

学位申請論文

新生子牛における成牛ルーメン微生物の
早期定着技術とその有用性に関する研究

〔要旨〕

北 満夫

1998年4月

酪農および肉用牛経営の規模拡大にともない、子牛の育成も集団化、多頭化してきている。そのため、より経済的で手間のかからない育成法が求められている。そのひとつが子牛を早い時期に離乳させ、固形飼料主体の飼養に移行させる方法である。この早期離乳法は、飼料費の節約と育成効果を両立させようという経営的観点から研究が積み重ねられてきている。したがって、その多くは飼料の種類や摂取量とルーメンの発達または増体量との関係に注目したものであり、ルーメン内微生物の動態に焦点をあてた研究は少ない。

筆者は、子牛の生涯の早い時期に、成牛ルーメン内微生物叢を定着させることが早期離乳を可能にし、ひいては増体促進および病原微生物の排除に役立つのではないかと考えた。そこで第一に新生子牛に成牛ルーメン液を与えて成長過程を観察するとともに、子牛ルーメン内微生物叢の変化を調べた。次いで無菌ヤギに特定のルーメン内細菌を与え、どのような細菌がどこにどのくらい定着するのかを観察した。最後に、新生子牛に成牛ルーメン液を投与した後、大腸菌で攻撃し、ルーメン液投与の効果を判定した。以下にこれらの実験の概要を説明する。

実験1. 新生子牛ルーメン微生物叢の発達と子牛の発育におよぼす成牛ルーメン液経口投与の影響

健康な成牛の新鮮ルーメン液あるいは加圧滅菌処理したルーメン液(AT-R)を、生後数時間以内の子牛に経口投与し、子牛のルーメン微生物叢および発育に与える影響を調べた。

試験方法：健康な成牛の新鮮ルーメン液を生後3日齢まで1日100ml投与した試験区1、新鮮ルーメン液を試験区1同様に与え、あわせてAT-Rを42日齢まで1日500mlづつ毎日投与した試験区3、および何も与えない試験区4(対照区)を設定した。各試験区にはホルスタイン種5頭とジャージー種1頭を配した。供試牛には3日齢まで初乳を、4日齢から42日齢までは代用乳を、それぞれ体重の10%を上限として与え、43日齢で離乳させた。市販の人工乳、乾草、水は試験期間を通じて自由に摂取させた。ホルスタイン種は90日齢までルーメン内容の、その後は182日(26週)齢まで発育観察に供した。ジャージー種は10日齢で安楽殺し、ルーメン内への細菌付着状況の観察に供した。

成績：1. 45日齢までの乾物およびTDN摂取量は、対照区より試験区で有意に高かった。46-90日齢のそれには群間で差がなかった。体重は、観察終了時までには、試験区1で平均

140、試験区2で130、試験区3で136kgの増体があり、いずれも対照区の平均118.2kgより大きかった。体高、体長、胸囲も対照区と比較し、ほぼ同じ成績であった。

2. 試験期間を通じて、ルーメン内乳酸菌数は対照区にくらべ、各試験区で高く推移した。試験区2および3では、Streptococcus属菌群の数が他の試験区より高く推移した。機能別細菌群のうち、乳酸利用菌数は試験期間を通じて対照区と試験区の違いがなかった。しかしペクチンおよびキシラン分解菌、セルロース分解菌、メタン生成菌群は、子牛のルーメン内に早期に定着していることが確認された。対照区では50日齢まで、AT-Rのみを与えた試験区3では30日齢まで、ルーメン内にプロトゾアが検出されなかったのに対し、新鮮ルーメン液を投与した試験区2および3では10日齢から出現し、特に試験区3のプロトゾア数は以後も安定して試験区1より高いレベルで推移した。10日齢のジャージー種のルーメン壁を走査電子顕微鏡で観察したところ、対照区にくらべ試験区では多数の細菌が付着していた。

3. 試験区1および2のルーメンVFA濃度は、早い時期からのルーメン細菌の定着を反映して、50日齢までは対照区より高いレベルで推移した。試験区3のそれは、他の試験区より10日早く対照区の値に近づいた。組成をみると、プロピオン酸が高い比率を占めていた。

結論：新鮮ルーメン液およびAT-Rの投与はルーメン内偏性嫌気性菌の早期定着を促し、それが乾物摂取量を増加させ、結果として発育促進効果を発揮した。

実験2. 無菌ヤギの消化管内へのルーメン細菌の定着試験

実験1で、新生子牛に健康な成牛の新鮮ルーメン液を経口投与すると、成牛ルーメン微生物叢の早期確立に有効であることがわかった。そこで、このことをさらに明確に立証する目的で、無菌シバヤギに特定の単離ルーメン細菌を経口投与し、それらが消化管のどの部位にどれくらい定着するのかを調べた。

試験方法：無菌ブタの作出方法に準じ、子宮切断術で1頭のシバヤギの胎子を取り出し、改良アイソレーター内で56日間飼育した。飼料と水はすべて滅菌して与えた。この間、35日齢から5日間かけて次の9種類の細菌、S. bovis、L. plantarum、V. alcalescens、M. elsdenii、B. fibrisolvens、P. ruminicola ss. brevis、E. faecium、R. amylophilus および R. albus を投与した。最初の投与後3週目に安楽殺し、ルーメン、盲腸および直腸内における定着状況を、選択培地と非選択培地で検索した。

成績：シバヤギのルーメン内pHは6.98、VFA濃度は2.59 mM/dlで、VFA組成比は健康なヤギのそれに似ていた。投与した9種類の細菌のうち、8菌種がルーメン内に定着していた。とくに S. bovis、P. ruminicola、R. amylophilus、B. fibrisolvans、L. plantarum はルーメン内で多数を占め、V. alcalescensは下部消化管内にくらべ約1,000倍の濃度で存在した。一方、M. eldenii および E. faecium はルーメン内にくらべ下部消化管で2-4倍高いレベルで定着していた。セルロース分解菌 R. albus はどの部位にも定着していなかった。

結論：無菌ヤギに主要なルーメン細菌を経口投与すると、ルーメン内はもちろん、盲腸や直腸などの下部消化管にも定着する。ルーメン内のVFA濃度や組成比を調べたが、通常飼育のヤギや子牛のそれと近似していた。したがって、このシバヤギのルーメン内に定着した菌群が、子牛のVFA産生に寄与していると考えられる。

実験3. ルーメン液早期投与による、新生子牛腸管内への病原性大腸菌の定着阻止試験
新生子牛下痢症は病原性大腸菌の感染が原因で、生後0-3日以内に水様下痢便を排泄し、脱水状態となって敗血症死する。いったん牛群内に発生すると死亡、発育遅延などによる経済的損失が大きい。ワクチン接種による予防が試みられているが、血清型が多岐にわたること、免疫能が未発達な時期に発症することなどのため、必ずしもよい成績が得られていない。そこで、子牛のルーメン細菌叢を早い時期に成牛のそれに近づければ、病原大腸菌の定着を阻止できるのではないかと考え、この実験を行った。

試験方法：(1)生後48時間の無処置対照牛1頭、(2)生後24時間目にE. coli NAS-10で攻撃した1頭、(3)生後2-3時間以内にルーメン液を投与した2頭、および(4)ルーメン液投与後21時間目に E. coli NAS-10で攻撃した3頭、計4群を設定した。ここで用いたルーメン液は、採取後のろ過液を-80°Cで保存したものである。

成績：ルーメン液を投与しなかった1頭は、攻撃により見ず様下痢便を排泄し死亡した。ルーメン液投与後に攻撃した群では、軽度の軟便を排泄したものの、その後は回復した。十二指腸の E. coli NAS-10の菌数は、ルーメン液非投与の子牛より、投与した子牛で著しく低く、時間とともに増加することもなかった。被攻撃群のリンパ節、脳、心、肺、腎、肝、脾からは攻撃菌が検出されたが、ルーメン液投与後の攻撃群では検出できなかった。ルーメン液投与群

およびルーメン液投与後の攻撃群では、ルーメン、十二指腸、直腸に形態的に多様な細菌が定着していた。これに対応して下部消化管のVFA濃度も対照牛にくらべて著しく高かった。

結論：新生子牛への保存ルーメン液投与は、病原性大腸菌の腸管定着を抑制することが明らかとなった。

以上の成績を総合し、次の結論を得た。

1. 新生子牛への新鮮ルーメン液の経口投与は、成牛のルーメン微生物叢の早期確立および子牛の発育促進に有効であった。
2. 無菌ヤギへのルーメン主要細菌の経口投与試験により、セルロース分解菌以外の細菌が、ルーメン内はもちろん、下部消化管内にも定着することを確認した。
3. ここで作出したノバイオート・シバヤギは、ルーメン微生物および下部消化管の正常細菌叢と病原微生物との関係を研究するために有用な実験動物となる。
4. 新生子牛への保存ルーメン液の投与は、病原性大腸菌の腸管内定着を抑制する。