

平成21年 5月30日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19580317
 研究課題名 (和文) リグノセルロースのセロオリゴ糖等による消化促進とメタン抑制の機構解明とその利用法
 研究課題名 (英文) Increase of ruminal lingo-cellulose digestion and reduction of methane by cello-oligosaccharides
 研究代表者
 板橋 久雄 (ITBASHI HISAO)
 日本獣医生命科学大学・応用生命科学部・客員教授
 研究者番号：00280991

研究成果の概要：セロビオースを牛の飼料の2%添加した結果、乾物、繊維、粗タンパク質の消化率は約10%高まった。また、ルーメン液の揮発性脂肪酸 (VFA) 濃度は高まり、VFAの中で酢酸の比率が高まり、プロピオン酸の比率は低下した。さらに、セロビオース添加により、細胞壁炭水化物組成やリグニンの変化は顕著ではなかったため、消化率の向上はルーメン微生物による植物組織の非選択的な分解に基づくものと考えられた。次に、牛の飼料にフマル酸を2%添加し、ルーメンからのメタン生成などに及ぼす影響を検討した結果、添加により、ルーメン液のアンモニア-N濃度は低下し、プロトゾア数も減少した。VFAの中でプロピオン酸の比率は増加し、メタン生成量は10～20%低下した。飼料の消化に及ぼすフマル酸の影響は認められなかった。また、乳牛を用いてセロオリゴ糖の飼料添加 (2%) が牛乳生産に及ぼす影響を検討した。添加によりメタン生成は変化しなかった。乳量、乳成分にもセロオリゴ糖添加の影響は認められなかった。セロビオースは飼料の消化には促進効果があるが、メタン生成と牛乳生産には顕著な影響を及ぼさないと考察された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学、畜産学・草地学

キーワード：セルロース、セロオリゴ糖、ルーメン、メタン、消化率、プロトゾア、飼料イネ

1. 研究開始当初の背景

(1) リグノセルロースの飼料利用については近未来の食料危機の解決のために大きな期待が寄せられている。リグノセルロースを有効に利用できるのは反芻動物であるが、これまでの多くの研究にも拘わらずその消化率は60%前後である。我が国では飼料の自給率が低下しているが、健全な畜産の発展のために粗飼料の確保と利用性の向上は重要な課題となっている。

(2) リグノセルロースは主に反芻家畜のルーメン（第一胃）で消化されるが、これには各種の微生物が関与している。ルーメン細菌の多くは増殖にセロオリゴ糖（セロビオース）を要求するが、我々は先に飼料にセロオリゴ糖を微量添加することにより、リグノセルロースの消化が促進される可能性を培養実験で明らかにした。また、温室効果ガスの一つであるメタンの抑制作用があることを示した。

2. 研究の目的

このようなリグノセルロースの消化促進がどのような機構で進むかについては不明な点が多い。リグノセルロースはリグニン、各種の構成糖類、フェルラ酸などから構成されているが、各種の添加物による微生物群と構成糖の利用性の変化を明らかにすることはその利用促進をはかる上できわめて重要である。本研究はこれらの機構について、化学的および分子生物学的手法により詳細に解明し、その利用技術を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) リグノセルロースの消化では、主にセロオリゴ糖の添加効果を検討した。In vitro培養実験と牛を用いてのin vivo実験により、繊維区分の消化を構成糖類のレベルで検討した。これらの消化機構の解明で

は、数種の酵素剤を用いても検討した。また、牛を用いての実験では、消化試験を行いこれらの至適添加濃度についても検討した。

(2) メタンの抑制では、すでに一定の抑制効果を認めたフマル酸などを用いて、その抑制の機構をin vitro実験とin vivo実験により解析した。

4. 研究成果

(1) トールフェスク乾草+濃厚飼料、または飼料イネサイレージ+濃厚飼料を給与した育成牛にセロビオースを飼料の2%添加し、飼料成分の消化率を測定した。いずれの飼料給与でも、乾物、繊維（NDF、ADF）、CPの消化率は約10%高まった。また、セロビオース添加により、ルーメン液の揮発性脂肪酸（VFA）濃度は高まり、VFAの中で酢酸の比率が高まり、プロピオン酸の比率は低下した。アンモニア濃度は低下したが、プロトゾア数は変化しなかった。

さらに、飼料へのセロビオース添加が繊維の消化に及ぼす効果について、細胞壁組成の変化から検討した。セロビオース添加により、細胞壁炭水化物組成やリグニンの変化は顕著ではなかったが、乾物消化率の向上は添加により活性化されたルーメン微生物による植物組織の非選択的な分解に基づくものであり、特定の組織の選択的な分解が促進されたことによるものではないと考察した。

(2) サイレージ単独、またはサイレージ+濃厚飼料（8：2）を給与した育成牛にフマル酸を飼料の2%添加し、ルーメンからのメタン生成などに及ぼす影響を検討した。フマル酸の添加により、ルーメン液のアンモニア-N濃度は低下し、プロトゾア数も減少した。揮発性脂肪酸の中で酢酸の割合は低下傾向を示したが、プロピオン

酸の比率は増加した。メタン生成量はいずれの飼料給与の場合にも10～20%低下した。飼料の消化に及ぼすフマル酸の影響は認められなかった。

(3) また、乳牛を用いてセロオリゴ糖の飼料添加(2%)がルーメン発酵と牛乳生産に及ぼす影響を検討した。添加により、ルーメン液のアンモニア-N濃度はやや低下し、揮発性脂肪酸の中で酢酸の割合は低下し、プロピオン酸の割合は増加する傾向が認められた。プロトゾア数とメタン生成はほとんど変化しなかった。乳量、乳成分(乳脂率、乳タンパク質率、乳糖率、無脂固形分率)にもセロオリゴ糖添加の影響は認められなかった。これまでの実験結果より、セロビオースは育成牛の飼料の消化と発育には促進効果があるが、メタン生成と牛乳生産には顕著な影響を及ぼさないと考察された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10件)

- ① Ozutsumi, Y., M. Sakamoto, H. Itabashi and Y. Benno Effect of ruminal protozoa on fecal microbiota in cattle using terminal restriction fragment length polymorphism. *Animal Science Journal*, 79, 29-34. 2008. 査読有
- ② Sultana, H., T. Ishida, T. Shintaku, S. Kanda, and H. Itabashi. Effect of feeding Ca-salts of fatty acids from soybean oil and linseed oil on CLA production in ruminal fluid and in milk of Holstein cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 21, 1262-1270. 2008. 査読有

- ③ Zhang, Y., K. Miyazawa, S. Kanda, Y. Kurokawa and H. Itabashi, Effect of rice whole crop silage on the rumen fermentation blood metabolism and milk production of dairy cows. *Japanese Journal of Animal Hygiene*, 34, 51-59. 2008. 査読有
- ④ Asano, S., S. Ikeda, N. Kasuya, Y. Kurokawa, S. Kanda and H. Itabashi, Comparative digestion of cell wall components of alfalfa hay cubes between Sika deer (*Cervus nippon*) and cattle. *Animal Science Journal*, 79, 35-40. 2008. 査読有
- ⑤ Kasuya, N., Qin Xu, Y. Kobayashi, K. Fukuda, O. Enishi, K. Iiyama and H. Itabashi. Cell wall degradation of tropical and temperate forage grasses measured by nylon bag and in vitro digestion techniques. *Animal Science Journal*, 79, 200-209. 2008. 査読有
- ⑥ Tatsuoka, N., N. Mohammed, M. Mitsumori, K. Tajima, K. Hara, M. Kurihara and H. Itabashi. Analysis of methanogens in the bovine rumen by polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism. *Animal Science Journal*, 78, 512-518. 2007. 査読有
- ⑦ Gazi, M. R., M. Yokota, Y. Tanaka, S. Kanda and H. Itabashi. Effects of protozoa on the antioxidant activity in the ruminal fluid and blood plasma of cattle. *Animal Science Journal*, 78, 34-40. 2007. 査読有
- ⑧ Asano, S., S. Ikeda, Y. Kurokawa, S. Kanda and H. Itabashi. Seasonal changes in digestibility, passage rate and rumen fermentation of alfalfa hay in Sika

deer (*Cervus nippon*) under restricted feeding. Animal Science. Journal , 78,28-33. 2007. 査読有

⑨ Kasuya, N., M. Shimada, H. Kawai, H. Itabashi. Effect of presence of ruminal protozoa on degradation of cell wall constituents in gastrointestinal tract of cattle. Animal Science Journal, 78,275-280. 2007. 査読有

⑩ Miyazawa, K., S. Kanda and H. Itabashi. Effect of brewer's grain on rumen fermentation, milk production and milk composition in lactating dairy cows. Animal Science Journal, 78, 519- 526. 2007. 査読有

[学会発表] (計 3件)

① Jin-suk Jeong・Ju-hwan Lee・H. Itabashi, N. Kimura and H. Tazaki. Degradation of thymol-glucoside and its effects on rumen fermentation in vitro. 日本畜産学会第 110 回大会、3/29/2009, 日本大学生物資源科学部、藤沢市.

② 張延利・神田修平・石田武・黒川勇三・鎌田寿彦・板橋久雄. 中鎖脂肪酸カルシウム の飼料添加が乳生産およびルーメン発酵に及ぼす影響. 日本畜産学会第 110 回大会、3/29/2009, 日本大学生物資源科学部、藤沢市.

③ T. Takahashi, T. Motobayashi, S. Kanda and H. Itabashi. Effect of a novel whole crop rice breed 'Leaf star' on the rumen fermentation and milk production in cows, with a special reference to the cellobiose effects on them. 10/12/2007, Hangzhou, China

[図書] (計 1件)

① H. Itabashi and H. Matsui. Recent

advances in microbial ecology of protozoa and fungi in the rumen of herbivores. In 'Hervivore Nutrition for the Development of Efficient, Safe and Sustainable Livestock Production'. (Q. Meng et al. eds). China Agricultural University Press, Beijing, China, 2007.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

○取得状況 (計 0件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

板橋 久雄 (ITABASHI HISAO)
日本獣医生命科学大学・応用生命科学部・客員教授
研究者番号：00280991

(2) 連携研究者

木村 信熙 (KIMURA NOBUHIRO)
日本獣医生命科学大学・応用生命科学部・教授
研究者番号：00350174

撫 年浩 (NADE TOSHIHIRO)
日本獣医生命科学大学・応用生命科学部・講師
研究者番号：60434148