

代謝障害起因菌 *Streptococcus bovis* 種内多様性に関する研究

家畜生産生物学講座 家畜栄養学分野

加藤 泰基

【背景と目的】

近年、反芻家畜の生産性を向上させるため濃厚飼料を多給する傾向にある。しかし濃厚飼料の多給は特定のデンプン分解菌の過増殖を招き、時としてルーメン内の恒常性が破綻し、代謝障害に至るリスクがある。当研究室では代謝障害起因菌として知られているルーメン細菌 *Streptococcus bovis* に着目して研究を行っており、これまでに本菌種は種内で遺伝的及び生理的に多様であることを示唆するデータを得ている。本研究では、飼料中粗濃比を変えた場合にルーメン内の *S. bovis* 菌株多様性がどのように変化するかを検証し、本菌種の種内多様性に関するさらなる基盤情報の取得をめざした。

【方法】

給与飼料の粗濃比が異なるヒツジルーメンより *S. bovis* 菌株を計85株(粗飼料多給区:25株、中間設定区:30株、濃厚飼料多給区:30株)分離し、RAPD法による遺伝子型解析を行った。バイオフィーム産生に関与する *cpsC* 遺伝子に特異的なプライマーを作成し、分離株が保有する本遺伝子の塩基配列を比較した。また *cpsC* 遺伝子を標的としたPCR-DGGEによる菌株別検出法を確立し、給与飼料の違いがルーメン内 *S. bovis* 構成に及ぼす影響を検証した。さらに分離株の生理的特徴を把握するため、純粋培養下で各種基質の利用性、低pH耐性能及びバイオフィーム産生量を評価した。

【結果および考察】

遺伝子型に基づくクラスター解析により分離株 85 株は 13 クラスターに大別された。粗飼料多給区由来の分離株は 13 クラスターのうち 10 クラスターに属していたが、中間設定区より分離した菌株は 6 つ、さらに濃厚飼料多給時に分離した菌株は 4 つのクラスターに集中していた。これより濃厚飼料多給時には *S. bovis* 種内多様度が減少し、特定の菌株が優勢となっている可能性が示された。*cpsC* 遺伝子において菌株間で塩基配列に差異がみられ、*S. bovis* 種内多様性が分子レベルで明確に示された。また *cpsC* 遺伝子を標的とした PCR-DGGE により、粗飼料多給時と濃厚飼料多給時でルーメン内 *S. bovis* 構成員が変化することが明らかとなった。しかし各種基質における増殖プロファイル、低 pH 耐性能及びバイオフィーム産生量に菌株間で明確な差異はなく、濃厚飼料多給に伴う *S. bovis* 構成員の変化を説明するデータは得られなかった。