

論 文

奈良県大台ヶ原産ニホンジカのルーメン内繊毛虫種構成

佐藤 郁美^{1*}, 今井 壮一², 鳥居 春己¹, 荒木 良太³

¹ 奈良教育大学自然環境教育センター

² 日本獣医生命科学大学

³ 自然環境研究センター

Rumen ciliate from wild Japanese sika deer culled in Ohdaigahara, Nara prefecture, Central Japan

Ikumi Sato ^{1*}, Soichi Imai ², Harumi Torii ¹, Ryota Araki ³

¹ Center for Natural Environment Education, Nara University of Education

² Faculty of Veterinary Science, Nippon Veterinary and Life Science University

³ Natural Environment Research Center

Abstract: Rumen ciliate protozoa composition was analysed on 13 wild Japanese sika deer (*Cervus nippon*) culled for deer density control during July and September 2013 in Ohdaigahara, Nara prefecture, central Japan. Six species belonging to only genus *Entodiminium* were detected, namely *E. simplex*, *E. nanellum*, *E. convexum*, *E. abruptum*, *E. dubardi*, *E. parvum*. In these species *E. dubardi* was dominant, *E. simplex* and *E. nanellum* followed, and these three species occupied more than 90% on ciliate protozoa number. Number of ciliate protozoa from fawns estimated 2–3 months old was statistically lesser than that of deer older than 1 year old.

Key words: Rumen ciliate, Japanese deer, *Cervus nippon*, Ohdaigahara, *Entodiminium*

はじめに

草食動物は餌植物の主要な成分であるリグニンやセルロースを、消化管内に棲息している微生物の力を借りて分解し、消化利用している（竹中 2013）。草食動物のうち4つに分かれた複胃構造を持つ反芻動物において胃に入れた植物をかみ直すという反芻は植物繊維を主とする食物の効率的な消化への適応である。複胃のうちの第一胃はルーメンと呼ばれ、細菌類、古細菌類、真菌類、原生動物など多くの微生物が棲息している（竹中 2013）。ルーメン微生物のうちの原生動物は比較的大型で特徴のある形態を有するため、古くから研究が進み、数多くの研究がなされてきた（今井 1988）。さらに、原生動物のほとんどは繊毛虫類に属し、動物の分類群により繊毛虫種構成に特徴があることから、共進化の視点からの研究も進みつつある（今井 2010）。

* 〒630-8528 奈良市高畑町 奈良教育大学自然環境教育センター

Center for Natural Environment Education, Nara University of Education, Takabatake-cho Nara, 630-8528 Japan

2015年12月24日受付, 2016年1月5日受理

反芻動物の1種であるニホンジカ (*Cervus nippon*) のルーメン絨毛虫の種構成は北海道興部町産 (Ito et al. 1993)、北海道知床産 (Ichimura et al. 2004)、ならびに岩手県五葉山産 (Imai et al. 1993) から報告されている。一般的にルーメン絨毛虫は親との接触、あるいは棲息地での経口感染で定着する (今井 2010) といわれる。そのため、常に交流がある異なる家畜種の間であっても絨毛虫種構成は高い類似性がみられるが、同じ家畜であっても飼養地域が地理的に離れると、類似性は低くなる傾向がみられる (今井 1988)。北海道産でありながら、興部と知床では種構成が大きく異なるという興味深い結果が得られている。野生のニホンジカの絨毛虫の特徴を検討するためには、家畜との接触が少ない地域における個体のルーメン絨毛虫種構成を明らかにする必要があると言える。

紀伊半島の奈良県と三重県境に位置する大台ヶ原は吉野熊野国立公園に属し、標高1,300～1,695 mの約700 haが1988年に特別保護地区に指定されている (環境省近畿地方環境事務所 2014)。しかしながら、近年は高密度に棲息するニホンジカによる植生への影響が大きく、2002年以降に自然植生の保全のため駆除が実施されている (環境省近畿地方環境事務所 2014)。大台ヶ原周辺地域では牧畜業が行われておらず、この地域のニホンジカは家畜との接触の可能性が低いことから、野生のニホンジカ固有の絨毛虫種構成を確認することを目的にルーメン絨毛虫調査を実施した。

なお、ニホンジカは北海道から琉球列島にまで広く分布し、いくつかの亜種が知られているが (三浦1994)、本論ではすべてニホンジカで統一した。

材料と方法

2013年7月から9月に奈良県大台ヶ原で捕殺されたニホンジカ13頭よりルーメン内容物を500～1,000 cc採取した。それらのニホンジカは、大台ヶ原自然再生推進計画 (環境省近畿地方環境事務所 2014) に沿って駆除された個体で、大半の個体が早朝から昼間に安楽死されたものである。供試個体の捕獲月日、性別、年齢等はTable 1に示した。供試個体の齢査定については、0歳と1歳は歯の萌出により、2歳以上は第一切歯のセメント質に形成される年輪を用いた (浅野 2012)。採取したルーメン内容物はその日のうちに奈良教育大学自然観教育センター実験室に搬入し、およそ100 gを二重のガーゼで包み、濾過した。濾過された液体1 mLを5倍量のMFS溶液 (0.1%メチルグリーンと0.8%塩化ナトリウムを含む10%ホルマリン溶液) で固定、染色した (Imai et al. 1993)。これらのサンプルを光学顕微鏡で検鏡し、1頭あたり無作為に200個体の絨毛虫を同定した。1 mLあたりの絨毛虫個体数はプランクトン計測盤を用いて求めた (Imai et al. 1993)。絨毛虫の同定は、Imai et al. (1981) とOgimoto and Imai (1981) を参考にした。

Table 1. Specimen data of wild sika deer collected in Ohdaigahara, Nara Prefecture, Central Japan

Specimen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Date of capture	29 July	29 July	29 July	11 Aug.	25 Aug.	26 Aug.	27 Aug.	28 Aug.	28 Aug.	29 Aug.	3 Sept.	3 Sept.	3 Sept.
Sex	Male	Male	Female	Female	unknown*1	Female	Male	Male	Female	Male	Female	Male	Male
Weight	19	31	44	40	unknown*1	14	42	28	47	18	31	17	35
Age	0	1	5	10	Ad.	0	Ad.*2	1	8	0	1	0	1

* 1: Since plural adult individuals were captured, the sample was collected from which is not clear.

* 2: Age was not determined because of lack of insisors.

結果と考察

絨毛虫検出を行った9頭から1属6種の絨毛虫が同定された (Table 2)。ただし、ウシでは生後3週間ほどで親の飼料も採食するようになるが、4つの胃の大きさが親と同じようなプロポーシヨ

ンとなるには9週間を要するという(津田 1982)。また、繊毛虫は細菌や糸状菌類などより定着はかなり遅く、生後2週間でも第一胃にはほとんどみられず、生後15~25日で*Entodinium*属が最初に検出されるという(牛田 2004)。牛田(2004)の記載は家畜のものと考えられ、ニホンジカについては不明なことから、当年子である4頭については繊毛虫の定着が不十分とみなし個体数調査のみを行い種同定は省いたことから、検出対象個体は9頭となった。1属6種の内訳は*Entodinium simplex*、*E. nanellum*、*E. convexum*、*E. abruptum*、*E. dubardi*、*E. parvum*であり、すべての個体から*E. dubardi*、*E. simplex*、*E. nanellum*の3種が発見され、個体数は*E. dubardi*はすべての個体で全体の半数を占めていた。*Entodinium simplex*と*E. nanellum*がそれに次ぎ、それら3種で全体のほぼ90%を占めた。残り3頭の個体数は少なく、特に*E. abruptum*は1頭から、*E. parvum*は2頭から確認されただけであった。

Table 2. Protozoal concentration and composition of the rumen of the wild sika deer captured in Ohdaigahara, Nara Prefecture, Central Japan

	2	3	4	5	7	8	9	10	13	Ave. \pm S.D.
<i>Entodinium simplex</i>	25.0	30.0	38.0	30.5	25.0	22.5	33.0	30.5	31.0	29.5 \pm 4.2
<i>E. nanellum</i>	20.0	12.0	15.0	4.5	22.5	8.0	14.0	10.0	6.0	12.4 \pm 5.5
<i>E. convexum</i>	0	4.0	7.0	4.0	0.0	5.5	7.5	4.0	2.0	3.8 \pm 2.4
<i>E. abruptum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.1 \pm 0.1
<i>E. dubardi</i>	55.0	54.0	40.0	58.0	52.5	62.5	44.5	52.0	60.0	53.2 \pm 6.4
<i>E. parvum</i>	0	0	0	1.0	0	0	0	0.5	0	0.2 \pm 0.3
undefined species	0	0	0	2.0	0	1.5	1.0	3.0	0.5	0.9 \pm 1.0

当年子を除いた個体の繊毛虫個体数(Table 3)は、 $(5.8\sim 20.0) \times 10^4/\text{mL}$ で、平均 \pm S.D.は $(10.5 \pm 4.1) \times 10^4/\text{mL}$ であった。Table 1における個体番号No. 1、6、10、12が当年子にあたる。当年子の繊毛虫個体数は $(0.03\sim 1.7) \times 10^4/\text{mL}$ 、平均は $(0.6 \pm 0.7) \times 10^4/\text{mL}$ であった。大台ヶ原での出産期はほぼ6月頃と見られることから、分析対象となった4頭は生後2~3ヶ月齢であったとみられる。その月齢までは明らかに繊毛虫個体数は1歳以上の個体に比べて少なかった(Welch t-test; $t = -3.265$, $p < 0.05$)。

Table 3. Comparison of rumen ciliate density between fawn and older than one year in wild sika deer in Ohdaigahara, Nara Prefecture, central Japan.

Specimen No.	> 1 years old					2	3	4	5	7	8	9	11	13
	Fawn	1	6	10	12									
Density (10^4 cells/mL)		0.1	0.03	1.7	0.6	8.1	5.8	9.2	20.0	10.1	12.6	11.9	7.9	10.1

本論で発見された繊毛虫種は1属6種であったが、それらは過去にニホンジカから報告された種(今井ほか1977; Imai et al. 1993; Ito et al. 1993; Ichimura et al. 2004)であった。ただし、*E. abruptum*は知床半島産(Ichimura et al. 2004)では発見されていない。また、Ichimura et al. (2004)による*E. exiguum*と*E. simplex*とは同一種である可能性が高い(Ito et al. 1993)ことから、本論では*E. simplex*とした。*Entodinium abruptum*と*E. convexum*以外の4種はウシやヒツジなどの家畜動物にも一般的に報告されているものであった(今井ほか 1979; Ogimoto and Imai 1981)。本論では*E. dubardi*が優占種で、他地域のニホンジカよりも高い値を示した。五葉山産(Imai et al. 1993)と知床半島産(Ichimura et al. 2004)ではが優占種だった。

種数については五葉山産では4属9種(Imai et al. 1993)、興部産では1属2種(Ito et al. 1993)、知床半島産では2属9種であった(Ichimura et al. 2004)(Table 4)。これらを比較すると、五葉山

産 (Imai et al. 1993) では出現した属数が多い。本論では属数、種数ともに五葉山産 (Imai et al. 1993) や知床産 (Ichimura et al. 2004) と比べると単純な繊毛虫構成である。しかし、興部産 (Ito et al. 1993) で種構成の偏りは顕著で、13頭の分析ではすべての個体で1属1種しか検出されておらず、12頭から*E. simplex*のみが、残りの1頭からは*E. dubardi*のみが出現している。この地域ではニホンジカが牧草地などで採食していることから、家畜と接触していた可能性がある。しかし、同一地域で飼養されているホルスタインからは*E. simplex*, *E. nanellum*, *E. eiguum*の3種が確認されていた。

Table 4. Local variation of the rumen protozoa in sika deer in Japan

Location	Ohdaigahara, Nara	Okoppe, Hokkaido	Shiretoko, Hokkaido	Goyozan, Iwatae
<i>Entodinium simplex</i>	+	+	+	+
<i>E. nanellum</i>	+		+	+
<i>E. convexum</i>	+			+
<i>E. abruptum</i>	+			+
<i>E. dubardi</i>	+	+	+	+
<i>E. purvum</i>	+		+	+
<i>E. ovinum</i>			+	
<i>E. longinucleatum</i>			+	
<i>E. exiguum</i>			+	
<i>E. dilobum</i>			+	
<i>Diplodinium anisacanthum</i>			+	
<i>D. rangiferi</i>				+
<i>Endiplodinium maggii</i>				+
<i>Epidinium ecaudatum</i> f. <i>caudatum</i>				+
Referenses	Present Study	Ito et al. 1993	Ichimura et al. 2004	Imai et al. 1993

一方、五葉山と本論の結果を比較すると、Table 4に示したように、両地域ともに*Entodinium*属は同じ6種しか確認されていない。しかし、五葉山では*Entodinium*属以外に*Diplodinium*属、*Endiplodinium*属、*Epidinium*属の3種が確認されている。特に、*D. rangiferi*の占有率が高かった (Imai et al. 1993)。Imai et al. (1993) によれば、五葉山では分析前の2~3ヶ月間は農場で飼養されたため、他の家畜からの経口感染により属数が多くなった可能性や、*D. rangiferi*の占有率の高さは繊維質の多いアルファルファやヘイキューブなどの給餌の影響 (Hungate 1966) の可能性があるとしている。また、知床産では*Entodinium*属は8種出現した (Ichimura et al. 2004)。その中で*E. simplex*、*E. ovium*、*E. longinucleatum*の占有率が高かったが、*E. longinucleatum*は夏期のみに優占種で、秋期と冬期の占有率は低くなった (Ichimura et al. 2004)。*Entodinium*属以外では夏期と秋期のみに*D. anisacanthum*が1種出現しているが個体数もわずかで、冬期には出現していない。これら種構成の変化は採食植物の影響が指摘された。

野生反芻動物のうちシカなどのブラウザーでは種構成が単純である傾向がみられ、しばしば*Entodinium*属種のための単純な種構成となることがある。時田 (2012) は*Entodinium*属がニホンジカの持つ本来の繊毛虫相だとし、ウシやヒツジなどの家畜類とは採食植物のルーメン内での分解や消化過程が異なるとしている。知床産ニホンジカも家畜類の牧草地への侵入により家畜由来の繊毛虫を取り込んでいる可能性がある。その一方で、興部産 (Ito et al. 1993) の結果は家畜との接触の可能性はあるものの、種構成がもっとも単純になっており、接触の頻度等も検討する必要が示唆されている。

大台ヶ原は紀伊半島東南部の山岳地帯に位置し、そこに棲息するニホンジカは冬期には奈良県や三重県の低標高地に移動することが知られている (前地ほか 2000)。しかし、2010年世界農業センサスでは大台ヶ原周辺の奈良県側の上北山村や下北山村、川上村、三重県側の紀北町、尾鷲

市では酪農は行われておらず、大台町では肉牛、大紀町では肉牛と乳牛が飼育されていた (<http://www.machimura.maff.go.jp>, 2015年3月18日検索)。大台町の酪農家からは約30 km (大台町役場より聞き取り)、大紀町では約23 km離れていた (大紀町役場より聞き取り) ことから、大台ヶ原産ニホンジカの家畜類との接触はほとんど無視できるものと考えられる。

繊毛虫個体数は本論において成獣では平均 $10.5 \times 10^4/\text{mL}$ であり、ウシやヒツジなどの家畜動物より少なく、岩手県産の $7.4 \times 10^4/\text{mL}$ (Imai et al. 1993) と近い値を示した。一方、北海道産では $56.7 \times 10^4/\text{mL}$ (Ito et al. 1993)、 $79.5 \times 10^4/\text{mL}$ (Ichimura et al. 2004) であり、本論よりも高い値を示している。餌植物、地域間の違いなどに起因するものであろう。さらに、同じ北海道でありながら興部産と知床産は種数も個体ごとの種構成も明らかに異なっていた。また、知床産では季節により種構成に違いがあり、採食植物の影響が示唆されることから (Ito et al. 1993)、分析に際しては地域や季節等を考慮する必要があると考える。なお、大台ヶ原においては冬期間に低標高地に移動していたシカは春に山頂部へ戻り、秋まで留まる。その間はミヤコザサ (*Sasa nipponica*) がルーメン内容物の大半を占めている (鳥居ほか 2007)。本論における分析個体は夏期に捕獲された個体であり、大台ヶ原の典型的な時期の結果を反映しているものと言える。このことは前述した時田 (2012) のニホンジカの主たる繊毛虫種構成の指摘を支持するものと言える。

日本には在来の反芻動物としてニホンカモシカ (*Capricornis crispus* 以後、カモシカと呼ぶ) が本州以南に棲息している (三浦 1994)。Imai et al. (1981) は岐阜県産カモシカ27頭と宮城県産4頭のルーメン内繊毛虫について報告している。それによると、*Dastodinium* 属1種、*Entodinium* 属8種、*Elytroplastron* 属1種、*Epidinium* 属1種の4属11種が確認されている。それらのうちの10種はすでに国内の反芻動物から既に確認されているが、*Epidinium ecaudatum* はカモシカ特有のmorphotypeであった。このmorphotype は2あるいは3分岐した5つの尾棘をもつもので、Imai et al. (1981) により forma *capricornisi* と命名された。また、出現種数では1頭あたり2種から7種が確認され、平均は4.9種であった。繊毛虫個体数は $1.4 \times 10^5/\text{mL}$ で、種数が多い*Entodinium* 属が全体の80%を占めた。

このカモシカのルーメン内出現11種のうち、3種のみが本論と共通していた。大台ヶ原でのカメラトラップ調査によるとカモシカは撮影されていない (福田ほか 2008) が、本研究共著者のうちの鳥居は2011年11月に西大台でカモシカを目撃、撮影している (鳥居 未発表) ことから、棲息しているものの密度は低く、ニホンジカとの接触は少なかった可能性が高い。今後は各地のニホンジカからの分析を増やすとともに、同所的に棲息する地域でのニホンジカとカモシカの繊毛虫種構成を明らかにすることなどの必要性を示唆するものと言えるだろう。

謝辞

ルーメン内容物の採取と運搬にご協力いただいた (財) 自然環境研究センターと大台ヶ原ビジターセンター職員の方々、奈良教育大学自然環境教育センター研究部員高野彩子氏にお礼申し上げます。同大学院生木村友紀さんには種同定や文献整理をお手伝いいただいた。また、2名の匿名査読者には丁寧に査読いただくとともに、適切なご指導をいただいたことに感謝いたします。

引用文献

- 浅野 玄 (2012) 性判別法と齢査定法. (羽山 伸一, 三浦 慎悟, 梶 光一, 鈴木 正嗣 編) 野生動物管理—理論と技術—, pp. 247–255. 文永堂出版, 東京.
- 福田 秀志, 高山 元, 井口 政史, 柴田 叡式 (2008) カメラトラップ法で明らかにされた大台ヶ原の哺乳類相とその特徴. 保全生態学研究, 13:265–274.

- Hungate RE (1966) The rumen and its microbes. Academic Press. London and New York.
- Ichimura Y, Yamane H, Takano T, Koike S, Kobayashi Y, Tanaka K, Ozaki N, Suzuki M, Okada H, Yamanaka M (2004) Rumen microbes and fermentation of wild sika deer on the Shiretoko peninsula of Hokkaido island, Japan. *Ecol. Res.*, 19:389-395.
- 今井 壯一, 勝野 正則, 扇元 敬司 (1979) ウシ、ヒツジおよびヤギにおけるルーメン内繊毛虫の種類構成と宿主間移植試験. *日本畜産学会報*, 49:494-505.
- Imai S, Abe M, Ogimoto K (1981) Ciliate protozoa from the Japanese serow (*Capricornis crispus*). *Jpn. J. Vet. Sci.*, 43:359-367.
- 今井 壯一 (1988) ルーメン繊毛虫の系統分類に関する最近の進歩. *日本獣医師会雑誌*, 41:73-80.
- Imai S, Matsumoto M, Watanabe A, Sato H (1993) Rumen ciliate protozoa in Japanese sika deer (*Cervus nippon centralis*). *Anim. Sci. Technol.*, 64:578-583.
- 今井 壯一 (2010) 大型草食動物消化管内繊毛虫の系統学的研究. *Jpn. J. Vet. Parasitol.*, 9: 83-103.
- Ito A, Imai S, Ogimoto K (1993) Rumen ciliates of Ezo deer (*Cervus nippon yezoensis*) with the morphological comparison with those of cattle. *J. Vet. Med. Sci.*, 55:93-98.
- 環境省近畿地方環境事務所 (2014) 大台ヶ原自然再生推進計画 (第2期) の評価書及び大台ヶ原自然再生計画2014. 環境省近畿地方環境事務所.
- 前地 育代, 黒崎 敏文, 横山 昌太郎, 柴田 叡弼 (2000) 大台ヶ原におけるニホンジカの行動圏. *名大森研*, 19:1-10.
- 三浦 慎吾 (1994) ニホンジカ. (自然環境研究センター 編) 日本の哺乳類, pp. 148-149. 東海大学出版会, 神奈川.
- Ogimoto K, Imai S (1981) Atlas of rumen microbiology. Japan Scientific Soc Press, Tokyo.
- 竹中 昇臣 (2012) 食性ならびに栄養分析法. (羽山 伸一, 三浦 慎悟, 梶 光一, 鈴木 正嗣 編) 野生動物管理—理論と技術—, pp. 257-269. 文永堂出版, 東京.
- 津田 恒之 (1982) 家畜生理学. 養賢堂, 東京.
- 牛田 一成 (2004) ルーメンプロトゾアの種類と生態. (小野寺 良次 監; 板橋 久雄 編) 新ルーメンの世界—微生物生態と代謝制御—, pp. 29-43. 東京.
- 鳥居 春己, 鈴木 和男, 安藤 正規, 高野 彩子, 黒崎 敏文, 荒木 良太 (2007) 大台ヶ原に棲息するニホンジカの胃内容物分析. *日本哺乳類学会2007年大会講演要旨集*, pp. 198.