



Title	黒毛和種牛の生産性とリンクする第一胃共生細菌群に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	三浦, 広卓
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14821号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85532
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Miura_Hiroto_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称： 博士（農学） 氏名 三浦 広卓

学位論文題名

黒毛和種牛の生産性とリンクする第一胃共生細菌群に関する研究

研究背景および目的

黒毛和種は日本の肉用牛飼養頭数の 67%を占める重要な肉用牛品種である。本品種は良好な脂肪交雑を得るために、1年半以上の長期にわたって合計で約 4-5 トンの濃厚飼料を給与する特徴的な飼養体系で肥育される。濃厚飼料の長期的な多給は、飼養コストや代謝障害による損耗のリスクを課題として抱えている。したがって、黒毛和種牛生産の安定化のためには、本品種の飼料効率（飼料摂取量に対する増体量）を改善し、肥育の短期化を図ることが重要となる。近年、反芻家畜の第一胃に共生する細菌群（ルーメン細菌叢）の構成には個体差があり、それが宿主の生産性に影響する可能性が指摘されている。したがって、ルーメン細菌叢を適切に制御することで反芻家畜の生産性向上を実現できる可能性がある。しかし黒毛和種牛の飼料効率とルーメン細菌叢の個体差との関連について検討された事例はない。本研究ではまず、黒毛和種牛ルーメン内での飼料分解・発酵に重要な役割を担うコアルーメン細菌群を特定し、本品種のルーメン細菌叢に関する基盤情報を取得した。ついで、コアルーメン細菌群とルーメン発酵および飼料効率との関連を探索するために、より高解像度かつ簡便なルーメン細菌叢解析手法を検討し、この手法を用いて黒毛和種牛の飼料効率とルーメン細菌叢の関連を探索した。

黒毛和種牛ルーメン内におけるコアルーメン細菌群の特定

飼料条件の異なる 5つの牧場で飼養された黒毛和種牛 74頭から、肥育前期、中期および後期にルーメン内容物を経口採取し、MiSeq プラットフォームを用いて 16S rRNA 遺伝子の塩基配列に基づく細菌叢解析を行なった。飼料条件や肥育ステージを問わず高密度で分布する 10細菌群を、黒毛和種牛ルーメン内での飼料分解・発酵に重要な役割を担うコアルーメン細菌群として特定した。コアルーメン細菌群は、飼料条件や肥育ステージに関わらず、ルーメン細菌叢全体の約 80%を占めたが、その構成は肥育期間中に変動した。したがって、肥育期間中の黒毛和種牛ルーメン内では、コアルーメン細菌群が補完的に増減しながら優勢なニッチを維持することで、健全なルーメン発酵が担保されると考えられた。ついで、コアルーメン細菌群の分布量とルーメン発酵パラメータの関連を検討し、*Prevotella* spp. はプロピオン酸産生に、*Christensenellaceae R-7 group* はメタン生成古細菌群と協調関係を構築してメタン産生に、それぞれ関与すると推察された。したがってこれら 2細菌群は、ルーメン発酵パターンの変化を通して宿主の飼料効率に影響を及ぼす可能性が明らかになった。

高解像度かつ簡便なルーメン細菌叢解析手法の検討

MinION プラットフォームとルーメン内容物の代替である反芻残渣の組み合わせによって、ルーメン細菌叢解析の高解像度化および簡便化を試みた。同一個体から採取したルーメン内容物と反芻残渣の細菌叢を MinION プラットフォームにより解析し、反芻残渣がルーメン内容物の細菌叢構成を反映することを確認した。加えて、本手法を用いることでルーメン細菌叢の構成メンバーを種レベルで同定することが可能となった。ついで、黒毛和種牛のルーメン細菌叢解析に本手法を応用し、コアルーメン細菌群分布量には個体差があり、特に *Prevotella* spp.と Christensenellaceae R-7 group の分布バランスが個体によって異なることを明らかにした。以上、MinION プラットフォームと反芻残渣を組み合わせることで、ルーメン細菌叢の個体差を高解像度かつ簡便にモニタリングできることを示した。本手法を活用することで、ルーメン細菌叢と宿主の生産性の関連を探索するための大規模野外試験が可能となった。

黒毛和種牛の飼料効率とリンクするルーメン細菌群の探索

同一の農場で飼養された黒毛和種牛 83 頭から、肥育中期の開始時（中期 1）と中間時（中期 2）に反芻残渣を採取し、MinION プラットフォームを用いて細菌叢解析を行なった。全 83 個体を肥育中期 1 から中期 2 にかけての飼料効率（飼料摂取量に対する増体量）に基づいて、高飼料効率群（n=12）、中間的な飼料効率群（n=59）および低飼料効率群（n=12）としてグルーピングし、ルーメン細菌叢を比較した。低飼料効率群において、中期 1 から中期 2 にかけて *Prevotella* spp.の増加と Christensenellaceae R-7 group の減少が観察された。コアルーメン細菌群以外で中期 1 から中期 2 にかけて分布量が変動した細菌群に着目して解析を行ったところ、乳酸産生細菌群 *Saccharofermentans* spp.および乳酸利用細菌群 NK4A214 group の減少が低飼料効率群でのみ確認された。通常、ルーメン内で産生された乳酸はこれを利用する細菌によって揮発性脂肪酸へと代謝され、宿主のエネルギー源として利用される。したがって、低飼料効率群の個体では肥育中期 1 から中期 2 にかけて乳酸産生・利用に関わる細菌群の分布量が連動して減少したことで、宿主へのエネルギー供給が減少し、結果的に飼料効率の低下につながった可能性が考えられた。以上より、肥育中期の黒毛和種牛ルーメン内において、コアルーメン細菌群の増減に加えて、乳酸代謝に関わる細菌群の分布量変動によりルーメン発酵パターンが変化し、これが宿主の飼料効率に影響する可能性を明らかにした。

以上、本研究では黒毛和種牛の飼料効率とリンクする細菌群を特定した。本品種のルーメン内で重要な役割を担うコアルーメン細菌群のうち、*Prevotella* spp.と Christensenellaceae R-7 group の分布動態がルーメン発酵、ひいては宿主の飼料効率に影響することを示唆した。加えて、高解像度かつ簡便なルーメン細菌叢解析手法を応用することで、ルーメン内で乳酸代謝に関係する細菌群の減少が黒毛和種牛の飼料効率低下を導く可能性を明らかにした。