion and Metabolism in the Rumen*. (PHILLIPSON, A. T., ed.) 599-606. Oriel Press. Newcastle upon Tyne. 1970.
- REID, C. S. W., R. T. J. CLARKE, F. R. M. COCKREM, W. T. JONES, J. T. MCINTOSH and D. E. WRIGHT, in *Digestion and Metabolism in the Ruminant*. (McDONALD, I. W. and A. C. I. WARNER eds.) 524-536. Univ. New England, Armidale. 1975.
- BARTLEY, E. E., R. M. MEYER and L. R. FINA, in *Digestion and Metabolism in the Ruminant*. (McDONALD, I. W. and A. C. I. WARNER eds.) 551-562. Univ. New England, Armidale. 1975.
- 星野貞夫、畜産の研究, **36**: 19-21. 263-268. 379-383. 1982.
- COLE, H. H., R. W. DOUGHERTY, C. F. HUFFMAN, R. E. HUNGATE, M. KLEIBER and W. D. McCLAY, *Natl. Res. Council, Publ.* 388. 1956.
- 原 茂、牛病学, (大森常良ら編) 721-728. 近代出版, 東京. 1980.
- ELAM, C. J., J. GUTIERREZ and R. E. DAVIS, *J. Anim. Sci.*, **19**: 1089-1097. 1960.
- McARTHUR, J. M. and J. E. MILTIMORE, *Can. J. Anim. Sci.*, **41**: 187-196. 1961.
- CRESSWELL, E., *Nature*, **186**: 560-561. 1960.
- HOERNICKE, H. W. F. WILLIAMS, D. R. WALDO and W. P. FLATT, *Proc. 3rd Symp. Energy Metabolism*, 165. 1964.
- WASHBURN, L. E. and S. BRODY, *Miss. Agr. Exp. Sta. Res. Bull.*, **263**: 1-40. 1937.
- COLVIN, H. W., J. D. WHEAT, E. A. RHODE and J. M. BODA, *J. Dairy Sci.*, **40**: 492-502. 1957.
- HUNGATE, R. E., D. W. FLETCHER, R. W. DOUGHERTY and B. E. BARRENTINE, *Appl. Microbiol.*, **3**: 161-173. 1955.
- KLEIBER, M., *Natl. Res. Council Publ.*, **388**. 1956.
- DOUGHERTY, R. W. and H. M. COOK, *Am. J. Vet. Res.*, **23**: 997-1000. 1962.
- BARNETT, A. J. G. and R. L. REID, *Reactions in the Rumen*. 161-169. Edward Arnold. London. 1961.
- DOUGHERTY, R. W., in *Digestive Physiology and Nutrition of the Ruminant*. (LEWIS, D. ed.) 79-87. Butterworths. London. 1961.
- DOUGHERTY, R. W., C. H. MULLENAX and M. J. ALLISON, in *Physiology of Digestion in the*

- Ruminant. (DOUGHERTY, R. W. ed.) 159-170. Butterworths. London. 1965.
- 25) COLE, H. H., C. F. HUFFMAN, M. KLEIBER, T. M. OLSON and A. F. SCHALK, J. Anim. Sci., **4**: 183-236. 1945.
- 26) DOUGHERTY, R. W., J. Am. Vet. Med. Ass., **96**: 43-46. 1940.
- 27) DZUIK, H. E. and A. F. SELLERS, Am. J. Vet. Res., **16**: 499-504. 1955.
- 28) STEVENS, C. E. and A. F. SELLERS, Am. J. Vet. Res., **20**: 461-482. 1959.
- 29) DOUGHERTY, R. W. and C. D. MEREDITH, Am. J. Vet. Res., **16**: 96-100. 1955.
- 30) DOUGHERTY, R. W., R. E. HABEL and H. E. BOND, Am. J. Vet. Res., **19**: 115-128. 1958.
- 31) ANDERSSON, B., KITCHELL and N. PERSSON, J. Physiol., **147**: 11. 1959.
- 32) MENDEL, V. E. and J. M. BODA, J. Dairy Sci., **44**: 1881-1897. 1961.
- 33) BARTLEY, E. E., Feedstuffs, **30**: 70. 1958.
- 34) BARTLEY, E. E. and R. BASSETTE, J. Dairy Sci., **44**: 1365-1366. 1961.
- 35) GUTIERREZ, J., H. W. ESSIG, P. P. WILLIAMS and R. E. DAVIS, J. Anim. Sci., **22**: 506-509. 1963.
- 36) MANGAN, J. L., N. Z. J. Agr. Res., **2**: 47-61. 1959.
- 37) BODA, J. M., P. T. CUPPS, H. COLVIN and H. H. COLE, J. Am. Vet. Med. Ass. **128**: 532-535. 1956.
- 38) CLARK, R., Onderstepoort J. Vet. Sci., **23**: 389-393. 1948.
- 39) JOHNS, A. T., N. Z. J. Sci. Tech., **36A**: 289-320. 1954.
- 40) QUIN, J. I., Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind., **18**: 113-117. 1943.
- 41) REID, C. S. W., Proc. 8th Int. Grassl. Congr., 668-671. 1960.
- 42) WALKER, D. M., Aust. Vet. J., **36**: 17-20. 1960.
- 43) BODA, J. M., B. S. SILVER, H. W. COLVIN and H. H. COLE, J. Dairy Sci., **40**: 759-767. 1957.
- 44) ROSS, S., Chem. Engineering Progress, **63**: 41-47. 1967.
- 45) LABY, R. H., in Digestion and Metabolism in the Ruminant. (McDONALD, I. W. and A. C. I. WARNER eds.) 537-550. Univ. New England, Armidale. 1975.
- 46) LABY, R. H., N. Z. J. Agr. Res., **12**: 427-436. 1969.
- 47) LABY, R. H. and R. O. WEENINK, N. Z. J. Agr. Res., **9**: 839-850. 1966.
- 48) JONES, W. T., Ph. D. Thesis. Massey Univ. N. Z. 1971.
- 49) JONES, W. T. and J. W. LYTTLETON, N. Z. J. Agr. Res., **12**: 31-46. 1969.
- 50) JONES, W. T. and J. W. LYTTLETON, N. Z. J. Agr. Res., **15**: 267-278. 1972.
- 51) JONES, W. T. and J. W. LYTTLETON, N. Z. J. Agr. Res., **15**: 506-511. 1972.
- 52) JONES, W. T. and J. W. LYTTLETON, N. Z. J. Agr. Res., **16**: 161-168. 1973.
- 53) BUCKINGHAM, J. H., J. Sci. Food Agr., **21**: 441-445. 1970.
- 54) BUCKINGHAM, J. H., Ph. D. Thesis. Victoria Univ. N. Z. 1971.
- 55) JACOBSON, D. R., I. L. LINDAHL, J. J. McNEILL, J. C. SHAW, R. N. DOETSCH and R. E. DAVIS, J. Anim. Sci., **16**: 515-524. 1957.
- 56) MEYER, R. M. and E. E. BARTLEY, J. Anim. Sci., **34**: 234-240. 1972.
- 57) GUTIERREZ, J., R. E. DAVIS and I. L. LINDAHL, Appl. Microbiol., **9**: 209-212. 1961.
- 58) CHENG, K. -J. and R. HIRONAKA, Can. J. Anim. Sci., **53**: 417-422. 1973.
- 59) SAKAUCHI, R. and S. HOSHINO, Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkd., **46**: 21-33. 1981.
- 60) 宇佐川智也, 石川農短大報, **4**: 30-35. 1975.
- 61) 宇佐川智也・津田栄三, 石川農短大報, **7**: 37-41. 1977.
- 62) EMERY, R. S., C. K. SMITH, R. M. GRIMES, C. F. HUFFMAN and C. W. DUNCAN, J. Dairy Sci., **43**: 76-80. 1960.
- 63) BROWN, L. R., R. S. ALLEN, R. H. JOHNSON and N. L. JACOBSON, Proc. 5th Conf. Rumen Function, Chicago. 9. 1960.
- 64) ELAM, C. J. and R. E. DAVIS, J. Anim. Sci., **21**: 568-574. 1962.
- 65) 坂内良二・星野貞夫, 日畜会報, **52**: 180-189. 1981.
- 66) SAKAUCHI, R. and S. HOSHINO, J. Gen. Appl. Microbiol., **27**: 145-155. 1981.
- 67) JACOBSON, D. R., I. L. LINDAHL, J. J. McNEILL, J. C. SHAW, R. N. DOETSCH and R. E. DAVIS, J. Anim. Sci., **17**: 304-312. 1958.
- 68) 坂内良二・星野貞夫, 日畜会報, **52**: 236-238. 1981.
- 69) HOSHINO, S., Jpn. J. Zootech. Sci., **36**: 266-273. 1965.
- 70) HOSHINO, S., K. SARUMARU and K. MORIMOTO, J. Dairy Sci., **49**: 1523-1528. 1966.
- 71) HOSHINO, S., H. TSUBOTA and K. MORIMOTO, Jpn. J. Zootech. Sci., **42**: 103-110. 1971.
- 72) 星野貞夫, 第10回ルミノロジー研究者のつどい, 江別市, 21-37. 1981.
- 73) TSUBOTA, H. and S. HOSHINO, J. Dairy Sci., **52**: 2024-2028. 1969.
- 74) JOHNS, A. T., J. L. MANGAN and C. S. W. REID, N. Z. Vet. J., **5**: 115-124. 1957.
- 75) JOHNS, A. T., J. L. MANGAN and C. S. W. REID, Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod., **18**: 21-30. 1958.
- 76) BLAKE, J. T., N. L. JACOBSON and R. S. ALLEN, Am. J. Vet. Res., **18**: 756-760. 1957.
- 77) MENDEL, V. E., Ph. D. Thesis. Univ. California. 1960.
- 78) HARTMAN, P. A., R. H. JOHNSON, L. R. BROWN, N.

- L. JACOBSON and R. S. ALLEN, Proc. 5th Conf. Rumen Function, Chicago. 20-21. 1960.
- 79) ELAM, C. J. and R. E. DAVIS, J. Anim. Sci., **21**: 327-330. 1962.
- 80) BRYANT, M. P., I. M. ROBINSON and I. L. LINDAHL, Appl. Microbiol., **9**: 511-515. 1961.
- 81) GUTIERREZ, J., R. E. DAVIS, I. L. LINDAHL and E. J. WARWICK, Appl. Microbiol., **7**: 16-22. 1959.
- 82) REISET, J., Compt. Rend., **66**: 176-177. 1868.
- 83) MILTIMORE, J. E., J. L. MASON and J. M. McARTHUR, Can. J. Anim. Sci., **44**: 309-314. 1964.
- 84) JEFFERS, B. R., S. H. SYNHORST, N. L. JACOBSON, D. K. HOTCHKISS and R. L. VETTER, Proc. 8th Conf. Rumen Function, Chicago. 2. 1965.
- 85) STIFEL, F. B., R. L. VETTER, R. S. ALLEN and H. T. HORNER, Phytochem., **7**: 355-364. 1968.
- 86) HOWARTH, R. E., W. MAJAK, D. E. WALDERN, S. A. BRANDT, A. C. FESSER, B. P. GOPLEN and D. T. SPURR, Can. J. Anim. Sci., **57**: 347-357. 1977.
- 87) MILTIMORE, J. E., J. M. McARTHUR, J. L. MASON and D. L. ASHBY, Can. J. Anim. Sci., **50**: 61-68. 1970.
- 88) MAYAUDON, J., Enzymologia, **18**: 343-354. 1957.
- 89) TROWN, P. W., Biochem., **4**: 908-918. 1965.
- 90) LYTTLETON, J. W. and P. O. P. Tsó, Arch. Biochem. Biophys., **73**: 120-126. 1958.
- 91) SINGER, S. L., L. EGGMAN, J. M. CAMPBELL and S. G. WILDMAN, J. Biol. Chem., **197**: 233-239. 1952.
- 92) McARTHUR, J. M. and J. E. MILTIMORE, Proc. 10th Int. Grassl. Congr., 518-521. 1966.
- 93) McARTHUR, J. M., J. E. MILTIMORE and M. J. PRATT, Can. J. Anim. Sci., **44**: 200-206. 1964.
- 94) STIFEL, F. B., R. L. VETTER and R. S. ALLEN, Agr. Food Chem., **16**: 500-504. 1968.
- 95) McARTHUR, J. M. and J. E. MILTIMORE, Can. J. Anim. Sci., **49**: 59-67. 1969.
- 96) HOWARTH, R. E., J. M. McARTHUR, M. HIKICHI and S. K. SARKAR, Can. J. Anim. Sci., **53**: 439-443. 1973.
- 97) HOWARTH, R. E., S. K. SARKAR, A. C. FESSER and G. W. SCHNARR, J. Food Agr. Chem., **25**: 175-179. 1977.
- 98) NEWBOLD, R. P., MASSEY Dairy Farming Ann., 105. 1953.
- 99) REID, C. S. W., J. W. LYTTLETON and J. L. MANGAN, N. Z. J. Agr. Res., **5**: 237-248. 1962.
- 100) HAZELWOOD, G. P., G. A. JONES and J. L. MANGAN, J. Gen. Microbiol., **123**: 223-232. 1980.
- 101) OXFORD, A. E., N. Z. J. Agr. Res., **1**: 809-824. 1958.
- 102) WALGENBACH, R. P. and G. C. MARTEN, Crop Sci., **21**: 859-862. 1981.
- 103) WALGENBACH, R. P. and G. C. MARTEN, Crop Sci., **21**: 852-855. 1981.
- 104) BENSON, A. A., J. F. WINTERMANS and R. WISER, Plant Physiol., **34**: 315-317. 1959.
- 105) WEENINK, R. O., N. Z. J. Sci., **2**: 273. 1959.
- 106) WEENINK, R. O., Biochem. J., **82**: 523-527. 1962.
- 107) BAILEY, R. W., N. Z. J. Agr. Res., **7**: 417-426. 1964.
- 108) RUSSELL, G. B. and R. W. BAILEY, N. Z. J. Agr. Res., **9**: 22-31. 1966.
- 109) FRASER, J. G., N. Z. J. Agr. Res., **4**: 224-231. 1961.
- 110) ROMMANN, L. M., E. D. GERLOFF and R. A. MOORE, Crop Sci., **11**: 792-795. 1971.
- 111) QUIN, J. I., Onderstepoort J. Vet. Sci., **18**: 91-112. 1943.
- 112) CONRAD, H. R., W. D. POUNDEN, O. G. BENTLEY and A. W. FETTER, J. Dairy Sci., **41**: 1586-1592. 1958.
- 113) HEAD, M. J., Nature, **183**: 757. 1959.
- 114) 宇佐川智也・津田栄三, 石川農短大報, **8**: 39-44. 1978.
- 115) MEYER, R. M. and E. E. BARTLEY, J. Anim. Sci., **33**: 1018-1021. 1971.
- 116) GUPTA, J. and R. E. NICHOLS, Am. J. Vet. Res., **23**: 128-133. 1962.
- 117) NICHOLS, R. E., Can. Vet. J., **3**: 84-89. 1962.
- 118) NICHOLS, R. E., Nord. Veterinaarmed., **16**: 355-360. 1964.
- 119) POUNDEN, W. D. and H. R. CONRAD, Ann. Rep. Ohio Agr. Exp. Sta. 1959.
- 120) NICHOLS, R. E. and D. C. DEESE, Am. J. Vet. Res., **27**: 623-627. 1966.
- 121) NICHOLS, R. E., D. C. DEESE and J. LANG, Am. J. Vet. Res., **29**: 2005-2008. 1968.
- 122) NICHOLS, R. E., Am. Vet. Med. Ass. J., **143**: 998-999. 1963.
- 123) DEKKER, R. F. H., G. N. RICHARDS and M. J. PLAYNE, Carbohydr. Res., **22**: 173-185. 1972.
- 124) DEHORITY, B. A., R. R. JOHNSON and H. R. CONRAD, J. Dairy Sci., **45**: 508-512. 1962.
- 125) PRESSEY, R., S. H. SYNHORST, J. BERTRAM, R. S. ALLEN and N. L. JACOBSON, J. Anim. Sci., **22**: 970-978. 1963.
- 126) WRIGHT, D. E., Arch. Biochem. Biophys., **86**: 251-254. 1960.
- 127) PRESSEY, R., S. H. SYNBORST, R. S. ALLEN, N. L. JACOBSON and C. P. WILSIE, Agr. Food Chem., **11**: 396-399. 1963.
- 128) WRIGHT, D. E., N. Z. J. Agr. Res., **4**: 203-215. 1961.
- 129) JONES, W. T., J. W. LYTTLETON and J. L. MANGAN, N. Z. J. Agr. Res. **21**: 401-407. 1978.
- 130) WARNER, D., K. J. SMITH and W. WOODS, J. Anim. Sci., **21**: 757-761. 1962.
- 131) SMITH, K. J. and W. WOODS, J. Anim. Sci., **21**: 798-803. 1962.
- 132) COOPER, H. P., S. C. Agr. Exp. Sta. Agron. Soils Res. Bull., **22**. 1960.
- 133) HARRIS, P. J. and F. SEBBA, Nature, **208**: 869-

871. 1965.
- 134) MILTIMORE, J. E., J. M. McARTHUR, J. L. MASON and R. B. CARSON, *Can. J. Plant Sci.*, **44**: 175-181. 1964.
- 135) CONRAD, H. R., W. D. POUNDEN and B. A. DEHORITY, *J. Dairy Sci.*, **44**: 2015-2026. 1961.
- 136) JACKSON, H. D., R. L. DeVULT, S. A. McNAIRY, B. W. HATCHER and G. D. GOETSCH, *J. Anim. Sci.*, **21**: 235-240. 1962.
- 137) McNAIRY, S. A., *Diss. Abstr. Sect. B*, **27**: 388-389. 1966.
- 138) 茗荷 澄・柴田章夫, *日草誌*, **24**: 71-73. 1978.
- 139) MYOGA, K. and F. SHIBATA, *J. Japan Grassl. Sci.*, **24**: 17-26. 1978.
- 140) MACLAY, W. D. and C. R. THOMPSON, *Natl. Res. Council, Publ.*, 388. 1956.
- 141) LINDAHL, I. L., A. C. COOK, R. E. DAVIS and W. D. MACLAY, *Science*, **119**: 157. 1954.
- 142) GUTIERREZ, J., R. E. DAVIS and I. L. LINDAHL, *Science*, **127**: 335. 1958.
- 143) MAYMONE, B., *Ann. del. Speriment. Agr.*, **17**: 1-31. 1963.
- 144) MAJAK, W., R. E. HOWARTH, A. C. FESSER, B. P. GOPLEN and M. W. PEDERSEN, *Can. J. Anim. Sci.*, **60**: 699-708. 1980.
- 145) DZUIK, H. E., A. F. SELLERS and C. E. STEVENS, *Am. J. Vet. Res.*, **22**: 287-297. 1961.
- 146) JACKSON, H. D., R. A. SHAW, W. R. PRITCHARD and B. W. HATCHER, *J. Anim. Sci.*, **18**: 158-162. 1959.
- 147) McNAIRY, S. A., G. D. GOETSCH, B. W. HATCHER and H. D. JACKSON, *J. Anim. Sci.*, **22**: 61-65. 1963.
- 148) JONES, W. T., L. B. ANDERSON and M. D. ROSS, *N. Z. J. Agr. Res.*, **16**: 441-446. 1973.
- 149) KENDALL, W. A. *Crop Sci.*, **6**: 487-489. 1966.
- 150) JONES, W. T., J. W. LYTTLETON and R. T. J. CLARKE, *N. Z. J. Agr. Res.*, **13**: 149-156. 1970.
- 151) JONES, W. T. and J. W. LYTTLETON, *N. Z. J. Agr. Res.*, **14**: 101-107. 1971.
- 152) REID, C. S. W., M. J. ULYATT and J. M. WILSON, *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.*, **34**: 82-93. 1974.
- 153) GOPLEN, B. P., R. E. HOWARTH, S. K. SARKAR and K. LESINS, *Crop Sci.*, **20**: 801-804. 1980.
- 154) CHEEKE, P. R., *Can. J. Anim. Sci.*, **51**: 621-632. 1971.
- 155) JACOBSON, D. R., *Ph. D. Thesis. Univ. Maryland*. 1956.
- 156) COLE, H. H., S. W. MEAD and M. KLEIBER, *Calif. Agr. Exp. Sta. Bull.*, 662. 1942.
- 157) COLE, H. H., S. W. MEAD and W. M. REGAN, *J. Anim. Sci.*, **2**: 285-294. 1943.
- 158) MEAD, S. W., H. H. COLE and W. M. REGAN, *J. Dairy Sci.*, **27**: 779-791. 1944.
- 159) CLARKE, R. T. J. and R. E. HUNGATE, *N. Z. J. Agr. Res.*, **14**: 108-121. 1971.
- 160) CLARK, R. and K. E. WEISS, *J. S. Afr. Vet. Med. Ass.*, **23**: 163-165. 1952.
- 161) WEISS, K. E., *Onderstepoort J. Vet. Res.*, **26**: 241-250. 1953.
- 162) WEISS, K. E., *Onderstepoort J. Vet. Res.*, **26**: 251-283. 1953.
- 163) MEYER, R. M., E. E. BARTLEY, J. L. MORRILL and W. E. STEWART, *J. Dairy Sci.*, **47**: 1339-1345. 1964.
- 164) COLE, H. H. and S. W. MEAD, *Science*, **98**: 543-544. 1943.
- 165) COLVIN, H. W. and L. B. DANIELS, *J. Dairy Sci.*, **48**: 935-941. 1965.
- 166) PRESTON, T. R., J. N. AITKEN, F. G. WHITELAW, A. MACDEARMID, E. B. PHILIP and N. A. MACLEOD, *Anim. Prod.*, **5**: 245-249. 1963.
- 167) BRYANT, M. P., B. F. BARRENTINE, J. F. SYKES, I. M. ROBINSON, C. V. SHAWVER and L. W. WILLIAMS, *J. Dairy Sci.*, **43**: 1435-1444. 1960.
- 168) CLARKE, R. T. J., *Ph. D. Thesis. Massey Univ.* 1964.
- 169) GUTIERREZ, J. and R. E. DAVIS, *J. Anim. Sci.*, **21**: 819-823. 1962.
- 170) KLEIBER, M., H. H. COLE and S. W. MEAD, *J. Dairy Sci.*, **26**: 929-933. 1943.
- 171) MISHRA, B. D., E. E. BARTLEY, L. R. FINA and M. P. BRYANT, *J. Anim. Sci.*, **27**: 1651-1656. 1968.
- 172) MISHRA, B. D., L. R. FINA, E. E. BARTLEY and T. J. CLAYDON, *J. Anim. Sci.*, **26**: 606-612. 1967.
- 173) FAY, J. P., K. -J. CHENG, M. R. HANNA, R. E. HOWARTH and J. W. COSTERTON, *Can. J. Microbiol.*, **27**: 390-399. 1981.
- 174) FAY, J. P., K. -J. CHENG, M. R. HANNA, R. E. HOWARTH and J. W. COSTERTON, *J. Dairy Sci.*, **63**: 1273-1281. 1980.
- 175) GUTIERREZ, J., R. E. DAVIS and I. L. LINDAHL, *Appl. Microbiol.*, **7**: 304-308. 1959.
- 176) BAILEY, R. W. and A. E. OXFORD, *J. Gen. Microbiol.*, **19**: 130-145. 1958.
- 177) HOBSON, P. N. and M. J. MACPHERSON, *Biochem. J.*, **57**: 145-151. 1954.
- 178) CHENG, K. -J., R. HIRONAKA, G. A. JONES, T. NICAS and J. W. COSTERTON, *Can. J. Microbiol.*, **22**: 450-459. 1976.
- 179) HARTMAN, P. S., R. H. JOHNSON, J. R. BROWN, N. L. JACOBSON, R. S. ALLEN, P. R. SHELLENBERGER and H. H. VAN HORN, *Iowa State J. Sci.*, **36**: 217-231. 1962.
- 180) MISHRA, B. D., *Ph. D. Thesis Kansas State Univ.* 1964.
- 181) CLARKE, R. T. J., *Nature*, **205**: 95-96. 1965.
- 182) CLARKE, R. T. J., *N. Z. J. Agr. Res.*, **8**: 1-9. 1965.
- 183) CLARKE, R. T. J. and C. S. W. REID, *N. Z. J. Agr. Res.*, **12**: 437-445. 1969.
- 184) CLARKE, R. T. J., C. S. W. REID and P. W. YOUNG, *N. Z. J. Agr. Res.*, **12**: 446-466. 1969.

- 185) PRINS, R. A. and W. VAN HOVEN, *Protistologia*, **13**: 549-556. 1977.
- 186) VAN HOVEN, W. and R. A. PRINS, *Protistologia*, **13**: 599-606. 1977.
- 187) KODRAS, R., *Am. J. Vet. Res.*, **27**: 629-632. 1966.
- 188) ABOU AKKADA, A. R. and B. H. HOWARD, *Biochem. J.*, **76**: 445-451. 1960.
- 189) 脇田正彰・星野貞夫, *日畜会報*, **50**: 1-7. 1979.
- 190) WAKITA, M. and S. HOSHINO, *Comp. Biochem. Physiol.*, **65B**: 571-574. 1980.
- 191) SHINOZAKI, K., *Tohoku J. Agr. Res.*, **9**: 237-250. 1958.
- 192) DOUGHERTY, R. W., *Cornell Vet.*, **32**: 269-280. 1942.
- 193) SHINOZAKI, K., *Tohoku J. Agr. Res.*, **8**: 149-154. 1957.
- 194) VALLENAS, G. A., *Am. J. Vet. Res.*, **17**: 79-89. 1956.
- 195) CHENG, K. -J., C. B. BAILEY, R. HIRONAKA and J. W. COSTERTON, *Can. J. Anim. Sci.*, **59**: 737-747. 1979.
- 196) HANCOCK, J., *J. Agr. Sci.*, **45**: 80-95. 1954.
- 197) JOHNS, A. T., *Vet. Res. Annot.*, **4**: 17-31. 1958.
- 198) KNAPP, B., A. L. BAKER and R. W. PHILLIPS, *J. Anim. Sci.*, **2**: 221-225. 1943.
- 199) REID, C. S. W., R. T. J. CLARKE, M. P. GURNSEY, R. E. HUNGATE and K. L. MACMILLAN, *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.*, **32**: 96-98. 1972.
- 200) MILLER, K. R. and E. C. FREDERICK, *J. Anim. Sci.*, **25**: 1254. 1966.
- 201) JONES, W. T., R. B. BROADHURST and M. P. GURNSEY, *Biochim. Biophys. Acta*, **701**: 382-388. 1982.
- 202) CHENG, K. -J., C. B. BAILEY, R. HIRONAKA and M. KAPOOR, *Can. J. Anim. Sci.*, **57**: 15-21. 1977.
- 203) CLARKE, R. T. J., W. T. JONES, J. W. LYTTLETON, J. M. McARTHUR and C. S. W. REID, *Proc. 11th Int. Grassl. Congr.*, 777. 1970.
- 204) VAN HORN, H. H. and E. E. BARTLEY, *J. Anim. Sci.*, **20**: 85-87. 1961.
- 205) BARTLEY, E. E. and I. S. YADAVA, *J. Anim. Sci.*, **20**: 648-653. 1961.
- 206) HORACEK, G. L., L. R. FINA, H. S. TILLINGHAST, R. L. GETTINGS and E. E. BARTLEY, *Can. J. Microbiol.*, **23**: 100-106. 1977.
- 207) 宇佐川智也・西野武蔵, *日畜北陸支部会報*, **41**: 15-19. 1980.
- 208) 宇佐川智也・西野武蔵, *日畜会報*, **53**: 535-540. 1982.
- 209) 中嶋隆文・増野朋也・坂内良二・星野貞夫, *日畜会報*, **53**: 541-546. 1982.