

4-1604

ニホンライチョウ保護増殖に資する腸内細菌の研究  
29年度報告

研究代表者  
牛田一成  
京都府立大学

平成29年12月8日(金) 経産省別館



火打山 Hiuchi

立山 Tateyama

大天井岳 Ótensho  
常念岳 Jōnen

乘鞍岳 Norikura

御岳 On-take

北岳 Kitadake



29年度  
腸内細菌採材場所

\* 垂直伝播様式観察  
→ 北岳ケージ保護個体



28年度  
腸内細菌採材場所

\* 垂直伝播様式観察  
→ 北岳ケージ保護個体



ニホンライチョウ  
生息場所

28, 29年度  
(2016, 2017)  
飼育実験



プロジェクト協力園  
スバルバル-  
ライチョウ 飼育実験

Nasu Animal  
Kingdom Zoo



プロジェクト協力園  
飼育ニホンライチョウ  
試料提供

Toyama  
Family park  
Zoo



Ômachi  
Museum



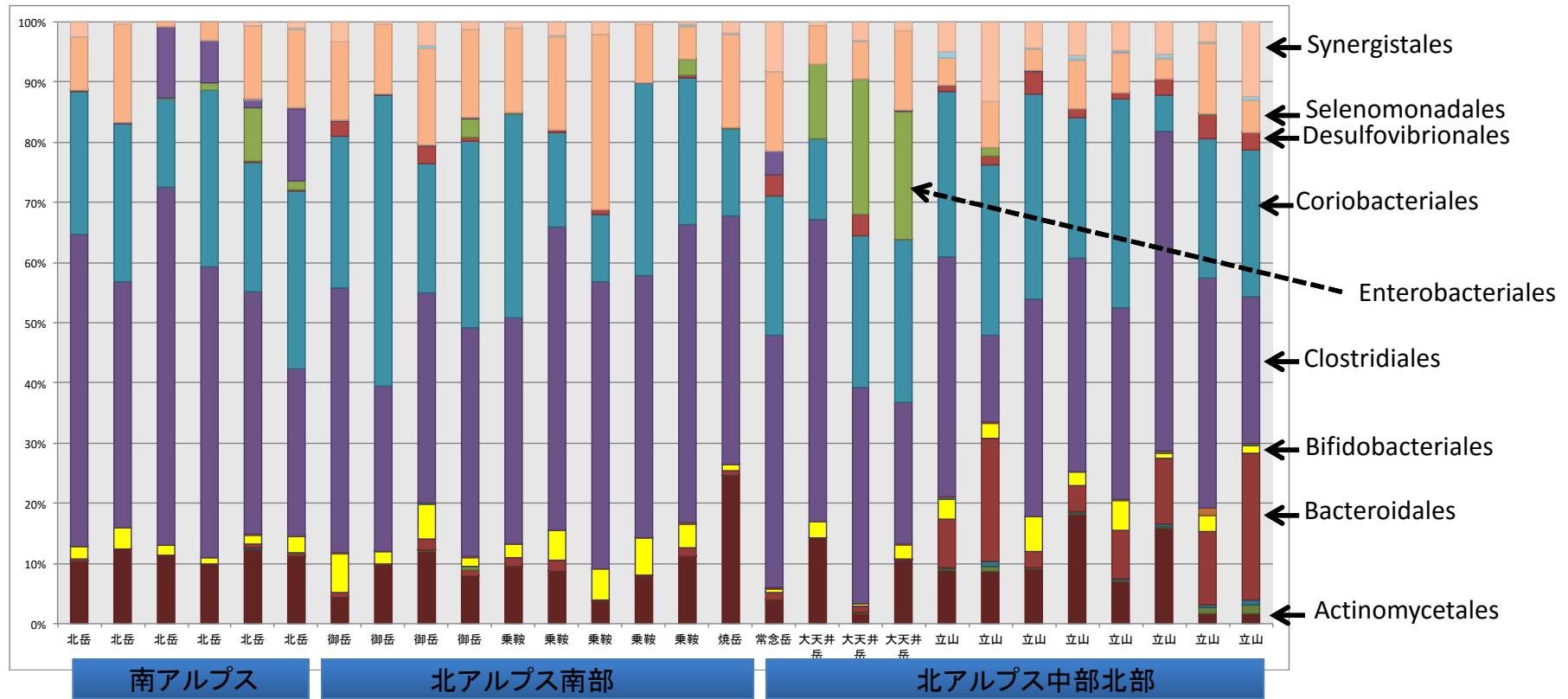
Yokohama Zoo



Ueno Zoo



# ニホンライチョウ腸内細菌網羅解析 結果1 生息地域の比較



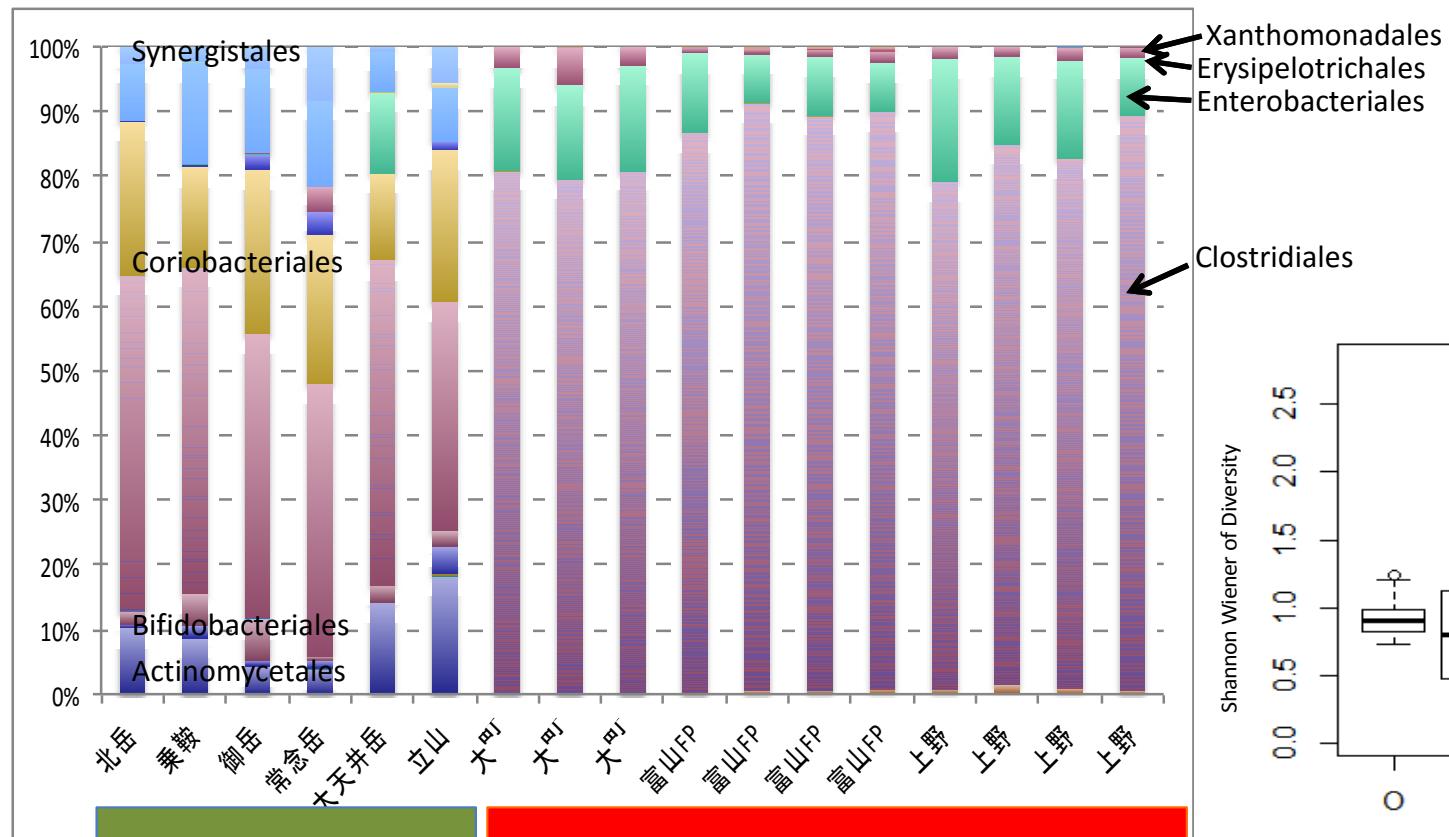
## 野生成ニホンライチョウの腸内菌叢比較

基本構成(目):

Actinomycetales; Bifidobacteriales; Coriobacteriales; Desulfovibrionales;  
Bacteroidales; Selenomonadales; Synergistales

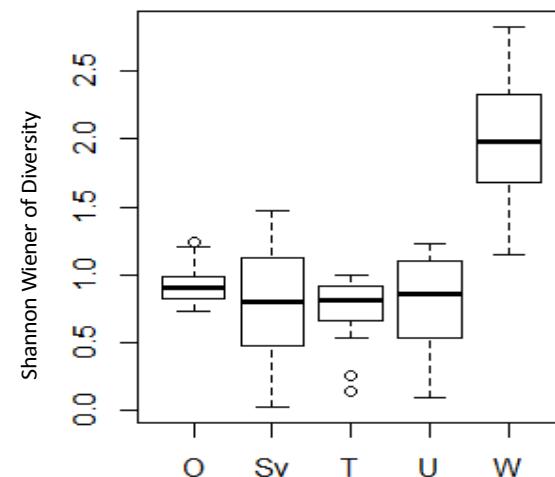
## ニホンライチョウ腸内細菌網羅解析 結果2 野生と飼育の比較

### Comparison between wild abd captive raised birds (adults)

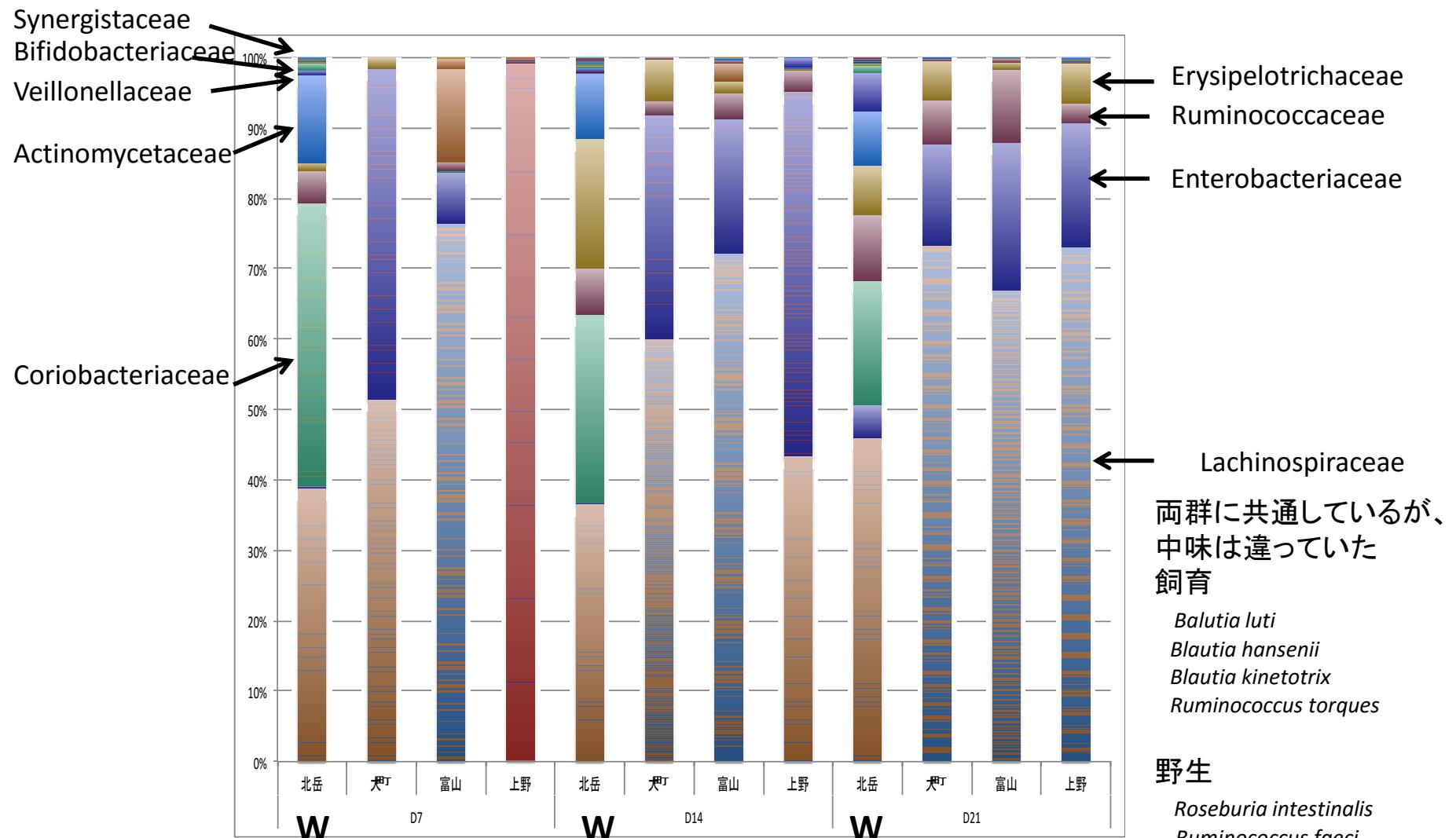


野生成ニホンライチョウ ■ と飼育成ニホンライチョウ  
(90日齢) ■ の菌叢比較

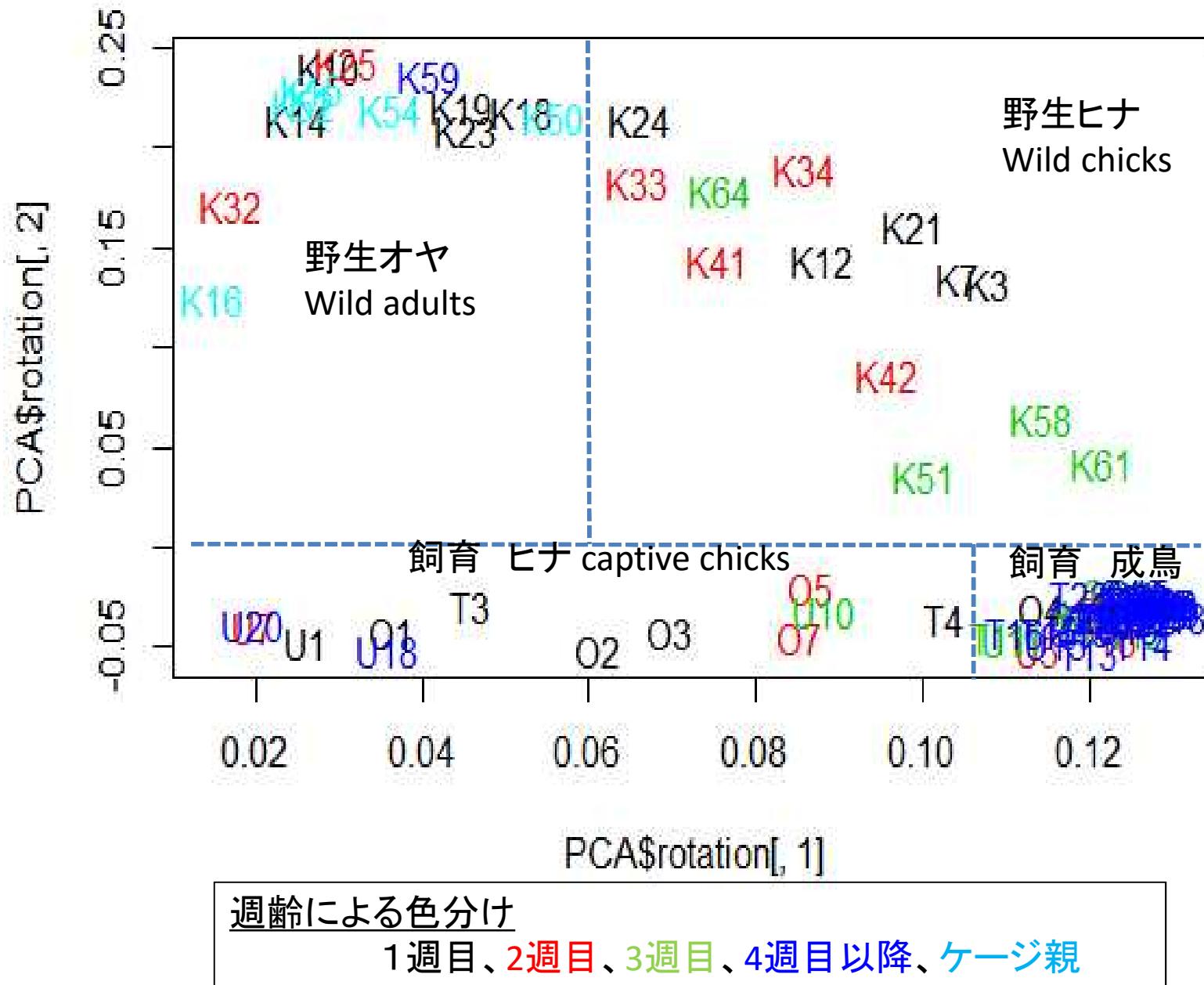
- ✓ 飼育による構成の単純化
- ✓ 野生ニホンライチョウの固有菌種の喪失と他種動物からの移入による菌交代 ← 抗菌剤 + 厳密な衛生管理



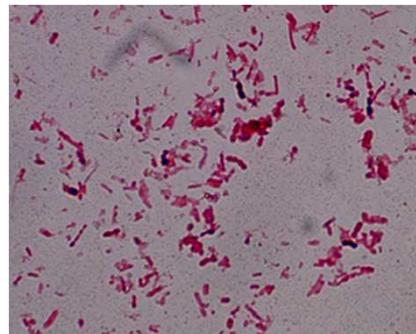
野生と飼育ニホンライチョウ  
菌叢構成の多様性比較  
O 大町 Sv スバルバルライ  
チョウ T 富山 U 上野  
W 野生



ニホンライチョウ雛の腸内細菌叢の発達  
北岳保護ケージと3園館の比較  
Comparison between wild and captive raised birds (7 days to 21 days old)

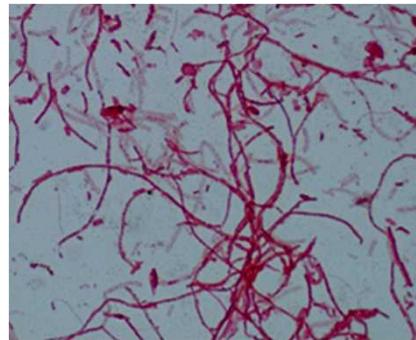


野生および飼育ニホンライチョウの腸内細菌叢の主成分分析結果



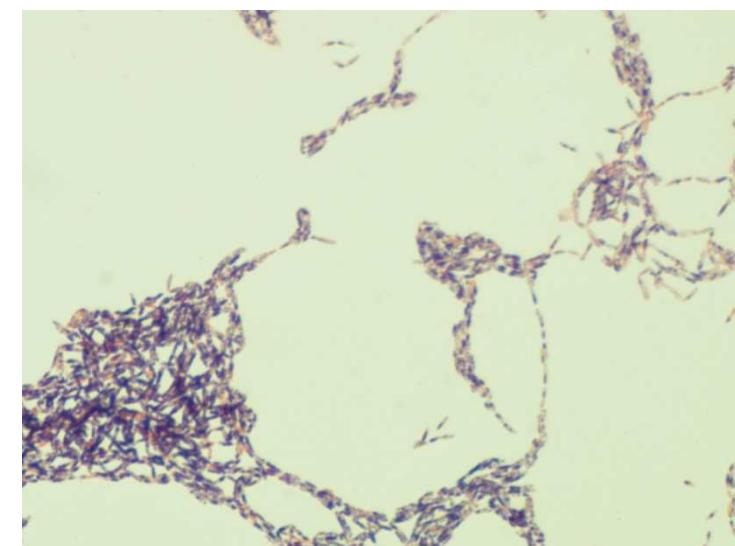
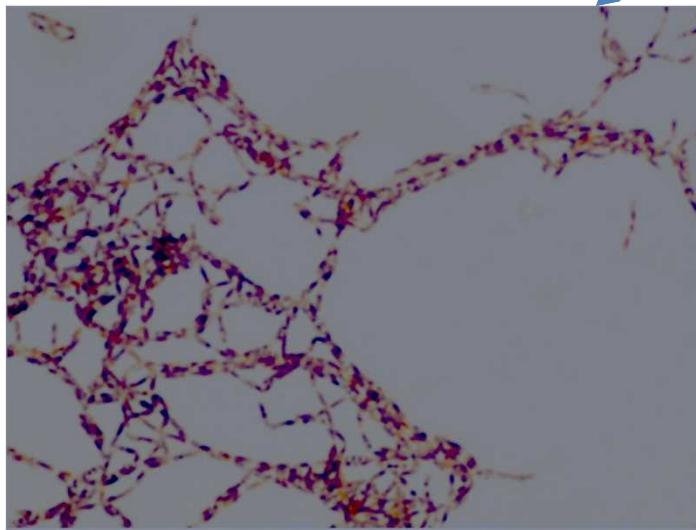
2014/5糞便スメア像

Feces Gram stain



野生ニホンライチョウの優占腸内菌の確保  
ただし、機能未知

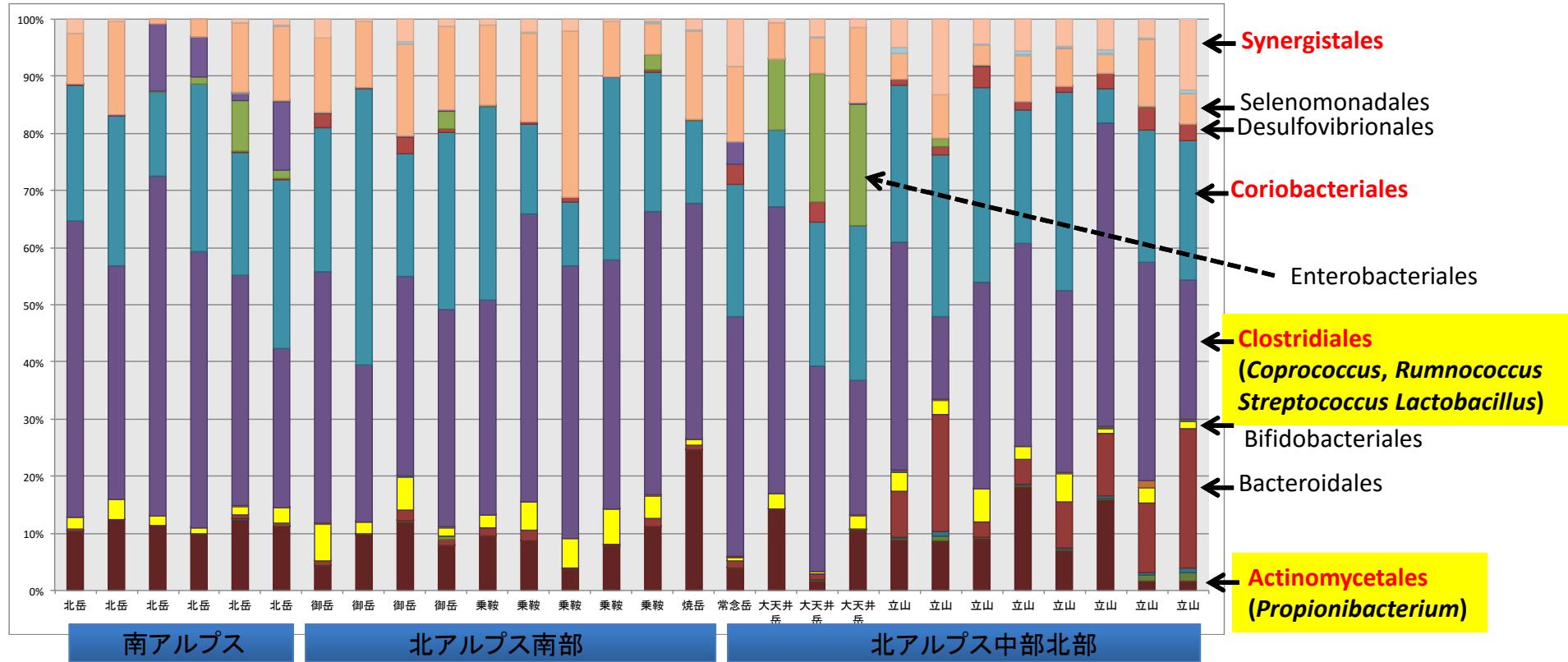
2016年度  
立山単離株



S-4-15 *Ruminococcus torques* / 96.93%  
(novel species or subspecies)

S-4-16 *Coprococcus comes* / 92.4%  
(novel genera or species)

# ニホンライチョウ腸内細菌網羅解析 結果1 生息地域の比較



## 野生成ニホンライチョウの腸内菌叢比較

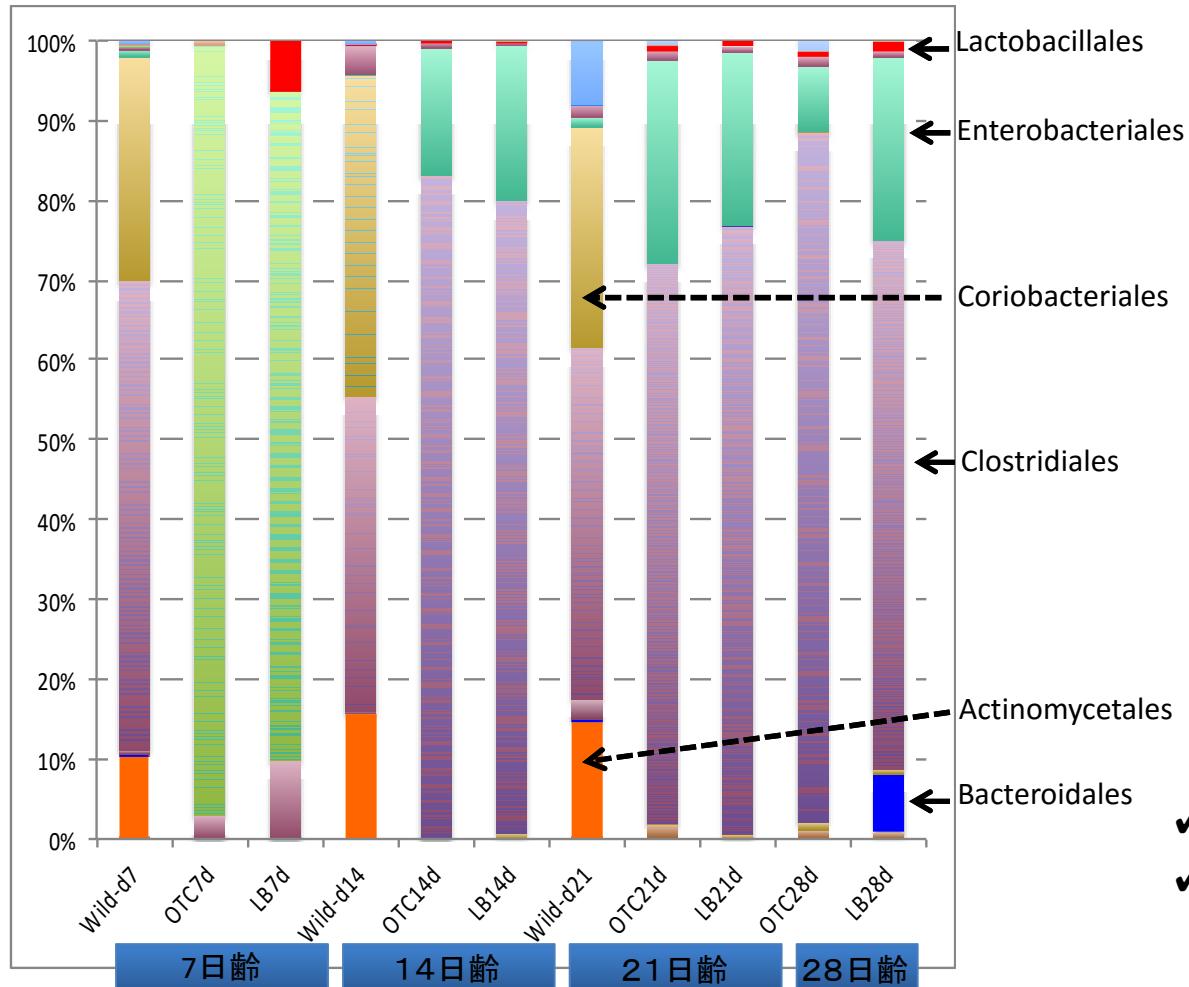
基本構成(目):

Actinomycetales; Bifidobacteriales; Coriobacteriales; Desulfovibrionales; Bacteroidales; Selenomonadales; Synergistales

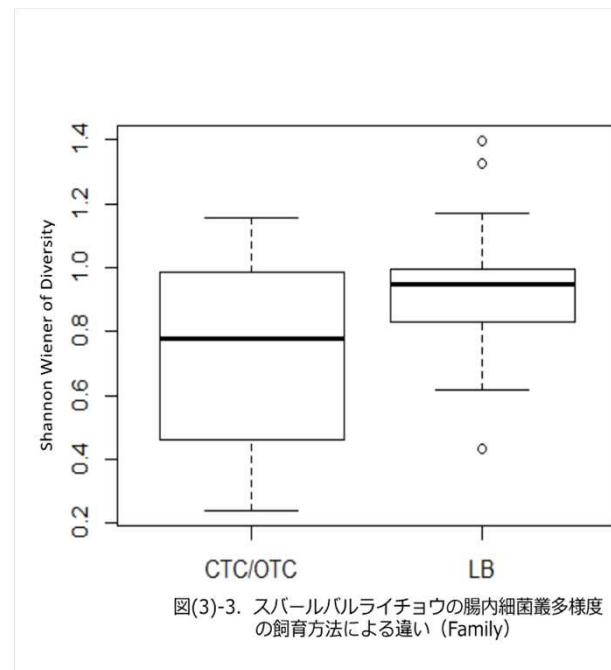
赤字 重要な菌群  
 括弧内は、すでに分離し  
 同定した細菌  
 現在、29年度残り90株に  
 ついて同定中

## 腸内細菌網羅解析結果4

## スバルバルライチョウ飼育実験



スバルバルライチョウ飼育実験結果  
菌叢構成の比較 (Wild 野生雛/OTC 抗菌剤群/LB 菌投与群)

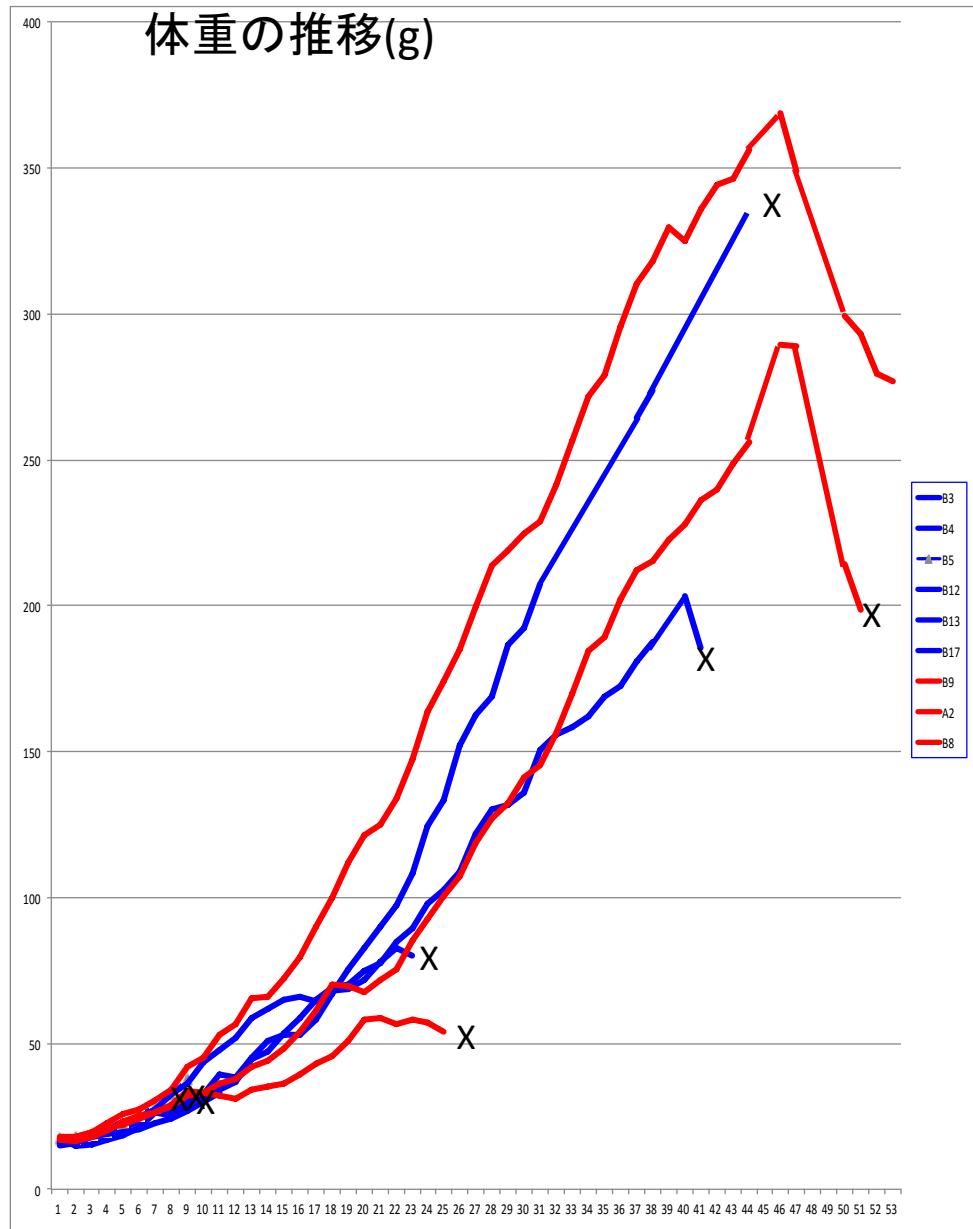


菌投与による菌叢多様性の向上

- ✓ 菌投与による多様性の向上達成
- ✓ 嫌気度の向上達成(絶対嫌気性菌の増加)
- ✓ 放線菌類など固有菌種を分離し、導入する必要性

# 那須どうぶつ王国 2017年試験成績

## 体重の推移(g)



ライチョウ乳酸菌投与群 A2, B8, B9  
OTC処方群 B3, B4, B5, B12, B13, B17

0-7日齢の死亡 LB 0 OTC 0

7-14日齢の死亡 LB 0 OTC 3

14-21日齢の死亡 LB 0 OTC 0

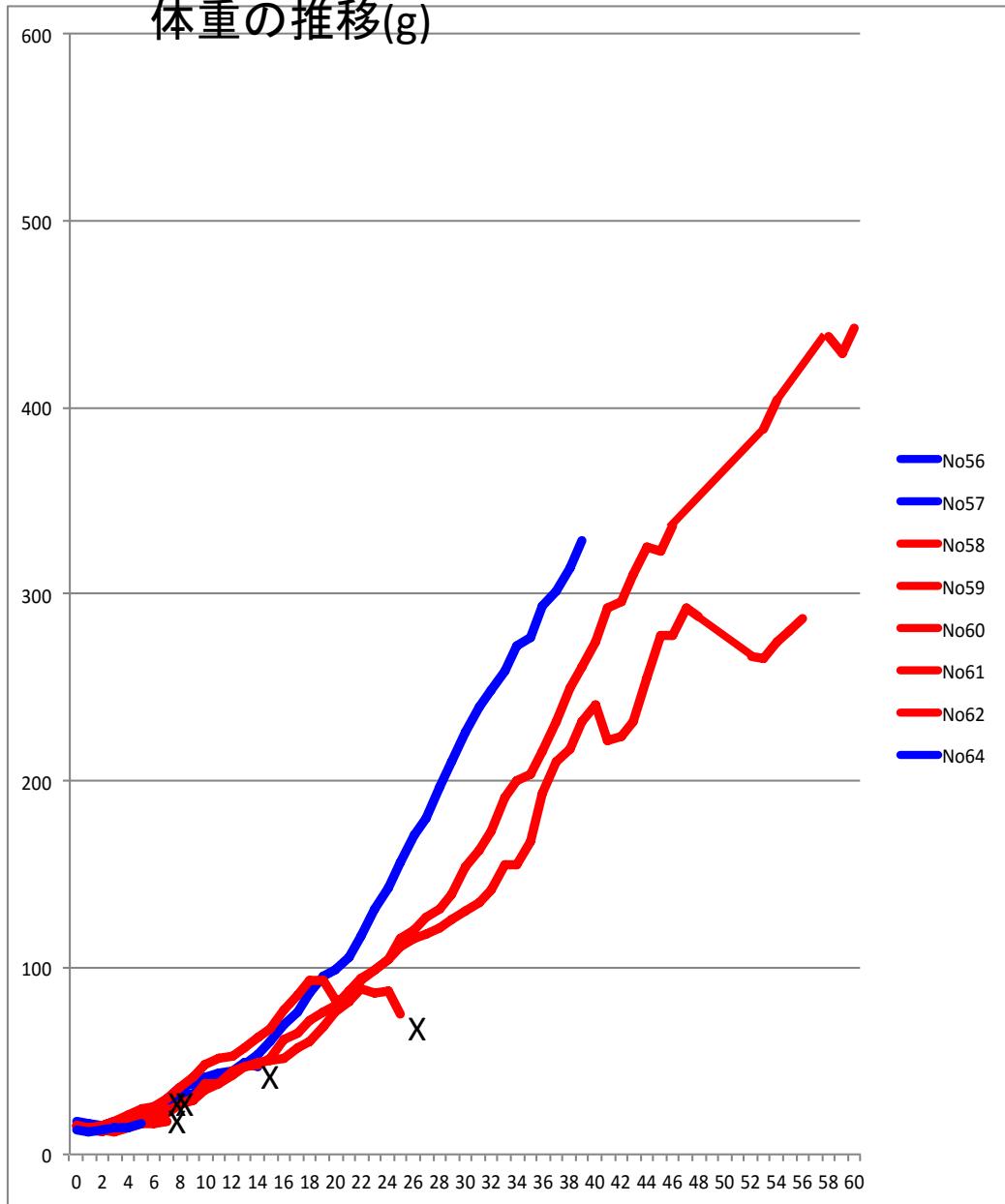
21-28日齢の死亡 LB 1 OTC 1

28日以降の死亡 LB 1 OTC 2

累積 LB 2/3 OTC 6/6

# 横浜繁殖センター 2017年試験成績

## 体重の推移(g)



### ライチョウ乳酸菌投与群

No58, 59, 60, 61, 62

OTC処方群 No 56, No 57, No 64

(No65、孵化後死亡のため、除外)

0-7日齢の死亡 LB 0 OTC 0

7-14日齢の死亡 LB 2 OTC 1

14-21日齢の死亡 LB 0 OTC 1

21-28日齢の死亡 LB 1 OTC 0

28日以降の死亡 LB 0 OTC 0

累積

LB 3/5 OTC 2/3

40日齢 前後より、全羽治療介入  
(菌投与ほか)

70-80日齢以降、全3羽CTC飲水投与

## 実験個体から検出された細菌種

横浜  
野生では見つからない  
*Enterococcus*が優占  
野生は、*Streptococcus*

	LB	OTC
	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Clostridium sordellii</i>
	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Cronobacter sakazakii</i>
	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
	<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Lactobacillus apodemi</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

那須

	LB	OTC
	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
	<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Enterobacter ludwigii</i>
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
	<i>Lactobacillus apodemi</i>	<i>Enterococcus gallinarum</i>
		<i>Escherichia coli</i>
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

- ・投与菌の回収

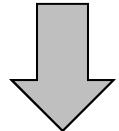
(7/ 21/ 60/ 90日齢でサンプリング)

横浜市繁殖センター

7・21日齢で投与菌(*L. apodemi*)を確認した。60・90日齢サンプルは、現在解析中

那須どうぶつ王国

7・21日齢で投与菌(*L. apodemi*)を確認した。60・90日齢サンプルは、現在解析中



7日間の投与後も、腸管内に定着している可能性

今後の予定

- ・直腸糞中のIgA測定

- ・腸内細菌の網羅解析(16S deep sequence)

- ・採食物の滞留時間測定(大町山岳博物館飼育スバルレバール)

# 飼育下繁殖個体群への野生ライチョウ腸内菌接種

## 1. 野生の食物に対応できる菌叢確立方法

✓凍結乾燥菌末の給与で、早期の定着を確認 (*L. apodemi*)

課題: *Enterococcus*の優占を防ぐ <- *Streptococcus gallolyticus*接種

課題: 難培養菌の確保 現在同定結果待ち

## 2. 抗菌剤に頼らない飼育方式の確立

✓グラム陰性菌に対する抗菌力のある *L. apodemi* で、

日和見感染菌 *Proteus mirabilis* の定着阻害

(病原性は弱いが免疫力が低下すると尿路感染症、敗血症、膿瘍など起因)

課題: エサにタンニン等を加えて、タンニンなど分解性のライチョウ細菌の定着を促進するとともに、タンニンの抗菌性も期待