

# ニワトリにおける消化管内細菌叢の生態学的研究

## 第2報 絶食時に給水および給餌した場合の菌叢

白坂 昭治・成田 徳敬

### Ecological Studies on Bacterial Flora in Alimentary Tracts of Chickens

#### 2. Changes of bacterial flora following water- and food-ingestion in the starved chicken

SHOJI SHIRASAKA and NORIYOSHI NARITA

#### まえがき

前報<sup>1)</sup>ではニワトリを絶食させた場合、消化管内細菌叢はどのように変化するかについて経時別に検索した。その結果、消化管の総菌数は絶食することにより各部位ともに減少し、とくに筋胃および小腸部において絶食開始後24時間までの菌数減少が著しかった。菌種別には *Lactobacillus* の減少が著しく、絶食72時間では嚙嚢で *Bacteroidaceae* およびその他の菌が、筋胃、十二指腸および小腸中部では *Bifidobacterium* 様菌が優勢であった。また小腸下部では *Bifidobacterium* 様菌のほか *Enterobacteriaceae* および *Bacteroidaceae* 等も増加する傾向であることを報告した。

本報告では、これら3日絶食時のニワトリに菌浮遊液、常水、滅菌ブイヨンならびに普通飼料等の給与を行なった場合の細菌叢について経時別に検索した成績をのべる。

#### 実験材料および方法

試験に用いたニワトリは前報と同じく健康な1~2年 齢の産卵用種である。

市販配合飼料を自由採食していたニワトリの嘴を閉じて3日間完全絶食を行なったのち、以下の方法により給与物を与え、その後、経時別にと殺し菌叢検索の材料に供した。

1. 菌液給与: ニワトリ消化管から分離した *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecalis* および

*Escherichia coli* の新鮮培養菌苔を滅菌生理的食塩水に浮遊し、ただちに1羽30 ml あてカテーテルで1回のみ経口給与した。菌液中の各菌種菌数は *Lactobacillus acidophilus*  $1.0 \times 10^9$ /ml, *Streptococcus faecalis*  $1.4 \times 10^9$ /ml および *Escherichia coli*  $4.4 \times 10^8$ /ml であった。

菌液給与後は嘴を再び閉じ完全絶食状態とした。菌叢検索には給与3時間後3羽、24時間後3羽ならびに72時間後2羽の計8羽を供した。

2. 常水給与: 常水のみを自由摂取の状態に給与し、72時間後3羽を菌叢検索した。

3. 滅菌ブイヨン給与: 滅菌した Briggs ブイヨンを1羽50 ml あてカテーテルで1回のみ経口給与し、3, 24 および72時間経過したのち、それぞれ3羽あて、計9羽について菌叢を検索した。また同じく1回50 ml あて1日4回、3日間連日給与した3羽についても最終給与後菌叢検索を行なった。いずれも給与時以外は嘴をしばった状態においた。

4. 普通飼料給与: 市販成鶏用配合飼料を1羽25 g あて1回のみ経口給与し、給与後12, 24 および72時間目にそれぞれ3羽あて計9羽について菌叢を検索した。また普通飼料を自由採食の状態に給与したニワトリは、0時間(すなわち3日絶食時)ならびに給与開始後3, 12, 24, 48 および72時間目にそれぞれ3羽あて計18羽を菌叢検索に供した。

各部位の材料採取法、希釈法、培養法、菌種同定法ならびに菌数算定法等については、前報と同様に MITSUOKA *et al.* の方法<sup>2)</sup> に準じた。また使用培地、菌数の対数値への変換および平均値の算出等については前報<sup>1)</sup> 同様に 行なった。

実験成績

1. 菌液給与時の経時別菌叢

Escherichia, Streptococcus および Lactobacillus の3菌種混合の生理的食塩水浮遊菌液を3日絶食時ニワトリに経口給与し、3、24および72時間後に消化管各部位の菌数を検した結果は第1表の通りであった。またその分散分析値は第2表の通りである。

すなわち菌液を給与してから3時間後における菌数は、3菌種ともに3日絶食時の菌数よりも各部位で高く、一応、経口給与菌液がこれら各部位を通過していることを示唆する成績であった。しかし24時間後では筋胃以下の部位では3菌種ともに激減または消失していた。また72時間後においてもほぼ同様であった。嚙嚢における

第1表 3日絶食時に菌液給与後の経時別菌数

菌種	経過時間	消化管部位				
		嚙嚢	筋胃	十二指腸	小腸中部	小腸下部
Escherichia	3	7.9	6.2	7.0	6.9	7.2
	24	6.2	2.4	2.6	4.6	6.6
	72	4.7	3.7	3.3	3.7	5.5
Streptococcus	3	8.7	5.4	7.1	6.9	6.7
	24	6.2	2.0	2.3	2.3	3.0
	72	5.4	2.2	2.2	2.0	3.0
Lactobacillus	3	7.3	3.9	5.3	5.3	5.2
	24	5.6	2.0	2.0	2.0	2.0
	72	3.8	2.0	2.0	2.0	2.6

備考: 最小有意差 1.61

第2表 第1表菌数の分散分析

変動因	自由度	平均平方
部位	4	11.09**
時間	2	48.14**
菌種	2	10.75**
部位 × 時間	8	0.87*
部位 × 菌種	8	0.92*
時間 × 菌種	4	0.58
誤差	16	0.29
計	44	

備考: \*\* 1% 水準有意  
\* 5% 水準有意

菌数減少は他の部位に比しややおくれる傾向であった。

2. 普通飼料を連日給与した場合の経時別菌叢

3日絶食ニワトリ(0時間)に普通飼料を自由採食の状態に給与し、給与開始後3、12、24、48ならびに72時間目における各部位の総菌数および菌種別菌数は第3表の通りであった。またその分散分析値が第4表および第5表である。なお本成績を図示したのが第1図である。

まず総菌数では飼料給与開始後24時間までは嚙嚢を除く各部位で急速に菌数増加を示し、24時間以後は緩徐な増加を示した。しかし各部位ともに12~72時間で自由採食時の菌数に復した。

これらを菌種別にみると、まず Lactobacillus が急激な増加を示し、とくに3~24時間の増加は著しかった。また本菌の嚙嚢での菌数増加が他の部位における増加よりもっとも早く現われた。Streptococcus および Enterobacteriaceae は各部位ともに給与開始後3時間においてやや増加したが、12時間以後はまた減少し、72時間においてはそれぞれの部位の正常な自由採食時菌数に復する傾向であった。Bacteroidaceae は3日絶食時、嚙嚢および小腸下部で優勢な菌種であったが、飼料の給与に伴って Lactobacillus の増加とは反対に急激に減少

第4表 第3表の総菌数の分散分析

変動因	自由度	平均平方
部位	4	2.24
時間	5	5.07**
部位 × 時間	20	0.32
計	29	

備考: \*\* 1% 水準有意

第5表 第3表の Ent. Str. Lact. および Bact. 菌数の分散分析

変動因	自由度	平均平方
部位	4	15.17**
時間	5	5.09**
菌種	3	66.87**
部位 × 時間	20	1.25**
部位 × 菌種	12	1.01*
時間 × 菌種	15	18.78**
誤差	60	0.47
計	119	

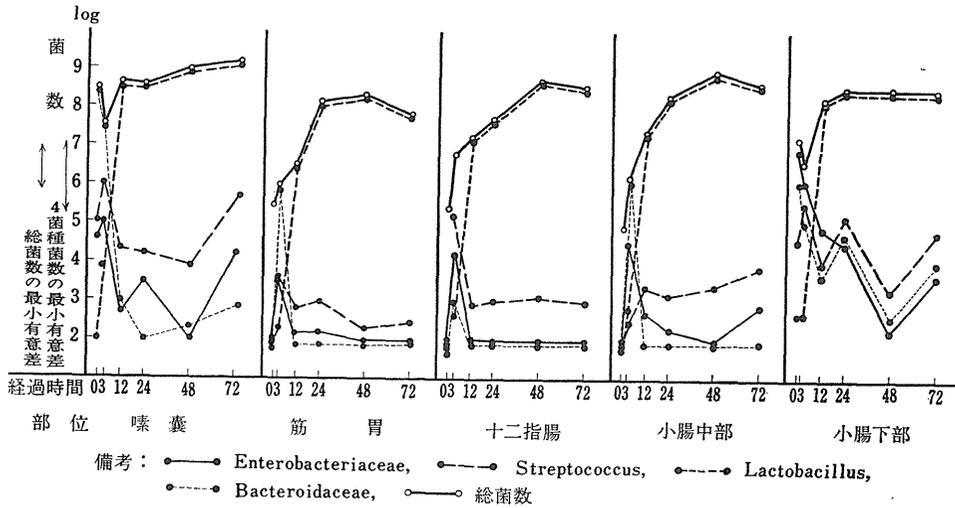
備考: \*\* 1% 水準有意  
\* 5% 水準有意

第3表 3日絶食ニワトリに普通飼料を自由採食させた場合の経時別菌数

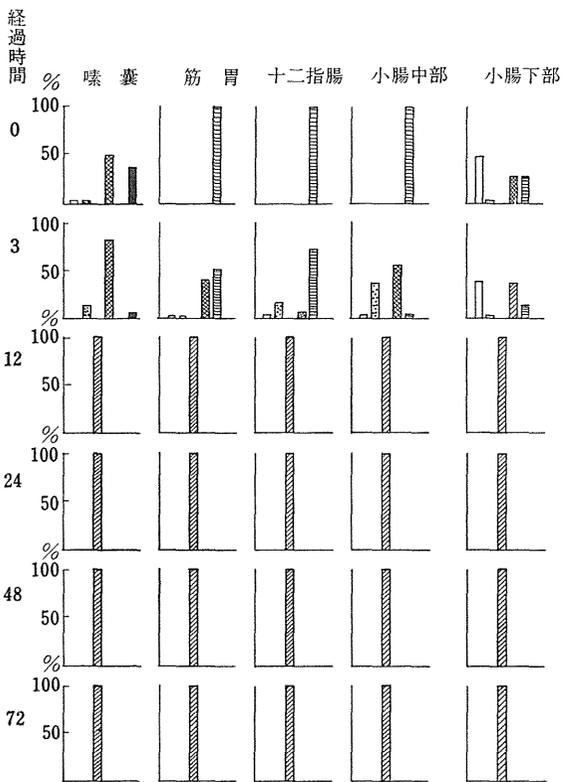
菌種	経過時間	消化管部位					
		嗦	囊	筋胃	十二指腸	小腸中部	小腸下部
Enterobacteriaceae	0	4.6	2.0	2.0	2.0	2.0	6.9
	8	5.0	3.5	4.2	4.5	4.5	6.1
	12	2.7	2.2	2.0	2.7	2.7	4.9
	24	3.5	2.2	2.0	2.3	2.3	4.5
	48	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.3
	72	4.2	2.0	2.0	2.9	2.9	3.7
Streptococcus	0	5.0	2.0	2.0	2.0	2.0	4.6
	3	6.0	3.6	5.2	2.5	2.5	5.5
	12	4.3	2.8	2.9	3.4	3.4	4.0
	24	4.2	3.0	3.0	3.2	3.2	5.2
	48	3.9	2.3	3.1	3.4	3.4	3.3
	72	5.7	2.4	3.0	3.9	3.9	4.8
Lactobacillus	0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.7
	3	3.9	2.3	2.6	2.8	2.8	2.7
	12	8.6	6.5	7.2	7.4	7.4	8.2
	24	8.6	8.1	7.7	8.3	8.3	8.5
	48	9.0	8.3	8.7	8.9	8.9	8.5
	72	9.2	7.8	8.5	8.6	8.6	8.5
Bacteroidaceae	0	8.3	2.0	2.0	2.0	2.0	6.1
	3	7.6	6.1	3.0	6.6	6.6	5.1
	12	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	3.7
	24	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	4.7
	48	2.3	2.0	2.0	2.0	2.0	2.6
	72	2.9	2.0	2.0	2.0	2.0	4.0
Bifidobacterium 様菌	0	.	5.5(3/3)	5.4(3/3)	4.9(3/3)	6.5(3/3)	6.5(3/3)
	3	.	5.4(3/3)	6.7(3/3)	5.5(3/3)	5.7(3/3)	5.7(3/3)
	12	.	.	.	.	.	.
	24	.	.	.	.	.	.
	48	.	.	.	.	.	.
	72	.	.	.	.	.	.
総菌数	0	8.5	5.5	5.4	4.9	4.9	7.2
	3	7.6	6.0	6.8	6.2	6.2	6.6
	12	8.6	6.5	7.2	7.4	7.4	8.2
	24	8.6	8.1	7.7	8.3	8.3	8.5
	48	9.0	8.3	8.7	8.9	8.9	8.5
	72	9.2	7.8	8.5	8.6	8.6	8.5

- 備考：1. 4菌種菌数の最小有意差は1.93  
 2. 総菌数の最小有意差は1.66  
 3. ( )内分母は検体数，分子は検出陽性羽数  
 4. ・は検出不能

第1図 3日絶食ニワトリに普通飼料を自由採食させた場合の経時別菌数



第2図 総菌数に対する各菌種菌数の百分率



備考： Enterobacteriaceae, Streptococcus, Lactobacillus, Bacteroidaceae, Bifidobacterium, その他の菌種

した。Bifidobacterium 様菌は3時間後までは検出されたが、12時間以後は検出不能であった。

しかして、これら各菌種菌数の総菌数に対する割合を百分率で示せば第2図の通りである。すなわち絶食時に普通飼料を給与した場合、12~24時間で再び自由採食時と同様にLactobacillus 優勢の菌叢に復した。

### 3. 常水、ブイヨン1回または連日ならびに普通飼料1回または自由採食させた場合の菌叢

3日絶食時に常水の自由給与(A区)、Briggs ブイヨン1回のみ給与(B区)、普通飼料1回のみ給与(C区)、Briggs ブイヨン連日給与(D区)および普通飼料自由採食給与(E区)の5区について、給与開始後72時間目にそれぞれの各部位の菌叢を検した結果は第6表に示す通りであった。

A区は各部位ともにLactobacillusの菌数が低く、嗉囊ではBacteroidaceaeおよびEnterobacteriaceaeが優勢で、筋胃および小腸部でのBifidobacterium様菌の優勢など完全絶食時とほぼ同様の菌叢を示していた。

B区およびC区においてもA区とほぼ同様の菌叢を示していたが、( )内菌数に示したように経時別には一時期に菌種によってはある程度菌数増加を示すが、72時間目にはま

第6表 3日絶食時に常水、パイヨンおよび普通飼料を給与した場合の菌数

区分	部位	菌 種				
		Enterobacteria- ceae	Streptococcus	Lactobacillus	Bacteroidaceae	Bifidobacterium 様菌
常水連日	嚙 嚢	5.6	4.8	2.0	7.9	2.0
	筋 胃	2.0	2.0	2.0	2.0	2.8[3/3]
	十二指腸	2.0	2.0	2.0	2.0	3.4[3/3]
	小腸中部	2.0	2.0	2.0	2.0	3.6[3/3]
	小腸下部	4.0	4.8	4.7	4.7	4.9[3/3]
パイヨン一回	嚙 嚢	(5.4, 2.0)2.3	(5.5, 3.4)3.3	(4.6, 8.0)3.3	(8.4, 6.7)7.9	2.0
	筋 胃	(3.5, 2.1)2.0	(2.3, 2.0)2.0	(2.0, 2.6)2.0	(5.9, 2.0)2.0	(4.2, 5.0)5.7[3/3]
	十二指腸	(5.1, 2.0)2.0	(4.6, 2.0)2.0	(2.4, 4.2)2.0	(6.4, 2.0)2.0	(4.6, 5.3)5.7[3/3]
	小腸中部	(6.4, 2.0)2.5	(4.3, 2.3)2.0	(2.0, 4.9)2.0	(7.0, 2.0)2.0	(4.8, 5.8)5.4[3/3]
	小腸下部	(7.5, 4.3)2.8	(4.2, 4.0)2.0	(2.4, 3.7)3.5	(. , 2.0)3.4	(. , 5.2)5.6[1/3]
普通飼料一回	嚙 嚢	(3.8, 3.4)4.9	(3.6, 4.6)3.3	(9.3, 8.5)6.1	(2.6, 2.1)7.8	2.0
	筋 胃	(2.3, 2.0)2.0	(2.0, 2.0)2.0	(3.5, 2.9)2.1	(2.0, 2.0)2.0	(4.6, 5.2)3.1[2/3]
	十二指腸	(2.2, 2.0)2.0	(2.0, 2.3)2.0	(5.1, 5.3)2.5	(2.0, 2.0)2.0	(3.1, 6.5)3.6[2/3]
	小腸中部	(3.6, 2.0)2.3	(3.0, 2.2)2.3	(5.9, 4.2)2.8	(2.0, 2.0)2.0	(6.6, 3.0)3.5[2/3]
	小腸下部	(7.3, 4.1)5.8	(4.2, 3.8)3.9	(5.1, 6.3)4.0	(4.1, 6.0)3.7	(6.0, 6.3)6.3[1/3]
パイヨン連日	嚙 嚢	2.0	2.0	8.6	2.0	—
	筋 胃	2.0	2.0	6.4	2.0	7.2[3/3]
	十二指腸	2.0	2.0	3.6	2.0	7.5[2/3]
	小腸中部	2.4	2.0	7.2	2.0	7.7[3/3]
	小腸下部	5.0	2.0	7.5	3.4	7.2[1/3]
普通飼料連日	嚙 嚢	4.2	5.7	9.2	2.9	—
	筋 胃	2.0	2.4	7.8	2.0	—
	十二指腸	2.0	3.0	8.5	2.0	—
	小腸中部	2.9	3.9	8.6	2.0	—
	小腸下部	3.7	4.8	8.5	4.0	—

備考：1. 数字は給与開始後72時間目の平均菌数  
 2. パイヨン1回欄の( )内数字の前者は給与後3時間目、後者は24時間目の平均菌数  
 3. 普通飼料1回欄の( )内数字の前者は給与後12時間目、後者は24時間目の平均菌数  
 4. [ / ]内分母は検体羽数、分子は菌検出陽性羽数

た絶食時の菌叢に復していた。

D区は各部位とも *Lactobacillus* の菌数増加が著しく、E区の菌叢とほぼ相似た傾向を示していた。

### 考 察

ニワトリを完全絶食させると自由採食時消化管に最優勢に棲息していた *Lactobacillus* は激減し、他の菌種の優勢な菌叢となる<sup>8)</sup>。したがってこれら各菌種の棲息には食餌との関係が密接であろうと予想される。今回はこのような完全絶食を行なったニワトリに給餌した場合

に、はたして絶食前の菌叢に復するか否かを検する目的で本実験を行なった。

まず前段試験として、絶食時にニワトリ由来の3菌種混合の菌液のみを給与したが、これらの菌種は消化管内では増殖しえない成績を示した。

さらに常水のみを給与しても完全絶食時菌叢と同様であった。パイヨンおよび普通飼料1回のみ給与では3~24時間に一時は各菌種ともに増加するが、72時間後には再び絶食時の菌叢に復した。しかしながらパイヨンの連日給与ならびに普通飼料を自由採食給与した場合、72時間後には自由採食時の菌叢に復した。また普通飼料

を自由採食させた場合の経時別検索では *Lactobacillus* の増殖は各部位共に非常にはやく、ほぼ 12～72 時間で自由採食時の菌数に復した。また絶食時に嚙嚢および小腸下部で優勢となった *Bacteroidaceae*, *Enterobacteriaceae* および *Streptococcus* は *Lactobacillus* の増加とともに減少し、自由採食時の菌数に復した。

Smith<sup>4)</sup> もこれらに関連した実験として、24 時間絶食させたニワトリに滅菌した飼料を給与し、ほぼ同様な傾向の成績を示している。

以上のことからニワトリの消化管に棲息する細菌叢は、外界由来の飼料に大きな影響をうける。とくに消化管内に棲息する *Lactobacillus* の発育ないし増殖は飼料ならびにその分解産物にその栄養要求を大きく依存しているものとする。今後さらにその飼料種別と菌叢との関係について追求してゆきたい。

なお、飼料給与に伴った *Lactobacillus* の急速な増殖については、その由来が消化管内に残存していたごく少数の菌の増殖か、あるいは小腸下部から逆上した菌の増殖かまたは飼料その他外界環境由来の菌の増殖かはなはだ興味あるものとする。また絶食時に優勢に棲息している筋胃および小腸部の *Bifidobacterium* をはじめ、嚙嚢の *Bacteroidaceae* 等については、宿主生体の異常な環境時の適応として、また正常時に菌叢が回復する時の前段階として必要なものか今後考慮すべきものとする。

## 結 論

絶食 72 時間のニワトリに菌液、常水、ブイヨンおよび普通飼料を給与し、3, 12, 24, 48 および 72 時間の経時別に消化管内菌叢を検索した結果は次の通りであった。

1. ニワトリ由来の *Lactobacillus*, *Streptococcus* および *Escherichia* の 3 菌種混合菌液を 1 回のみ経口給与した場合、これらの給与菌は 24～72 時間で各部位ともに減少した。

2. 普通飼料を自由採食給与した場合、*Lactobacillus* は 3～24 時間に各部位とも急速な増加を示し、12～72 時間で最優勢の菌種となった。また嚙嚢および小腸下部の *Bacteroidaceae*, *Enterobacteriaceae* および *Streptococcus* は減少し、通常の自由採食時の菌数に戻った。

3. 常水給与時の菌叢は絶食時の菌叢と大差なかった。ブイヨンまたは普通飼料 1 回給与時においても 3～24 時間に一旦は各菌種共に増加するが、72 時間では再び絶食時の菌叢に復した。ブイヨン連日給与では 72 時間目に自由採食時の菌叢と大差なかった。

以上の成績から自由採食時ニワトリの消化管内で最優勢に存在する *Lactobacillus* は *Streptococcus* および *Enterobacteriaceae* とともに絶食時の小腸には棲息しにくい。本部位における *Lactobacillus* の棲息ないし増殖には経口給与による栄養補給が消化管内環境条件として重要な役割りを演じているものとする。

本論文の要旨は第 66 回日本獣医学会(昭和 43 年 8 月)において発表した。

## 文 献

- 1) 白坂昭治・加藤利長・石山 誠: 茨大農学術報告 No. 19, (1971)
- 2) Mitsuoka, T., T. Segal, and S. Yamamoto: Zbl. f. Bakt. I Orig., 195, 455 (1965)
- 3) 白坂昭治: 日本細菌学雑誌, 25, 355 (1970)
- 4) Smith, H.W.: J. Path. Bact., 89, 95 (1965)

### Summary

Bacterial saline suspension, water, bouillon or routine diet was orally given to chickens after 72 hr starvation and the changes of the gastro-intestinal bacterial flora were examined 3, 12, 24, 48 and 72 hr after the administration.

The following results were obtained.

1) When Bacterial saline suspension containing *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Escherichia* originated from chickens was administered but once, these administered bacilli decreased in number during the period 24-72 hr after the administration in every of the alimentary tract examined.

2) In the cases given routine diet *ad libitum*, *Lactobacillus* rapidly increased in each part of alimentary tract 3-24 hr after feeding. However, *Bacteroidaceae*, *Enterobacteriaceae* and *Streptococcus* in both crop and the lower part of small intestines decreased and returned to almost the same number as that obtained at the usual *ad libitum* feeding.

3) Bacterial flora found after giving water was not different markedly from that at the time of starvation.

When bouillon or routine diet was given but once, every bacterial species increased in number 3-24 hr after giving and 72 hr later returned to the same number as that during the period of starvation.

In the cases administered with bouillon 4 time a day for 3 successive days, the bacterial flora found on the last day of the administration did not differ from that found at usual *ad libitum* feeding.

On the basis of the obtained data, it would be considered that *Lactobacillus* being most predominant when fed *ad libitum* as well as *Streptococcus* and *Enterobacteriaceae* are difficult to harbor in small intestine of starved chickens. Thus, the orally supplied nutrients seem to play important role as one of the environmental factors concerning the settling and multiplication of *Lactobacillus* in small intestines.