

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06358

研究課題名(和文) ルーメン内環境とルーメン消化機能の解析による在来植物資源の栄養学的機能の開拓

研究課題名(英文) Development of nutritional function of native plant resources by analysis of intra-ruminal environment and rumen digestion

研究代表者

小倉 振一郎 (Ogura, Shin-ichiro)

東北大学・農学研究科・教授

研究者番号：60315356

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：放牧家畜の採食植物種の多様性がルーメン内細菌群集とルーメン内消化機能に及ぼす影響を検討した。植物種が多様な山地放牧地におけるウシの採食植物種は、イネ科牧草地にくらべ初夏、秋ともに多様であった。ルーメン内細菌群集構造は両季節とも放牧地間で異なり、固相では初夏、秋ともに、液相では秋に、山地放牧地で多様度が高かった。またIn vitro消化試験の結果、樹葉の消化性は初夏に山地放牧地で高く、セルロース分解菌が多く検出された。また、培養後の細菌叢は放牧地間で異なっていた。放牧牛の採食植物種の多様性の違いに伴うルーメン細菌群集構造の違いはルーメン消化機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、植物群落における植物種の多様性、放牧反すう家畜の採食植物種の多様性、ルーメン内微生物叢の多様性との関係性が明らかとなり、さらにルーメン内消化機能の向上(樹葉の消化性向上)が示唆される結果を得た。日本は植物資源が豊富であるが、一方で中山間地域を中心に耕作放棄地や管理放棄地が増加しており、その再活用と産業の活性化が急務である。本成果は、これらの放棄地をウシ等の草食家畜の放牧によって省力的かつ低コストで利用することを推進するものであり、将来これらの放棄地の管理と農畜林業の活性化に貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The effects of plant species diversity of the diet of grazing animals on the bacterial community in the rumen and ruminal digestive function were examined. Plant species foraged by grazing cows in a mountainous grazing area with diverse plant species were more diverse in both early summer and fall than in a grass pasture. Bacterial community structure in the rumen differed between the pastures in both seasons, with higher diversity in the solid part in early summer and fall, and in the liquid part in fall, in the mountain pastures. In vitro digestion experiments showed that digestibility of tree leaves was higher in mountain pastures in early summer, and more cellulolytic bacteria were detected. In addition, the bacterial flora after incubation differed among pastures. These findings suggest that differences in rumen bacterial community structure associated with differences in diversity of the diet of grazing cows may influence rumen digestive function.

研究分野：草地学

キーワード：放牧牛 植物種多様性 採食植物 ルーメン 微生物群集構造 消化機能

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国では、耕作放棄地の急激な増加による里山生態系の劣化が深刻な問題となっている。その解決に向け、繁茂した植物を草食家畜の飼料資源として積極的に利用する「野草地放牧」や「耕作放棄地放牧」が試みられている。この生産方式は低コストかつ省力的であるが、その一方で野草や木本（樹葉）の多くは TDN や DCP 等の栄養価が牧草に比べ低いため（日本標準飼料成分表, 2009）、家畜生産性が低いとみなされることが多い。特に、耕作放棄地に繁茂する「雑草」や「雑木」は有用な畜産飼料とはみなされないことが多い。

近年、申請者らが在来野草や木本植物茎葉の飼料成分や放牧家畜の選択採食の実態解明を行ったところ、以下のことが明らかとなった。すなわち、(1)放牧地に生育する植物種数の増加に比例して放牧牛の摂食植物種数が増える、(2)広葉野草の中には牧草に匹敵する高い栄養価を持つ植物種がある、(3)野草や木本はイネ科牧草に比べ Ca, Mg, Mn, Co, Cu, Se 等を多く含む種がある、(4)植物種が豊富な放牧地では、家畜がこれらの元素を摂取する割合はイネ科牧草地よりも高く、ルーメン液中および血液中濃度も高い（例えば Ogura ら 2017 J Integ Field Sci 14）。これらの知見は、植物種が豊富な植生では、家畜が様々な植物種を摂食することによりミネラルを中心とした養分摂取バランスが向上する、という可能性を示唆する。

植物種の豊富さと生態系機能との関係については、今世紀に入り大きく研究が進んでいるものの、農業生態系、特に家畜生産の場である草地において、生物多様性が家畜生産性にどのような効果をもたらすかについては、これまでほとんど解明されていない。

2. 研究の目的

野草や木本（樹葉）の多くは牧草に比べ栄養価が低いことから、家畜生産性が低いとみなされることが多い。しかし申請者は近年「植物種数が多い植生では家畜が様々な植物種を摂食することにより、ミネラルを中心とした養分摂取バランスが向上する」可能性を示唆する知見を得た。本研究では、放牧地における植物種の豊富さが反芻家畜のルーメン内環境およびルーメン消化機能に及ぼす効果を解明するため、植物種数の異なる放牧地において、家畜による摂食植物種の同定とその割合、ならびにそれら摂食植物の含有成分と栄養価を評価する。また同時に、ルーメン内環境およびルーメン内飼料消化能力を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究は、申請者が所属する東北大学川渡フィールドセンター（宮城県大崎市鳴子温泉）内の放牧地で実施した。植物種構成の異なる 2 つの放牧地、すなわち山地放牧地（牧草＋野草＋林地、草地 3 ha＋林地 17 ha）および牧草放牧地（オーチャードグラス主体、5 ha）に肉用牛を 5 月から 10 月まで放牧した。2020-2021 年の 6 月（初夏）と 8 月末-10 月上旬（秋）に調査と採材を行った。

(1) 放牧地の植物多様性と家畜の養分摂取ルーメン環境・消化との関係解明

①放牧牛の摂食植物の調査

各季節の朝と夕方の摂食期に家畜を個体追跡し、摂食している植物種の割合および摂食部位を記録した。

②主要植物種の化学成分（一般成分、ミネラル）および栄養価の分析

上記 1) で得た摂食植物データに基づき、主要摂食植物種の摂食部位を採取し、化学成分と栄養価を分析する。分析項目は、一般成分（CP, NDF, ADF, 粗灰分, 粗脂肪等）、栄養価（TDN, DCP 等）およびミネラル（主要元素 [Ca, P, Mg, K] ならびに微量元素 [Na, Fe, Mn, Cu, Zn, S, Cl, Se, Co]）とした。分析は十勝農協連農産化学研究所に依頼した（NIRS 分析および原子吸光分析）。

③放牧牛のルーメン内容物の性状分析

6 月下旬と 9 月下旬に放牧家畜からルーメン内容物を経口カテーテルを用いて採取し、二重ガーゼでろ過後、pH、発酵産物（VFA）濃度を測定し、ルーメン細菌群集構造を解析した。その際、直腸糞も採取し、細菌群集構造の解析に供した。また、ルーメン内容物の一部を凍結保存し、ルーメン細菌群集構造を解析した。各サンプルから DNA を抽出し、MiSeq（Illumina 社）を用いて 16S rRNA V4 領域のアンプリコンシーケンスを行った後、Claident を用いて細菌叢解析を行った。

なお、ルーメン内細菌群集構造の年次変動について明らかにするため、2016 年に同放牧地の牛群から採取したルーメン内容物を用いた細菌群集構造のデータも用いた。さらに、放牧下での細菌群集構造を舎飼下と比較するため、放牧期間終了後 1 か月以上経過した 12-1 月に、放牧試験に供試した個体と同じ個体からルーメン内容物を採取し、細菌群集構造解析を行った。

(2) in vitro 消化試験によるルーメン消化能の解析

山地放牧地および牧草放牧地で放牧飼養されているウシからルーメン液を採取し、イノキュラムとした。上記1で得られた家畜の摂食植物種の結果をふまえ、消化試験に用いる植物種(材料植物種)として、主な摂食植物のうちイネ科牧草、マメ科牧草、イネ科野草、広葉野草、木本から1種ずつ選定選んだ。すなわち、イネ科牧草としてオーチャードグラス、マメ科牧草としてシロクローバ、広葉野草としてエゾノギシギシ、木本としてウリハダカエデの可食部を各季節に放牧地から採取し、乾燥、粉碎(1 mm 篩)して基質とした。さらに、乾燥粉碎された圧ペンとうモロコシ(市販)も基質に加え、5種類の基質を準備した。in vitro法(Tilly & Terry 1963)で48時間の消化実験を行い、乾物消化率(DMD)を24, 48時間後に測定した。「ルーメン液の違い(=放牧地植生の違い)」と「材料植物種」の効果および両者の交互作用を検証し、植物種多様性の高い放牧地で得られたルーメン液の植物茎葉の消化能を評価した。また、消化試験終了後には消化液を採取して凍結保存し、上記1と同じ方法で細菌群集構造を解析した。

4. 研究成果

(1) 放牧地の植物多様性と家畜の養分摂取ルーメン環境・消化との関係解明

イネ科牧草地ではレッドトップ、トールフェスク等の牧草およびメヒシバ、サギゴケ等を中心に11-18種を、山地放牧地ではハルガヤ、ミノボロスゲ、シバ、ツルアジサイ等56-83種を採食した。山地放牧地ではイネ科牧草地では確認されなかった木本やシダ類を採食していた。その結果、採食植物の多様度指数(H')は両季節とも山地放牧地がイネ科牧草地にくらべ高かった(p<0.05)。

ルーメン内および糞の細菌群集構造解析の結果、ルーメン内細菌群集構造は糞のそれとは大きく異なっていた(図1)。また、ルーメン内細菌群集構造はいずれも年によらず固相と液相で大きく異なっており(p<0.01)、また放牧地間で異なる傾向が認められた(p<0.10)(図2)。細菌群集の多様性をみると、固相では初夏、秋ともに、液相では秋に山地放牧地で高かった(いずれもp<0.05)。全供試牛に舎飼下でサイレージを給与した場合の細菌群集構造は放牧地とは異なっていた。

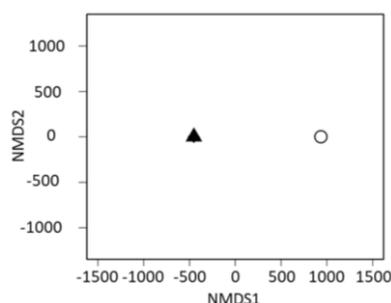


図1. 放牧牛のルーメン内細菌群集構造と糞中細菌群集構造との比較。
▲と+はルーメン内容物の固相と液相、○は糞を表す。p<0.01 (PerMANOVA)。

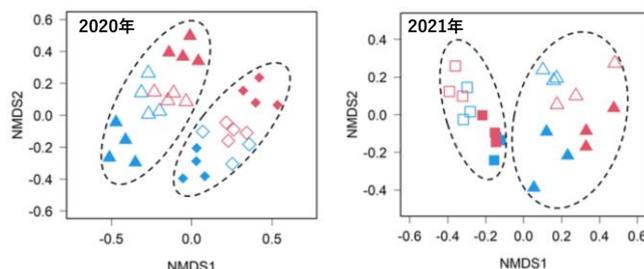


図2. 放牧牛のルーメン内細菌群集構造解析結果。
四角は固相、三角は液相を表す。また、白抜きは初夏、黒塗りは秋を表す。両年ともp<0.01 (PerMANOVA)。

(2) in vitro 消化試験によるルーメン消化能の解析

各飼料のDMDに及ぼす放牧牛群の影響は季節間で異なり、初夏には培養48時間のオーチャードグラスと培養48時間のウリハダカエデのDMDが山地放牧地で高く(p<0.05)、培養24時間のウリハダカエデのDMDはイネ科牧草地で高かった(p<0.05)。一方、秋には培養24時間のウリハダカエデ、シロクローバ、エゾノギシギシのDMDが山地放牧地で高く(p<0.05)、培養48時間のトウモロコシのDMDはイネ科牧草地で高かった(p<0.05)。

ルーメン内VFA濃度は放牧地間で異なり(表1-2)、特に初夏には山地放牧地のウシにおいて酢酸、酪酸、吉草酸および総VFA濃度がイネ科牧草地にくらべ有意に高かった(p<0.05)(表1)。

表1. in vitro消化実験に用いたルーメン液のVFA濃度(mmol/L)(初夏)。

	イネ科牧草地		山地放牧地	
	平均値(mmol/L)	標準偏差	平均値(mmol/L)	標準偏差
原液				
総VFA	61.8	6.1	78.5*	4.5
酢酸	44.2	5.0	54.3*	3.7
プロピオン酸	10.1	0.9	12.8	0.6
イソ酪酸	0.3	0.1	0.3	0.1
酪酸	6.5	0.5	10.1*	0.4
イソ吉草酸	0.7	0.1	0.6	0.1
吉草酸	0.0	0.0	0.3*	0.0
(酪酸+酪酸)/プロピオン酸	5.0	0.1	5.0	0.1

両放牧地ともn=3.

*は放牧地間で差が認められることを示す(t検定、p<0.05)。

表2. in vitro消化実験に用いたルーメン液のVFA濃度(mmol/L)(秋)。

	イネ科牧草地		山地放牧地	
	平均値(mmol/L)	標準偏差	平均値(mmol/L)	標準偏差
原液				
総VFA	66.2	12.8	62.6	4.5
酢酸	44.0	8.6	43.5	4.1
プロピオン酸	11.1	2.5	10.9	0.5
イソ酪酸	0.8	0.1	0.5	0.1
酪酸	8.7	1.5	6.7	0.2
イソ吉草酸	1.6*	0.2	1.0	0.2
吉草酸	0.0	0.0	0.0	0.0
(酪酸+酪酸)/プロピオン酸	4.8	0.1	4.6	0.2

両放牧地ともn=3.

*は放牧地間で差が認められることを示す(t検定、p<0.05)。

各基質の培養時における細菌叢をみると、初夏、秋ともに、培養0時間の細菌叢に対して8時間培養後の細菌叢は大きく異なっており、その変化はイネ科牧草地と山地放牧地のルーメン液で有意に異なっていた(p<0.05)(図3)。

各ルーメン内容物中に検出された細菌の特徴をみたところ、初夏にはオーチャードグラスやウリハダカエデにおいてセルロース分解菌が山地放牧地で多く確認された。一方、秋にはイネ科牧草地においてトウモロコシを除く全ての基質においてセルロース分解菌が多く検出された。しかし、検出された細菌の大部分は種レベルで同定することができず、ルーメン内の飼料消化における機能も明らかにすることはできなかった。また、山地放牧地とイネ科牧草地それぞれのウシルーメン内容物において、ルーメン内細菌群集構造およびルーメン機能の安定性について検討したが、明確な違いは認められなかった。

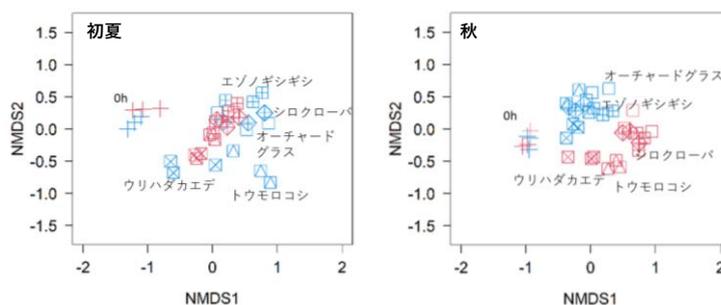


図3. in vitro消化試験における固相の細菌群集構造の基質間の比較。青はイネ科牧草地、赤は山地放牧地を表す。+は培養0時間、その他は培養48時間。両季節とも $p < 0.05$ (PerMANOVA)。

以上より、植物種が多様な放牧地では季節を通じて放牧牛の採食植物種の多様性が高く、それによりルーメン内細菌群集の多様性が高くなることが示された。さらに、放牧牛の採食植物種の多様性の違いに伴うルーメン細菌群集構造の違いはルーメン内消化機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。特に本研究により、ウシがイネ科牧草のみならず広葉草本や木本、シダ類等を採食する山地放牧地では、ルーメン内に多様な植物種を消化する細菌叢が存在するため、イネ科牧草地のルーメン内容物に比べ木本の消化性が高まっている可能性が示唆された。野草や木本の多くは牧草に比べ飼料価値が低いとみなされてきたが、本研究により、耕作放棄地放牧や林内放牧では、放牧家畜が十分に馴致されていれば野草や木本等をより効率的に消化し、養分を利用していると考えられる。このことは、在来植物の飼料価値はこれまで評価されているよりも高い可能性を示唆する。

一方、本研究ではルーメン内細菌群集構造を解析したが、多くの細菌では種レベルまで同定することができず、機能性も不明であった。また、山地放牧地とイネ科牧草地それぞれのウシルーメン内容物の細菌群集構造およびルーメン機能の安定性について、明確な違いは認められなかった。日本をはじめ東アジアの豊かな植生を草食家畜の飼料資源として活用していく上で、今後はルーメン内細菌群集構造の多様性がルーメン内環境の安定性とルーメン機能について、さらに解明を進める必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 後藤佑理子・柿原秀俊・宍戸哲郎・福田康弘・瀧澤修平・陶山佳久・松尾 歩・中野美和・小倉振一郎
2. 発表標題 放牧牛の採食植物種の多様性がルーメン内および糞中細菌群集の多様性に与える影響：初夏と秋の調査
3. 学会等名 日本草地学会2022年度バーチャル岩手大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 後藤佑理子・柿原秀俊・宍戸哲郎・福田康弘・瀧澤修平・陶山佳久・松尾 歩・中野美和・小倉振一郎
2. 発表標題 放牧地の植物種多様性がウシの採食種構成とルーメンおよび糞中細菌叢に与える影響
3. 学会等名 日本草地学会2021年度バーチャル新潟大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Gotoh Y, Kakihara H, Shishido T, Fukuda Y, Takizawa S, Suyama Y, Matsuo A, Nakano M, Ogura S
2. 発表標題 Effect of plant species diversity in pasture on ruminal and fecal bacterial community of grazing Japanese black cows
3. 学会等名 The 19th AAAP (Asian-Australasian Association of Animal Production) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------