

亜急性ルーメンアシドーシスにおける ルーメン微生物の動態

三森真琴[†]

(独)農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所家畜生理栄養研究領域
(〒305-0901 つくば市池の台2)

Structure of the microbial flora of the rumen associated with subacute ruminal acidosis

Makoto MITSUMORI[†]

National Institute of Livestock and Grassland Science, 2 Ikenodai, Tsukuba, 305-0901, Japan

(2012年2月1日受付・2012年5月23日受理)

1 はじめに

亜急性ルーメンアシドーシス (Subacute ruminal acidosis : SARA) では、ルーメン液の pH (ルーメン pH) がおよそ 5.8 以下に低下し、採食量の低下、下痢、ルーメン粘膜の損傷、蹄葉炎、肝膿瘍などの病態を特徴としている [1, 2]。SARA は乳用牛や肥育牛での発生が多く、また顕著な臨床症状を示すことなく経過するため、全体としての経済的損耗が大きい潜在性生産病である [3]。濃厚飼料多給 (多量の易発酵性基質のルーメンへの投入) が、ルーメン pH が低下する要因とされているが、実際のルーメンではどのような変化が起きているのだろうか。本稿では急性ルーメンアシドーシス (ARA) 及び SARA の原因であるルーメン内の乳酸の蓄積について、ルーメン微生物による乳酸の産生と消費の観点から論説し、ARA と SARA におけるルーメン微生物叢や発酵パターンの違いについて最近の研究成果をふまえて考察する。

2 乳酸産生に関わるルーメン内代謝

ARA は、牛が易発酵性の炭水化物を多量に摂取した場合にルーメン内で *Lactobacillus* や *Streptococcus bovis* などの乳酸産生菌が増殖して、乳酸がルーメン内に蓄積し、pH が 5 以下となる状態であり、食欲喪失、乳量激減、横臥、起立不能などの臨床症状を示す [3]。

SARA について、Gozho ら [4] はルーメン pH が 5.2 ~ 5.6 となる時間が少なくとも 3 時間/日以上継続する状態と定義している。SARA では ARA のような臨床症状は示さないが、乾物摂取量 (DMI) の低下、蹄葉炎、ルーメンパラケラトシス、肝膿瘍、糞性状の変化、乳脂率の低下などが起きることが報告されている [1]。

ルーメン内の乳酸は、ARA では pH6 以下で検出され始めて、pH5 以下で急激に増大する。SARA でも乳酸は pH6 以下で検出されるが、pH が低下してもあまり増加せず、低濃度で維持されている [5]。つまり、pH5 ~ 6 の間では乳酸産生は増大するが、産生された乳酸の多く

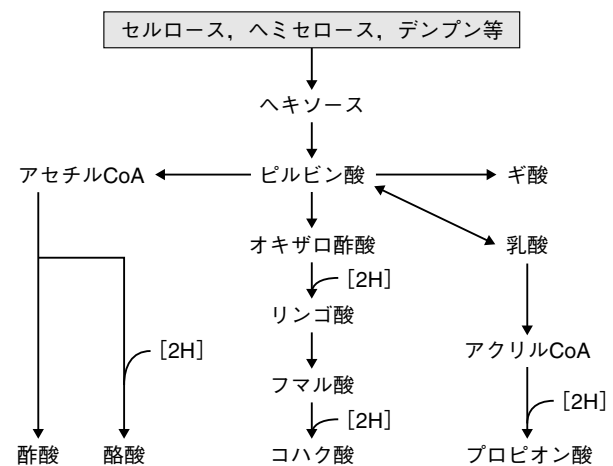


図1 ルーメン発酵における炭水化物の主要な代謝経路

[†] 連絡責任者: 三森真琴 (独)農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所家畜生理栄養研究領域)

〒305-0901 つくば市池の台2 ☎029-838-8660 FAX 029-838-8606 E-mail: mitumori@affrc.go.jp

[†] Correspondence to: Makoto MITSUMORI (National Institute of Livestock and Grassland Science)

2 Ikenodai, Tsukuba, 305-0901, Japan

TEL 029-838-8660 FAX 029-838-8606 E-mail: mitumori@affrc.go.jp

はルーメンで消費されると考えられる。図1にルーメン発酵の主要な代謝経路を示した。乳酸はピルビン酸から乳酸産生菌により生産され、乳酸利用菌によりプロピオン酸に変換される。ルーメンpHが6以上ではピルビン酸-乳酸-プロピオン酸経路が滞ることなく働き、pH5~6の間ではピルビン酸-乳酸経路による乳酸産生が増大し、これに対応する乳酸-プロピオン酸経路も十分ではないが対応している状況と推定される。実際、SARAではプロピオン酸産生の増大による酢酸/プロピオン酸比 (AP比) の低下が乳脂率の低下とともに観察される [2]。ルーメンpHの低下は揮発性脂肪酸 (VFA) と乳酸のイオンとしての挙動にも影響を与える。SARAの閾値としてpH5.5を想定した場合、VFA (pKa ≒ 4.9) はルーメン内のH⁺と結合して非解離型となり、受動的にルーメン上皮から体内に吸収される。つまり、VFAはpH5.5でルーメン内のH⁺を減少させ、自らはルーメン上皮から吸収されやすい非解離型となり、ルーメン外 (体内) へ移動する。一方、乳酸のpKaは3.9であり、VFAよりも低く、pH5.0の場合、乳酸の非解離型の量はVFAの約1/5である。このことは低pHで解離型乳酸がルーメン内で増加し、ルーメンpHを下げる方向に働いていることを意味している [6, 7]。

3 ルーメン内の乳酸産生

(1) デンプンからグルコースまでの経路に関与する細菌

ルーメン発酵のデンプンから乳酸への代謝経路とこれに関連する細菌を図2に示した。これらの細菌は培養法により代謝活性が確認されているものと、遺伝子データベースを対象にした検索で乳酸関連代謝活性があると推定されるものとに分けられる。デンプンを分解してアミロデキストリンあるいはマルトースに分解する細菌のうち、*Ruminobacter amylophilus*と*S. bovis*は強いアミラーゼ活性と高い増殖速度を示す [8]。*Butyrivibrio fibrisovens*はおもに水溶性の炭水化物を利用するが、一部の菌株はデンプンを分解する [8]。*Butyrivibrio proteoclasticus*はデンプン、キシラン、ペクチン、イヌリンを分解し、その全ゲノム解析によりアミラーゼ遺伝子の存在が確認されている [9, 10]。*Bifidobacterium pseudolongum*, *thermophilum*, *adolescentis*もデンプン分解菌としてルーメンから分離されている [11]。図2には載せてないが、*Eubacterium ruminantium*, *Selenomonas ruminantium*, *Fibrobacter succinogenes*の一部の菌株がデンプンを分解する [11, 12]。*Cellulosilyticum ruminicola* H1はヤクから分離されたセルロース分解菌であり [13]、その全ゲノムが解読されている [14]。*C. ruminicola* H1はデンプンを分解しないが4つのアミラーゼ遺伝子が見つかったことから [14]、培養条件の変更によってデンプン分解活性が

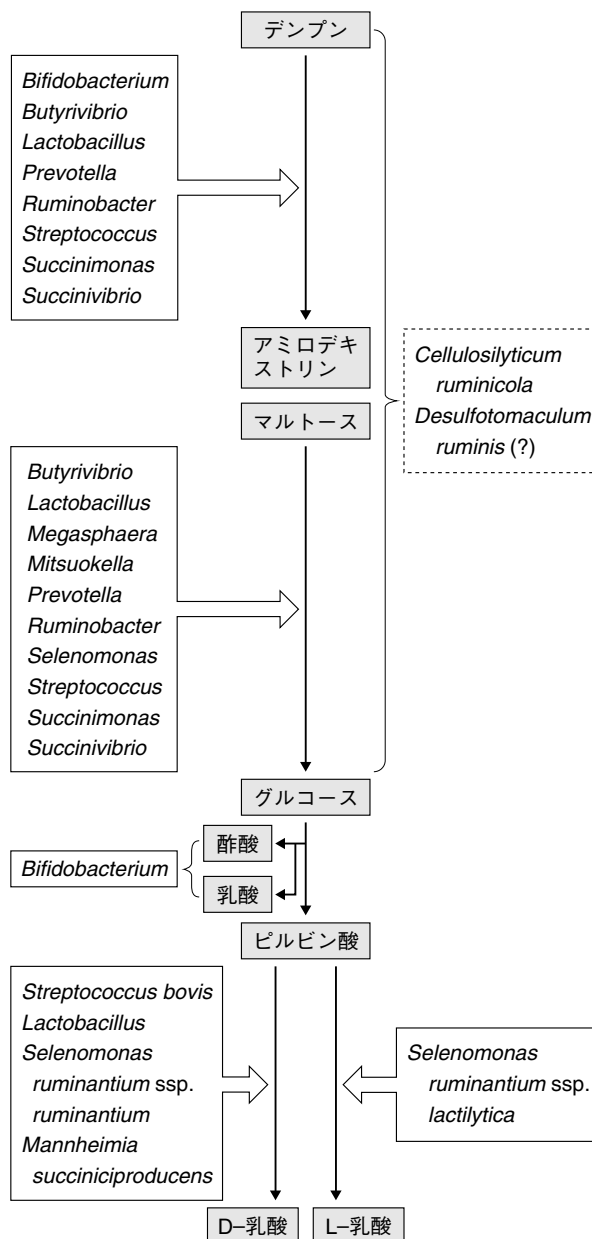


図2 デンプンから乳酸へ至る代謝経路と関連する細菌
破線で囲まれた細菌は遺伝子データベースから代謝活性が推定される細菌

発現する可能性があり、アミラーゼ遺伝子の発現機構の詳細な検討が必要である。*Desulfotomaculum ruminis* (旧名 *Desulfovibrio orientis*) は硫酸還元菌としてヒツジのルーメンから分離され、アラニン、乳酸、ピルビン酸、ギ酸を利用できるが、グルコースやデンプンは利用しない [15]。硫酸還元菌はおもに乳酸を水素ドナーとして硫酸を還元し、硫化水素 (H₂S) と酢酸を産生する代謝経路を持つ。*Desulfotomaculum* は乳酸以外にも水素、揮発性脂肪酸 (VFA)、芳香族化合物を電子供与体として利用することができる硫酸還元菌であり [16]、本菌属にはグルコースからピルビン酸に至る解糖系として Embden-Meyerhof-Parnas 経路と Entner-Doudo-

roff経路の両方が存在している [17]. 解糖系を持つことから *Desulfotomaculum* は炭水化物を利用できることが明らかであるが、硫酸還元菌で炭水化物を利用できる細菌はまれである [17]. *D. ruminis* の全ゲノム配列 (2011年10月にDNAデータベースに登録) から見つかったアミラーゼ遺伝子についての相同性検索を実施したところ、他の *Desulfotomaculum* 属の細菌のアミラーゼ (AmyD) と高い相同性を示し、このアミラーゼが広く *Desulfotomaculum* 属の細菌に存在することが判明した (未発表データ). しかし、*Desulfotomaculum* 属の細菌はデンプンを利用しないことと AmyD は他の細菌の $4\text{-}\alpha\text{-glucanotransferase}$ とも高い相同性が認められることから、AmyD はアミラーゼ以外の機能を持つ可能性がある。

(2) グルコースから乳酸までの経路に関与する細菌

デンプン分解やその他の炭水化物の分解により生じたグルコースは多くの細菌では解糖系によりピルビン酸に変換される。ピルビン酸からはおもにVFAが産生されるが、一部のピルビン酸が乳酸合成へ向かう経路へ入る (図1) [18]. ピルビン酸から乳酸の経路は乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase : LDH) により進行する。

S. bovis は LDH による乳酸を産生する経路と、ピルビン酸をピルビン酸-ギ酸開裂酵素 (Pyruvate Formate Lyase : PFL) によりギ酸とアセチル CoA に代謝し、さらにアセチル CoA から酢酸とエタノールを産生する経路を有し、これらの経路によってエネルギー獲得する。したがって、*S. bovis* の発酵産物は乳酸、酢酸、ギ酸、エタノールである。これらの発酵産物の比は LDH 活性と PFL 活性に大きく依存し、発酵基質 (たとえばデンプン) が十分に供給されている場合には乳酸産生が増加する [18]. さらに、*S. bovis* の細胞内 pH は、外部環境の pH が 7.0 から 4.5 に低下した場合、5.5 付近まで低下し、LDH を介した乳酸産生が増加する。これは LDH の至適 pH が 5.5 であり、PFL の至適 pH が 7.0 であることが一因であると推定されている [18]. これは、ルーメン pH の低下により *S. bovis* ではより多くの乳酸を産生する代謝経路が増強され、さらにより多くの乳酸が放出されることを意味している。なお、ルーメンアシドーシスのヒツジから分離され、形態的・生化学性状が *S. bovis* に類似している細菌が 16S rDNA 解析で *Pediococcus acidilactici* であることが明らかにされたことから [19], 本菌がルーメンアシドーシスにどの程度関与しているかについて、今後の研究の進展が待たれるところである。

Selenomonas ruminantium は濃厚飼料を多給した場合に総生菌数の 22~51% を占めることがあるルーメン内の優勢菌種の一つである [12]. 本菌種はグルコース、フルクトース、マルトース等の水溶性少糖類を利用する

が、デンプンなどの多糖体を分解できる菌株は限られているので、他の多糖分解菌の分解産物を利用しているとみられる (図2) [18]. 本菌種は乳酸とグリセロールが利用できる亜種 *lactilytica* とこれらを利用できない亜種 *ruminantium* に区別され、亜種 *lactilytica* はグルコースから酢酸:プロピオン酸:酪酸:乳酸をおよそ 2.5 : 3.6 : 0.2 : 0.1 のモル比で、亜種 *ruminantium* はグルコースからギ酸:酢酸:プロピオン酸:酪酸:乳酸:コハク酸をおよそ 0.1 : 1.3 : 1.3 : 0.2 : 4.3 : 0.2 のモル比で生成する [12]. すなわち、*S. ruminantium* で乳酸を最終発酵生成物として放出するのはおもに亜種 *ruminantium* である (図2). 亜種 *lactilytica* はグルコースを炭素源として培養すると、培養初期には乳酸が生成し、グルコースが枯渇した後に蓄積した乳酸から酢酸とプロピオン酸を産生することから、結果的に発酵生成物としての乳酸の蓄積量は少なくなる [18].

(3) SARA における乳酸産生菌

前述のとおり、ARA では *Lactobacillus* や *S. bovis* などの乳酸産生菌が増加するが [5], SARA においてもこれらの細菌が乳酸産生に大きく寄与しているのだろうか。Mackie ら [20] は粗濃比を徐々に変化させた飼料をヒツジに与えて SARA を誘発させたところ、デンプン分解菌と乳酸利用菌が増え、デンプン分解菌として *Bacteroides*, *Selenomonas*, *Streptococcus*, *Butyrivibrio*, *Lactobacillus*, *Eubacterium* が培養により検出されたと報告している。Tajima ら [21] は粗飼料主体 (対照区) から濃厚飼料主体の飼料に切り替えた場合、*Prevotella ruminicola*, *Prevotella bryantii*, *S. bovis*, *Anaerovibrio lipolytica*, *Selenomonas ruminantium*-*Mitsuokella multiacida*, *Succinivibrio dextrinosolvens* が 3 日目に増加するが、28 日目にはこれらの細菌の密度は 3 日目よりも減少して、*Prevotella bryantii* が 10 倍程度、*S. ruminantium*-*M. multiacida* が 2 倍程度増えている以外は、対照区の値と近似もしくは減少していたと報告している。乳酸産生菌については、*Lactobacillus* が 16S リボゾーム RNA 遺伝子 (16S rDNA) 解析で 3 日目に検出されたが、対照区及び 28 日目の飼料からは検出されなかったと述べている [22]. 粗飼料主体から濃厚飼料主体の飼料へ段階的に変えた場合には *S. ruminantium*, *P. bryantii*, *M. elsdenii* は増加するが、*S. bovis* は変化しないことが示されている [23]. これらのことから、濃厚飼料多給へ急速に切り替わった場合には ARA で観察される *S. bovis* や *Lactobacillus* は増加するが、穏やかな飼料の切り替えではこれらの細菌の増殖は顕著ではないと推定される。さらに、穀物主体の飼料で誘導された SARA をルーメン pH, ルーメン内 LPS 濃度, 血清ハプトグロブリン濃度によって重度と中程度の SARA に分けて調べたところ、重度の SARA では

S. bovis が、中程度のSARAでは *Megasphaera elsdenii* や *S. ruminantium* が優勢菌種であったと報告されている [24]。このことは、同じ飼料を給与した場合でも個体によりルーメン発酵のパターンは異なり、中程度のSARAとなる個体では *S. bovis* が増加せず、*M. elsdenii* や *S. ruminantium* が優勢となる傾向が強いことを示している。また、濃厚飼料多給に素早く対応する *S. bovis* はARAの状態へ導く上で重要な役割を果たしていると考えられている [5]。

以上のことから、乳酸産生菌の種類とルーメン内密度はSARAの症状と関係があると推察される。加えて、乳酸を利用する *M. elsdenii* や乳酸産生菌であるとともに乳酸利用菌でもある *S. ruminantium* もSARAと関連しているとみられることから、ルーメン内での乳酸消費について次項で解説する。

4 ルーメン内での乳酸消費

(1) 乳酸利用菌による乳酸消費

ルーメン内で産生された乳酸は乳酸を基質として利用する細菌（乳酸利用菌）によりVFAに変換される（図1, 3）。一部の乳酸は硫酸還元菌により消費される [15, 25]。

M. elsdenii は乳酸ラセマーゼ (lactate racemase) を持つことから、D-, L-乳酸の両方から酢酸、プロピオン酸、酪酸、n-吉草酸、n-カブロン酸を産生することができる（図3） [18]。 *M. elsdenii* は乳酸からアクリルCoAを経てプロピオン酸を産生する経路（図1）を持つ細菌である [26]。本菌はルーメン内の主要な乳酸利用菌であり、ルーメン内で生成した乳酸の60～80%を消費すると推定されている [27]。さらに、SARAを防止するために本菌をルーメンに投与する研究も報告されている [28]。

S. ruminantium ssp. *lactilytica* も *M. elsdenii* と同様にD-, L-乳酸の両方を利用できる乳酸利用菌であるが、本菌の場合には乳酸からピルビン酸へ変換された後、酢酸やプロピオン酸が合成される（図1） [18]。 *S. ruminantium* は濃厚飼料多給の場合に総菌数の22～51%も占めることがあり [12]、SARAでも増加することが確認されている [20]。しかし、この増加が *S. ruminantium* ssp. *ruminantium*（乳酸産生）によるものか、 *S. ruminantium* ssp. *lactilytica*（乳酸消費）によるものか、あるいは両亜種によるものかは不明である。最近、セルロース分解菌である *Fibrobacter succinognes* とヒツジのルーメンから分離された *S. ruminantium* が協調関係にあり、繊維分解とプロピオン酸産生を促進することが明らかになり [29]、 *S. ruminantium* はルーメン内の炭水化物分解（おそらく低分子炭水化物）に広く関与していると考えられる。 *Veillonella*

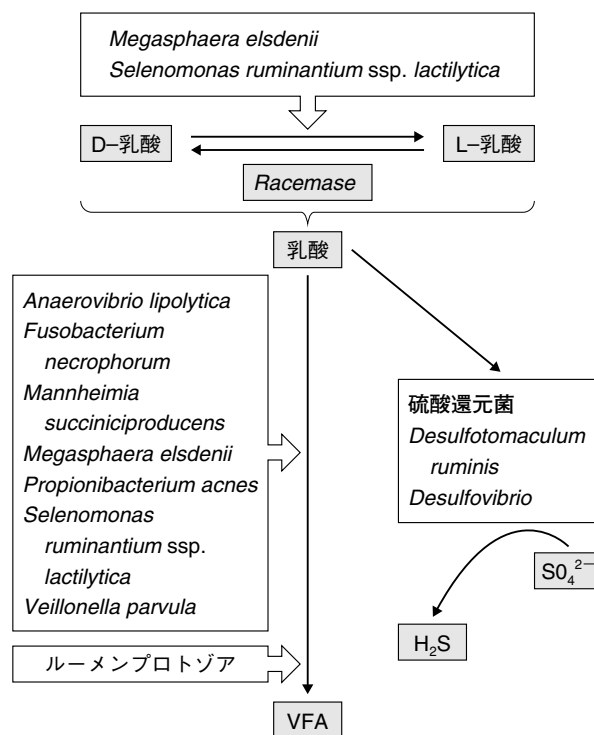


図3 乳酸を消費する代謝経路と関連する細菌

parvula と *Anaerovibrio lipolytica* も乳酸利用細菌であることが知られているが、これらは上述の2菌種 (*M. elsdenii*, *S. ruminantium*) とともに *Selenomonadales* 目に属し、これらの乳酸利用菌のペプチドグリカン層はペプチドグリカン結合型ポリアミンを含む [30]。

Mannheimia succiniciproducens はウシルーメンから分離された乳酸利用菌であり [31, 32]、コハク酸：酢酸：ギ酸を2：1：1のモル比で産生する [31]。本菌はフマル酸還元酵素 (fumarate reductase : FRD) によってフマル酸からコハク酸を産生するが（図1）、FRDの遺伝子 *frdA* をルーメン内容物からPCR法で増幅してSOM解析 [33] を行ったところ、本菌の *frdA* と推定される遺伝子断片の比率が高かったことから（未発表データ）、本菌はルーメン内でのコハク酸産生に大きく貢献しているとみられる。なお、本菌は工業的コハク酸産生への活用が図られている [34]。

(2) 硫酸還元菌による乳酸消費

植物飼料にはかなりの量の硫酸塩又は硫酸イオンが含まれ、硫黄 (S) 源としてルーメン微生物に利用される [18]。一方、ルーメン内の硫酸還元菌は硫酸を硫化水素 (H_2S) に還元することでエネルギーを得ているが、この際に水素又は乳酸を電子供与体として利用する [35]。硫酸還元菌が産生する硫化水素は大脳皮質壊死症 (cerebrocortical necrosis : CCN) 又は灰白質軟化症 (polioencephalomalacia : PEM)（以下、引用文献での表記で記載）との関連性が指摘されていることから、硫酸還元菌のルーメン内での働きは重要であるとみられ

る。

ルーメンからは *Desulfovibrio* と *Desulfotomaculum ruminis* が硫酸還元菌として検出されている [35, 36]。 *Desulfovibrio* のルーメン内密度は牛（フィードロット）で全細菌数に対する比率で0.75%である [37]。培養法では牛、ヒツジのルーメンで $10^6 \sim 10^7$ cells/ml 程度であり、メタン生成菌とはほぼ同程度からやや低い密度である [38]。メタン生成菌はメタン生成のために水素を取り込むが、水素に対する親和性は硫酸還元菌よりも高く [15]、硫酸還元菌は水素の競合ではメタン生成菌には勝てない。しかし、メタン生成菌が利用しない乳酸を利用できるため、ルーメン内密度をメタン生成菌と同程度に維持できていると推察される。

CCN 又は PEM はチアミン（ビタミン B₁）欠乏に起因する、又は種々の原因による大脳皮質の病的変化に起因する神経症状を表す用語である [39]。ルーメン細菌のいくつかの菌種はチアミンを合成することができるが [40]、アシドーシスの際にルーメン微生物叢が変化し、チアミンの合成量の低下又はチアミン分解酵素（チアミナーゼ）活性の上昇、又はその両方によってチアミン濃度が低下し、チアミン欠乏症が起こるとみられる [40, 41]。チアミン欠乏以外の CCN の原因としては、硫酸還元菌が産生する硫化水素、鉛中毒あるいは食塩中毒があげられている [39]。硫化水素はミトコンドリア内のチトクロムオキシダーゼの阻害により呼吸鎖の働きを低下させることにより酸化的代謝を損なわせ、酸素要求量が最も高い神経及び心臓の組織に障害を与える [42]。飼料及び飲水から高いレベルで硫黄が摂取されるとルーメン内で硫化水素が過剰に生成され、ルーメン上部のガス層に硫化水素が蓄積し、それが体内へ吸収され、その結果として CCN が発症すると推定されている [39, 43]。日本、米国とも硫黄の中毒発生限界は乾物当たり 0.4% に設定されている（日本飼料標準, NRC）。濃厚飼料主体の飼料に硫酸塩を添加してルーメン内の変化を調べたところ、硫酸還元菌の密度は変わらなかったが、新鮮ルーメン液の硫酸水素生成活性は高硫黄飼料給与後 10～12 日間に高くなり、PEM の兆候が出た時期と一致していたとの報告がある [44]。また、ルーメン内硫化物濃度は PEM を発症した個体では高くなるが、血中チアミン濃度は変化がないとの報告もある [45]。チアミン欠乏による PEM（Thiaminase-induced PEM）と硫黄による PEM（S-induced PEM）との関連性は低いと推定されているが [46]、今後詳しく調べていく必要がある。硫黄による PEM の場合、おそらく飼料や飲水の変更（濃厚飼料主体、硫黄含量の高い飼料・飲水等）によりルーメン内環境が硫酸還元に必要な条件（乳酸濃度の上昇や硫酸イオンの供給等）となり、硫酸還元菌の硫酸還元活性が著しく高まり、ルーメン内硫化水素の蓄積が急

速に進行すると推察される。

前述したように硫化水素は細胞のミトコンドリア機能を障害するので、硫化水素に暴露された細胞（粘膜など）がダメージを受ける。硫黄を多量に給与した場合に発生した中毒事例（死亡率約 12%、ルーメンアシドーシスが起きていたかは不明）では、牛舎内の臭いから硫化水素の発生が示唆され、高硫黄飼料給与後 3～10 日の間に牛が死亡し、死亡牛のルーメン壁はルーメン上部のガス層に面する部分と下部の一部に浮腫と出血が、肺胞にはうっ血と浮腫が観察された [47]。また、長期間生存した個体でも進行性の腎尿管細管壊死がみられたと報告されている [47]。

(3) プロトゾアによる乳酸消費

ルーメンに生息する原虫（ルーメンプロトゾア）はデンプンやセルロース等を分解する。デンプンを基質とした場合、ルーメンプロトゾアの大半を占める繊毛虫（Ciliate）の発酵最終産物はおもに酢酸、酪酸、二酸化炭素であり、少量のギ酸とプロピオン酸も産生される [48]。

吉田ら [49] は *in vitro* 実験において、ヒツジのルーメン液から調製したルーメン細菌画分のみでは試験管内に乳酸が蓄積するのに対して、ルーメン細菌画分とルーメンプロトゾア画分が混在する試験管では乳酸が蓄積しないことから、ルーメンプロトゾアが乳酸を利用することをはじめて明らかにした。ルーメン内で乳酸から変換される VFA の約 30% はルーメンプロトゾアの発酵作用により生じると推定されている [50]。Nagaraja ら [51] は繊毛虫が存在するルーメン（CP-ルーメン）と繊毛虫が不在のルーメンとを比較し、穀物主体の飼料を与えたときに CP-ルーメンの方が大幅な pH の低下が観察されず、かつその変動は穏やかであり、酢酸：プロピオン酸比（AP 比）が大きい値を示すと報告している。

5 おわりに

ルーメン内の乳酸蓄積は、乳酸生成量が乳酸の消費量とルーメン壁からの吸収量の合計を超えたときにみられる現象であり、結果としてルーメン pH の低下を招き、急性あるいは亜急性（潜在性）のルーメンアシドーシスを起こす。ルーメン pH の低下は第一胃炎の原因となり、細菌やエンドトキシンなどのルーメン粘膜内侵入を容易にし、肝膿瘍などのルーメンアシドーシスに関連した疾病を引き起こすとされる。ルーメンアシドーシスの発生機序、病態、診断については Enemark ら [52] が詳しく解説しているので、そちらを参考にさせていただきたい。

濃厚飼料はルーメン内での乳酸生成を増大させると同時に VFA 産生量も増加させ、反すう家畜の生産性を維持している。乳酸生成の増大に比例して乳酸から産生す

るVFAも増大し、濃厚飼料多給の場合には総VFAに占める乳酸から産生したVFAの割合は8%（粗飼料多給の場合は2.5%）になるとの報告もあり [53]、生産現場ではルーメン内に乳酸を貯留させることなくVFA産生へ向かわせることが重要である。この乳酸からVFA産生への流れが滞るとARA又はSARAが発症すると考えられる。SARAは顕著な臨床症状を示さない場合もあるが、そのような個体においてもすでに乳酸が軽度貯留し、生産性が落ちていとみるべきだろう。

本稿では詳しく述べなかったが、ルーメン壁からの乳酸吸収もSARAの病態を考える上で必要である。また、ルーメン上皮に生息する細菌叢はルーメン内のルーメン細菌叢とはその種類が異なることが明らかになるとともに [54]、ルーメン上皮の細菌叢も飼料の違いにより変化することがわかってきている [55]。今後、ルーメン上皮の細菌叢が実際にどのような役割を担っているのか、その機能解析が待たれる。

ルーメン細菌で培養できるものはルーメン細菌全体の1~2割程度と見積もられており、未培養の細菌についてはその機能を推定することは困難である。近年、分子生物学的手法によるルーメン細菌の解析も進行しており、メタゲノム解析等による網羅的なルーメン細菌叢の解析も試みられている。これまで未知であった多数のルーメン細菌の詳細な性状についても解明が進むことが期待され、ルーメン発酵についての知見の蓄積と生産現場への活用が望まれている。

引用文献

- [1] Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J, Noordhuizen JP : Subacute ruminal acidosis (SARA) : A review, *J Vet Med A*, 50, 406-414 (2003)
- [2] Plaizier JC, Krause DO, Gozho GN, McBride BW : Subacute ruminal acidosis in dairy cows : The physiological causes, incidence and consequences, *Vet J*, 176, 21-31 (2008)
- [3] 小原嘉昭 : 急性ならびに潜在性ルーメンアシドーシスの諸課題, *家畜診療*, 55, 309-314 (2008)
- [4] Gozho GN, Plaizier JC, Krause DO, Kennedy AD, Wittenberg KM : Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response, *J Dairy Sci*, 88, 1399-1403 (2005)
- [5] Nagaraja TG, Titgemeyer EC : Ruminal acidosis in beef cattle : the current microbiological and nutritional outlook, *J Dairy Sci*, 90, Suppl 1 : E17-38 (2007)
- [6] Krause KM, Oetzel GR : Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds, *Anim Feed Sci Technol*, 126, 215-236 (2006)
- [7] Aschenbach JR, Penner GB, Stumpff F, Gäbel G : Ruminant Nutrition Symposium : Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH, *J Anim Sci*, 89, 1092-1107 (2011)
- [8] Cotta MA : Amylolytic activity of selected species of ruminal bacteria, *Appl Environ Microbiol*, 54, 772-776 (1988)
- [9] Moon CD, Pacheco DM, Kelly WJ, Leahy SC, Li D, Kopečný J, Attwood GT : Reclassification of *Clostridium proteoclasticum* as *Butyrivibrio proteoclasticus* comb. nov., a butyrate-producing ruminal bacterium, *Int J Syst Evol Microbiol*, 58, 2041-2045 (2008)
- [10] Kelly WJ, Leahy SC, Altermann E, Yeoman CJ, Dunne JC, Kong Z, Pacheco DM, Li D, Noel SJ, Moon CD, Cookson AL, Attwood GT : The glyco-biome of the rumen bacterium *Butyrivibrio proteoclasticus* B316 (T) highlights adaptation to a polysaccharide-rich environment *PLoS One* 5, e11942 (2010)
- [11] Kotarski SF, Waniska RD, Thurn KK : Starch hydrolysis by the ruminal microflora, *J Nutr* 122, 178-190 (1992)
- [12] 三森眞琴, 湊 一 : ルーメン細菌の種類, 新ルーメンの世界, 板橋久雄編, 43-86, 農山漁村文化協会, 東京 (2004)
- [13] Cai S, Dong X : *Cellulosilyticum ruminicola* gen. nov., sp. nov., isolated from the rumen of yak, and reclassification of *Clostridium lentocellum* as *Cellulosilyticum lentocellum* comb nov, *Int J Syst Evol Microbiol*, 60, 845-849 (2010)
- [14] Cai S, Li J, Hu FZ, Zhang K, Luo Y, Janto B, Boissy R, Ehrlich G, Dong X : *Cellulosilyticum ruminicola*, a newly described rumen bacterium that possesses redundant fibrolytic-protein-encoding genes and degrades lignocellulose with multiple carbohydrate-borne fibrolytic enzymes. *Appl Environ Microbiol*, 76, 3818-3824 (2010)
- [15] Coleman GS : A sulphate-reducing bacterium from the sheep rumen, *J Gen Microbiol*, 22, 423-436 (1960)
- [16] Struchtemeyer CG, Davis JP, Elshahed MS : Influence of the drilling mud formulation process on the bacterial communities in thermogenic natural gas wells of the Barnett Shale, *Appl Environ Microbiol*, 77, 4744-4753 (2011)
- [17] Santana M, Crasnier-Mednansky M : The adaptive genome of *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough, *FEMS Microbiol Lett*, 260, 127-133 (2006)
- [18] 浅沼成人, 日野常男 : ルーメン微生物の発酵とエネルギー代謝の調節, 新ルーメンの世界, 板橋久雄編, 454-532, 農山漁村文化協会, 東京 (2004)
- [19] Cobos MA, Ley de Coss A, Ramirez ND, Gonzalez SS, Ferrera Cerrato R : *Pediococcus acidilactici* isolated from the rumen of lambs with rumen acidosis, 16S rRNA identification and sensibility to monensin and lasalocid, *Res Vet Sci*, 90, 26-30 (2011)
- [20] Mackie RI, Gilchrist FM : Changes in Lactate-Producing and Lactate-Utilizing Bacteria in Relation to pH in the Rumen of Sheep During Stepwise Adaptation to a High-Concentrate Diet, *Appl Environ Microbiol*, 38, 422-430 (1979)
- [21] Tajima K, Aminov RI, Nagamine T, Matsui H, Naka-

- mura M, Benno Y : Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR, *Appl Environ Microbiol*, 67, 2766-2774 (2001)
- [22] Tajima K, Arai S, Ogata K, Nagamine T, Matsui H, Nakamura M, Aminov RI, Benno Y : Rumen bacterial community transition during adaptation to high-grain diet, *Anaerobe*, 6, 273-284 (2000)
- [23] Fernando SC, Purvis HT II, Najjar FZ, Sukharnikov LO, Krehbiel CR, Nagaraja TG, Roe BA, Desilva U : Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet. *Appl Environ Microbiol*, 76, 7482-7490 (2010)
- [24] Khafipour E, Li S, Plaizier JC, Krause DO : Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis. *Appl Environ Microbiol*, 75, 7115-7124 (2009)
- [25] Huisingh J, McNeill JJ, Matrone G : Sulfate reduction by a *Desulfovibrio* species isolated from sheep rumen, *Appl Microbiol*, 28, 489-497 (1974)
- [26] 宮崎孔志 : デンプンの分解, 新ルーメンの世界, 板橋久雄編, 324-341, 農山漁村文化協会, 東京 (2004)
- [27] Counotte GH, Prins RA, Janssen RH, Debie MJ : Role of *Megasphaera elsdenii* in the Fermentation of dl-[2-C] lactate in the Rumen of Dairy Cattle, *Appl Environ Microbiol*, 42, 649-655 (1981)
- [28] Henninga PH, Horna CH, Leeuwa K-J, Meissner HH, Hagg FM : Effect of ruminal administration of the lactate-utilizing strain *Megasphaera elsdenii* (Me) NCIMB 41125 on abrupt or gradual transition from forage to concentrate diets, *Anim Feed Sci Technol*, 157, 20-29 (2010)
- [29] Sawanon S, Koike S, Kobayashi Y : Evidence for the possible involvement of *Selenomonas ruminantium* in rumen fiber digestion, *FEMS Microbiol Lett*, 325, 170-179 (2011)
- [30] 高橋由美子, 神尾好是 : ポリアミンとルーメン微生物の膜構造, 新ルーメンの世界, 板橋久雄編, 299-316, 農山漁村文化協会, 東京 (2004)
- [31] Lee PC, Lee SY, Hong SH, Chang HN : Isolation and characterization of a new succinic acid-producing bacterium, *Mannheimia succiniciproducens* MBEL55E, from bovine rumen, *Appl Microbiol Biotechnol*, 58, 663-668 (2002)
- [32] Hattori K, Matsui H : Diversity of fumarate reducing bacteria in the bovine rumen revealed by culture dependent and independent approaches, *Anaerobe*, 14, 87-93 (2008)
- [33] Mitsumori M, Nakagawa S, Matsui H, Shinkai T, Takenaka A : Phylogenetic diversity of gene sequences isolated from the rumen as analysed using a self-organizing map (SOM), *J Appl Microbiol*, 109, 763-770 (2010)
- [34] Oh IJ, Kim DH, Oh EK, Lee SY, Lee J : Optimization and scale-up of succinic acid production by *Mannheimia succiniciproducens* LPK7, *J Microbiol Biotechnol*, 19, 167-171 (2009)
- [35] Howard BH, Hungate RE : *Desulfovibrio* of the sheep rumen, *Appl Environ Microbiol*, 32, 598-602 (1976)
- [36] Campbell LL, Postgate JR : Revision of the holotype strain of *Desulfotomaculum ruminis* (Coleman) Campbell and Postgate, *Int J Syst Bacteriol*, 19, 139-140 (1969)
- [37] Callaway TR, Dowd SE, Edrington TS, Anderson RC, Krueger N, Bauer N, Kononoff PJ, Nisbet DJ : Evaluation of bacterial diversity in the rumen and feces of cattle fed different levels of dried distillers grains plus solubles using bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing, *J Anim Sci*, 88, 3977-3983 (2010)
- [38] Morvan B, Bonnemoy F, Fonty G, Gouet P : Quantitative determination of H₂-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea from digestive tract of different mammals, *Curr Microbiol*, 32, 129-133 (1996)
- [39] Galyean ML, Rivera JD : Nutritionally related disorders affecting feedlot cattle, *Can J Anim Sci*, 83, 13-20 (2003)
- [40] 松井 徹, 矢野秀雄 : ミネラルおよびビタミンの代謝, 新ルーメンの世界, 板橋久雄編, 299-316, 農山漁村文化協会, 東京 (2004)
- [41] 一条 茂 : ビタミン欠乏症, 牛病学第2版, 清水高正他編, 578-581, 近代出版, 東京 (1988)
- [42] Cooper CE, Brown GC : The inhibition of mitochondrial cytochrome oxidase by the gases carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen cyanide and hydrogen sulfide : chemical mechanism and physiological significance, *J Bioenerg Biomembr*, 40, 533-539 (2008)
- [43] Gould DH, Cummings BA, Hamar DW : *In vivo* indicators of pathologic ruminal sulfide production in steers with diet-induced polioencephalomalacia, *J Vet Diagn Invest*, 9, 72-76 (1997)
- [44] Cummings BA, Gould DH, Caldwell DR, Hamar DW : Ruminal microbial alterations associated with sulfide generation in steers with dietary sulfate-induced polioencephalomalacia, *Am J Vet Res*, 56, 1390-1395 (1995)
- [45] Gould DH, McAllister MM, Savage JC, Hamar DW : High sulfide concentrations in rumen fluid associated with nutritionally induced polioencephalomalacia in calves, *Am J Vet Res*, 52, 1164-1169 (1991)
- [46] Gould DH : Polioencephalomalacia, *J Anim Sci*, 76, 309-314 (1998)
- [47] Gunn MF, Baird JD, Wilkie JS : Accidental sulfur poisoning in a group of holstein heifers, *Can Vet J*, 28, 188-192 (1987)
- [48] 牛田一成 : ルーメンプロトゾアの種類と生態, 新ルーメンの世界, 板橋久雄編, 29-43, 農山漁村文化協会, 東京 (2004)
- [49] 吉田條二, 中村 豊, 中村亮八郎 : ルーメン微生物叢の硝酸代謝におよぼす原虫区分及び乳酸塩の影響, *日畜会報*, 53, 677-685 (1982)
- [50] Newbold CJ, Williams AG, Chamberlain DG : The *in vitro* metabolism of D, L-lactic acid by rumen microorganisms, *J Sci Food Agric*, 38, 9-18 (1987)

- [51] Nagaraja TG, Towne G, Beharka AA : Moderation of ruminal fermentation by ciliated protozoa in cattle fed a high-grain diet, *Appl Environ Microbiol*, 58, 2410-2414 (1992)
- [52] Enemark JM : The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA) : a review, *Vet J*, 176, 32-43 (2008)
- [53] Mackie RI, Gilchrist FMC, Heath S : An *in vivo* study of ruminal micro-organisms influencing lactate turnover and its contribution to volatile fatty acid production, *J Agric Sci*, 103, 37-51 (1984)
- [54] Mitsumori M, Ajisaka N, Tajima K, Kajikawa H, Kurihara M : Detection of Proteobacteria from the rumen by PCR using methanotroph-specific primers, *Lett Appl Microbiol*, 35, 251-255 (2002)
- [55] Chen Y, Penner GB, Li M, Oba M, Guan le L : Changes in bacterial diversity associated with epithelial tissue in the beef cow rumen during the transition to a high-grain diet, *Appl Environ Microbiol*, 77, 5770-5781 (2011)