



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Evaluation of ginkgo fruit as a new feed additive candidate for ruminant animals [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Oh, Seongjin
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第12878号
Issue Date	2017-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/67367
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Seongjin_0h_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（農学）	氏 名	Seongjin Oh
審査担当者	主査	教授	小林泰男
	副査	教授	高橋昌志
	副査	准教授	小池 聡
	副査	助教	鈴木 裕

学位論文題名

Evaluation of ginkgo fruit as a new feed additive candidate for ruminant animals

(反芻家畜における新規飼料添加物候補 ギンナン果肉の評価)

本論文は英文 79 頁，表 9，図 2，4 章からなり，参考論文 3 編が付されている。

反芻家畜は第一胃（ルーメン）に共生する微生物群の働きにより植物繊維質を分解発酵し，自身のエネルギー源となる短鎖脂肪酸を得ているが，発酵過程でメタンガスを生成する．メタンは可燃ガスであり飼料エネルギーの損失とみなされるとともに，温室効果ガスであることから近年の地球温暖化の一因とされており，その低減が期待されている．従来，抗生物質の飼料添加利用によりルーメン発酵調節を通じたメタン低減がある程度可能となっていたが，抗生物質の長期継続使用は耐性菌発生を招くことなどへの懸念から，欧州を中心に利用撤廃の流れにある．現在，植物二次代謝産物などを中心にルーメン発酵制御作用を有する代替天然物の探索が盛んである．本研究は機能性フェノール化合物を含有するギンナン果肉に着目し，ルーメン発酵の制御可能性について精査し，飼料や飼料添加物としての応用について検討した成果をまとめたものである。

1) ギンナン果肉抽出物によるルーメン発酵制御に関する評価

ギンナン果肉抽出物の添加がルーメン発酵と菌叢におよぼす影響を，バッチ培養および連続培養（人工ルーメン）で評価するとともに，純粋培養系でギンナン果肉抽出物やその含有フェノール成分に対する主要ルーメン細菌の感受性について検討した．国内の二大品種である藤九郎と久寿の果肉抽出物を比較したところ，抗菌性アルキルフェノール（アナカルド酸，カルドール，カルダノール）含量が後者で 4-5 倍高く，バッチ培養におけるルーメン液からのメタン生成量は後者でより大幅に低減した（66% vs. 86%）．よって，本品種（久寿）をその後の評価対象とした．

久寿の果肉抽出物は容量依存的にメタン生成を抑え，プロピオン酸生成を高めたことから，本抽出物はルーメン内での水素処理をメタン生成からフマル酸還元（プロピオン酸生成へつながる）へシフトさせているものと推察された．以上の発酵様式の変化は実際のルーメンをシミュレートした人工ルーメン（粗飼料：濃厚飼料＝3：7 の条件下）でも極めて明確に認められた．

上記発酵様式の変化は，主要ルーメン菌のうち，メタン合成の基質となる水素や

ギ酸を生成する菌群 (*Ruminococcus* や *Treponema*) の減少, コハク酸 (プロピオン酸前駆体) やプロピオン酸生成関連菌 (*Succinivibrio*, *Selenomonas*, *Megasphaera*) の増加と連動していることを明らかにした. このような菌叢の顕著な変化は網羅的解析 (Miseq) でも同様に見られ, フマル酸還元系の活性化へのシフトを示唆するものであった. 一方, メタン生成古細菌叢にも変化が生じ, ギンナン果肉抽出物存在下で *Methanobrevibacter* や *Mathanomassiliicoccaceae* の減少と *Methanoplanus* の増加が認められた.

ギンナン果肉抽出物の選択的抗菌作用は主要細菌の純粋培養系でも実証され, 混合系で生じる菌叢変化を明確に説明するものであった. 作用メカニズム的にはアルキルフェノール類のうち, とくにアナカルド酸の有する強い界面活性作用による細胞表層の選択的崩壊 (外膜を有するグラム陰性菌は感受性が低い) であることが明らかとなった. 一方で, 本抽出物の添加は人工ルーメンでの飼料消化率に負の影響をおよぼさないことから, ルーメン発酵制御用の飼料添加物として有望であることが示された.

2) 異なる飼料構成下でのルーメン発酵制御に関する評価

ギンナン果肉抽出物の添加がルーメン発酵と菌叢におよぼす影響を各種飼料条件下で検討するため一連の培養試験を実施した. 粗飼料/濃厚飼料比の異なる粉碎飼料にギンナン果肉抽出物を加え, 希釈ルーメン液とともに培養したところ, メタン生成が低減したが, 粗濃比 5:5、次いで 7:3 の際に, 低減はより顕著であった. 総短鎖脂肪酸濃度に変化はなかったが, プロピオン酸比の増加がすべての飼料構成下でみられた. ギンナン果肉抽出物添加により, 水素やギ酸を生成する繊維分解菌は減少する一方, プロピオン酸生成に関わる *Selenomonas ruminantium* 他 4 菌種が増加したが, 前者はメタン低減を, 後者はプロピオン酸増強を説明するものであった. 以上より, ギンナン果肉抽出物のルーメン発酵制御効果は, 飼料消化に負の影響なく, 広い飼料構成の下で期待できるものであること, 特に, 粗飼料/濃厚飼料比が 5:5-7:3 の条件下で最大効果が得られることが示唆された.

以上, 本研究では未利用バイオマスのギンナン果肉にルーメン発酵制御機能 (メタン低減およびプロピオン酸増強) があること, 機能の主体はアルキルフェノール, とくにアナカルド酸の選択的抗菌作用を介したルーメン菌叢の変化であること, この機能は広い飼料構成下で期待できることが明らかにされた. 以上の知見は, メタン低減を介した飼料エネルギー利用効率の改善と環境負荷軽減に向けた新たな飼料および飼料添加物の開発研究に大きく寄与するものである.

よって審査員一同は, Seongjin Oh が博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた.