

放牧飼育が肥育豚の行動、肺病変・腸内環境、 および豚肉の臭気に与える影響

戸澤 あきつ¹・高橋 敏能²・佐藤 衆介^{1,a,*}

¹ 東北大学大学院農学研究科, 宮城県大崎市 989-6711

² 山形大学農学部, 山形県鶴岡市 997-8555

現所属機関名、住所:

^a 帝京科学大学生命環境学部, 東京都足立区 120-0045

2016 年 1 月 16 日受付, 2016 年 4 月 14 日受理

要 約

44 頭の LW 種去勢豚を、舎飼区に 15 頭、配合飼料給与の放牧区に 15 頭、および TMR 給与の放牧区に 14 頭配し、放牧肥育豚の福祉性と健康性、と殺後の豚肉の臭気について実態を調査した。正常行動の時間配分、マイコプラズマ性肺炎 (MPS) の有病率と浸潤度、腸内全細菌数と *Clostridium* 属菌の菌数、および皮下脂肪中スカトール含量を調査した。舎飼区では、配合飼料の摂食行動時間配分が 8.9 ~ 10.1% であったが、両放牧区とも配合飼料あるいは TMR 飼料の摂食のほかに草や土の摂食行動が新たに発現し、全摂食行動時間配分は 24 ~ 42% に達した。また、両放牧区とも可食物の探索も含む探索行動時間配分が 14 ~ 22% に達した。MPS 有病率や肺への病変浸潤割合に飼育方式間の差はなかった。糞便中の全細菌数および *Clostridium* 属菌は舎飼区にくらべ、両放牧区で少なかった。皮下脂肪中のスカトール含量は、舎飼区では 50% のブタで検出限界以下であったが、放牧区では 80% であった。以上より、放牧飼育方式下の肥育豚は、福祉性が高く、しかもその方式は高付加価値生産につながりうると考えられた。

キーワード: 家畜福祉、クロストリジウム、スカトール、ブタ、マイコプラズマ性肺炎

東北畜産学会報 66(1): 23 ~ 32 2016

緒 言

家畜の飼育管理は、生産性の視点からだけでなく、健康性や福祉性の視点から評価される必要がある (OIE, 2004)。放牧飼育方式は家畜に自然な行動を発現させることが可能なことから、福祉性が高い飼育方式の 1 つとして、欧州では以前から注目されている (FAWC, 1996)。しかし、我が国では放牧方式がブタの福祉性や健康性改善に貢献しているのか、実態調査すらほとんど行われて

いない (Yonezawa ら, 2012)。

肥育豚の舎飼生産方式で多発する疾病に呼吸器疾病と消化器疾病が挙げられる (成田 と 中澤, 1999)。呼吸器疾病の中でも、マイコプラズマ性肺炎 (Mycoplasmal Pneumonia of Swine: MPS) は現行の畜産方式では常在している慢性呼吸器疾病であるが、MPS 感染の拡大は飼育方式や飼育環境の改善によって抑制が可能であるといわれている (八木橋 と 山本, 1999)。Yagihashi ら (1993) は、MPS 抗体保有率が同程度の農場を比較した結果、飼育環境が良好な農場では肺病変の形成が見られた発病個体が少なかったと報告している。豚舎内では呼気や糞尿からアンモニア、硫化水素、およびメタンといった臭気物質や刺激物質が発生する。閉鎖的な豚舎では、不十分

* 連絡者: 佐藤 衆介 (さとう しゅうすけ)
〒120-0045 東京都足立区千住桜木 2-2-1
Tel 03-6806-1259
E-mail shusato@ntu.ac.jp

な換気によるこれら臭気物質や刺激物質の停滞や蓄積に加えて、過密や行動抑制等の心理的ストレスなども疾病を悪化させている可能性がある。一方、放牧方式では開放系であることから、臭気物質や刺激物質が拡散されること、飼育密度が低下することや、行動が多様化することで心理的ストレスも軽減され、呼吸器疾病が改善する可能性がある。

また近年、腸内細菌が全身の免疫に関係していることが多く報告されている (Corthesy ら 2007 ; Nagao ら 2014)。腸内細菌叢は腸内に到達する抗原刺激や微生物の種類によって変化する場合がある (森下, 2008)。放牧飼育するとブタは放牧地の野草や土壌を摂食するため (Leaper ら, 1999 ; Edwards, 2007)、外部環境中の様々な微生物を消化管内に取り込む。このことが放牧飼育豚の腸内環境になんらかの影響を与え、免疫性にも影響している可能性がある。

一方、放牧養豚におけるブタの健康性については寄生虫感染や野生動物との接触によるズーノーシス感染の可能性がこれまでも報告されている (Roepstorff と Murrell, 1997 ; Eijck と Borgsteede, 2005)。また、腸内細菌に含まれる *Clostridium* 属菌のうち、*C.perfringens* は壊死性腸炎、*C.tetani* は破傷風を引き起こし (濱岡, 1999)、*C.scatologenes* や *C.nauseum* は腸管内でトリプトファンからのスカトール産生に関与している (Honeyfield と Carlson, 1990)。スカトールは、インドールやステロイド物質のアンドロステノンと並んで豚肉および脂肪組織内に存在する主な不快臭物質である (Hansson ら, 1980 ; Rius と García-Regueiro, 2001)。加えて、腸内細

菌叢の違いは豚肉臭気に影響するという報告もある (安藤 と 中井, 2002)。*Clostridium* 属菌のなかには土壌中にも存在する菌が含まれることや、放牧飼育によりブタは土壌や土壌内幼虫、ミミズ等を摂食すること (Schley と Roper, 2003) から、腸内細菌叢が変化する可能性があり、豚肉臭気にも影響する可能性がある。

以上より、本研究では放牧飼育下でのブタの福祉性および健康性の実態の一端を明らかにする目的で、放牧豚の正常行動の発現実態、呼吸器疾病の発生率と浸潤度、腸内細菌数、および主たる豚肉臭気成分のスカトール含量を舎飼豚と比較した。

材料および方法

1. 供試豚および飼育方法

LW 種の去勢雄豚 44 頭を、舎飼区 (Indoor intensive system ; IS) に 15 頭、配合飼料給与の放牧区 (Outdoor pasturing system Treatment A ; OP - A) に 15 頭、発酵 TMR 飼料給与の放牧区 (Outdoor pasturing system Treatment B ; OP - B) に 14 頭配した。IS は山形県北部の種豚供給センターであり、すべての供試豚を IS から導入した。これらの供試豚はすべて同日齢で、複数の母豚からの出生豚であり、離乳直後にランダムに群分けし、出生時から放牧区への導入までは IS で全頭飼育した。

IS の豚舎は窓の開閉が自由な開放型豚舎であり、コンクリート床に粉殻を敷き詰めて飼育した。飼育面積は 2.1 m²/頭であった。敷料として使用していた粉殻は週に 1 回、もしくは汚れがひどい場合には 2 回交換し、1 日に

Table 1. Feed composition of the diet used in growing and finishing periods of fattening pigs in each treatment and ingredients of the fermented total mixed ration

Composition (%)	The growing period (30 ~ 70kg)			The finishing period (70kg ~)		
	IS	OP-A	OP-B	IS	OP-A	OP-B
	Concentrates	Concentrates	Fermented total mixed ration	Concentrates	Concentrates	Fermented total mixed ration
CP	13.5	15.5	15.0	14.0	14.5	12.5
EE	2.0	2.5	2.0	2.0	2.5	2.0
CF	5.0	5.0	4.0	5.0	5.0	5.0
CA	8.0	7.0	6.0	8.0	7.0	7.0
TDN	77.0	78.0	77.5	77.0	78.0	78.0
Ca	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4
P	0.4	0.4	0.4	0.35	0.4	0.35
Ingredient of TMR (%)						
Brown rice	—	—	42.0	—	—	47.0
Rice bran	—	—	5.0	—	—	14.0
Wheat bran	—	—	15.0	—	—	11.7
Apple lees	—	—	6.6	—	—	10.6
Bean curd cake	—	—	15.7	—	—	5.0
Soya bean	—	—	14.0	—	—	10.0
Inorganic salt	—	—	1.7	—	—	1.7

IS : Indoor intensive system

OP-A, B : Outdoor pasturing system

1 度は排糞作業を行っており、衛生管理は極めて良好であった。IS では、配合飼料（肥育前期：北日本くみあい飼料株式会社 子豚用ブースケ B マッシュ、肥育後期：北日本くみあい飼料株式会社 肉豚用センター S）を不断給餌した。

放牧区（OP - A と OP - B）を IS から約 80km 離れた山形県内に設置した。両放牧区を同一農場内に、放牧地が互いに隣接するように配置した。各放牧区は豚舎と放牧地からなり、それぞれの面積は OP - A で 1.7 m²/頭および 49.3 m²/頭、OP - B で 3.6 m²/頭および 82.7 m²/頭であった。OP - A では配合飼料（肥育前期：協同飼料株式会社 めぐみ子豚 78、肥育後期：協同飼料株式会社 めぐみ肉豚 78）を、OP - B では未利用飼料資源による発酵 TMR 飼料を給与した。発酵 TMR 飼料の原材料およびその配合割合を、各区での給与飼料の成分とともに表 1 に示した。OP - A および OP - B は導入後、初めの 8 日間ないし 16 日間は豚舎に加え、放牧地の一部を開放して馴致期とし、その後、放牧地を全開放し、供試期とした。OP - A は 71 日齢で導入して馴致し、79 日齢から供試期とした。OP - B は 57 日齢で導入して馴致し、73 日齢から供試期とした。試験期間は 2011 年 7 月から 10 月末であった。OP - B の放牧地は放牧 2 年目であり、1 年目の放牧で裸地化したため、不耕起のままヘアリーベッチ (*Vicia villosa* Roth) を当年春に播種し、供試した。従って、本試験で放牧地を全開放した際の植物被度は両放牧地で大きく異なり、OP - A で 94.2%、OP - B で 74.0% であった。いずれの放牧地にも木本は生えておらず、放牧後 90 日程度で裸地化した。

IS および OP - A では導入時から発育不良であった個体が試験中に各 1 頭、斃死したため、各区の出荷頭数は 14 頭であった。出荷日齢は IS で 175 日齢であった。OP - A では 167 日齢に 7 頭、残りの 7 頭を 182 日齢に出荷した。OP - B では 170 日齢に 4 頭、196 日齢に 5 頭、203 日齢に 5 頭出荷した。供試豚はすべて山形県内の食肉処理場へ出荷した。

飼育期間中の体重変化を図 1 に示した。両放牧区への導入時の体重（平均 ± S.D.）は、OP - A で 37.9 ± 1.9 kg（71 日齢）、OP - B で 31.1 ± 2.3 kg（57 日齢）であっ

た。放牧区導入と同時期の IS の体重は 36.4 ± 2.0 kg（77 日齢）であった。出荷時に最も近い時期に測定した体重は IS で 103.9 ± 9.9 kg（169 日齢）、OP - A で 102.2 ± 7.4 kg（161 日齢）、OP - B で 94.6 ± 9.9 kg（163 日齢）であった。

2. 行動調査

各区から平均的な体重の個体 6 頭ずつを行動調査対象豚とした。調査を体重 70 kg 未満の肥育前期（以下、前期）と 70 kg 以上の肥育後期（以下、後期）の 2 時期に行った。前期調査時の肥育豚は IS で 108 日齢、OP - A で 86 日齢、OP - B で 89 日齢であった。後期では、IS で 139 日齢、OP - A で 142 日齢、OP - B で 140 日齢であった。

行動観察を各調査日の 09:30 ~ 16:30 の計 7 時間ずつ行った。IS では、防疫上並びに作業上、カメラの設置台数に制限があったため、最も強く動機づけられている行動である摂食行動の調査に特化した。すなわち、給餌器からの飼料摂食を撮影できる位置にビデオカメラを設置して録画し、後日再生映像にて 5 分間隔のタイムサンプリング法で、調査対象個体の摂食行動のみを調査した。全観察回数に対する摂食行動の割合（%）を摂食時間配分として算出し、それ以外の行動をその他とした（表 2）。OP - A および OP - B では、目視により 5 分間隔のスキャンサンプリングを行った。観察した行動単位は、飼料（配

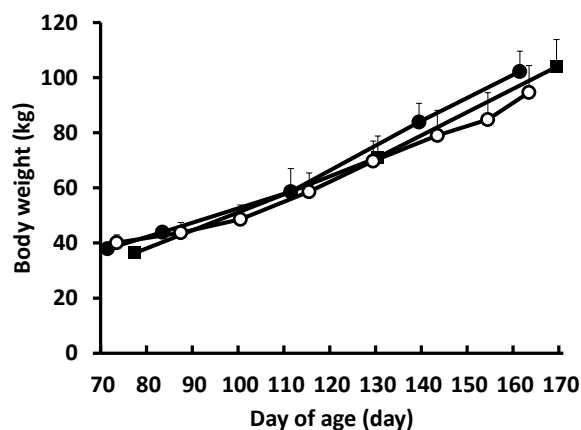


Figure 1. Growth chart of pigs in each treatment

IS (■), OP - A (●) and OP - B (○)

For abbreviations IS, OP - A, and OP - B, see Table 1.

Table 2. Ethogram of pig behaviour observed for scan-sampling

Category	Description of behaviour
Foraging	total time spent on feeding, plant eating, and soil eating
Feeding	gathering, chewing, and swallowing conventional feeds
Plant eating	gathering, chewing, and swallowing fresh plants on pasture
Soil eating	chewing and swallowing soil on pasture
Exploring	sniffing surrounding environments, rooting, chewing rocks
Resting	lying on abdominal or side position
Others	other behaviours other than the above

合飼料またはTMR)の摂食、生草の摂食、土壌の摂食、これらを3つ合わせた全摂食行動、探索行動、休息行動であり、それ以外の行動をその他とし、個体ごとに全観察回数に対する割合(%)を各行動時間配分として算出した。行動観察はすべて同一の調査者が行った。

3. マイコプラズマ性肺炎の肺病変評価

MPSの病変形成の有無を、と畜時にすべての個体の肺を直接観察することによって確認した。病変を有する個体(有病個体)については背側および腹側の両側面のMPS肺病変浸潤状態を、GoodwinとWhittlestone(1973)の方法に基づいてスコア化した。算出したスコアを両側面で合計し(最大55点)、以下の式から各個体のMPS病変浸潤割合を算出した。

肺病変浸潤割合 = (病変スコアの合計 / 55) × 100 (%)

肺病変浸潤割合が高いほど、肺の病変面積が広いことを示す。評価はすべて同一の調査者が行った。

4. 腸内全細菌数および *Clostridium* 属菌の定量

各区における平均的な体重の個体5頭の糞便を直腸から直接採取した。採糞時の各調査区における平均体重 ± S.D. は、ISで103.9 ± 9.9 kg(169日齢)、OP-Aで102.2 ± 7.4 kg(161日齢)、OP-Bで94.6 ± 9.8 kg(163日齢)であった。糞便は採取後直ちにジッパー付きのポリエチレン製保存袋に入れ、できるだけ空気を抜き、試験地から実験室まで2時間水中で保存して持ち帰り、分析まで-80℃で冷凍保存した。

腸内全細菌数および *Clostridium* 属菌の定量について、リアルタイムPCR法により1gあたりの標的遺伝子コピー数を算出し、腸内全細菌数および *Clostridium* 属菌の菌数とした。*Clostridium* 属菌の定量にあたり、*Clostridium* Cluster I・IIをターゲットとして解析を行った。このクラスターは、ボツリヌス菌の *C. botulinum* や破傷風菌である *C. tetani*、スカトールの産生に関わる *C. scatologenes* や *C. nauseum* を含む(Collinsら, 1994)。

凍結保存していた試料0.1 gと900 μLのGTC溶液と十分懸濁した。懸濁後のサンプル100 μLをGTC溶液で10倍希釈し、ジルコニウムビーズ入りチューブにて再懸濁した。80℃で15分間の加熱処理を行い、処理後のサンプルをFastPrep(MP Biomedicals, Santa Ana, CA, USA)にて5 m/sで120秒間振とうした。細胞破碎後のサンプル200 μL用いてMagstration® System 12GC(Precision System Science Co., Ltd., Chiba, Japan)のプロトコルに従い、DNAの抽出を行った。抽出DNAをNanoDrop-1000(Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA)を用いて吸光度からDNA

量を推定し、全細菌の16S rDNA測定には5 ng/μL、*Clostridium* Cluster I・IIの16S rDNA測定には50 ng/μLに希釈して用いた。

糞便から抽出したDNAを鋳型とした。全細菌のフォワードプライマーとして341f(5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3')、リバープライマーとして534r(5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')(Muyzerら, 1993)、*Clostridium* Cluster I・IIのフォワードプライマーとしてCI-F1(5'-TACCHRAGGAGGAAGCCAC-3')、リバープライマーとしてCI-R2(5'-GTTCTTCCTAATCTCTACGCAT-3')(Songら, 2004)を用いて増幅した。本研究におけるPCR反応はRotor-Gene™Q(QIAGEN)にて95℃、30秒インキュベート後、全細菌の測定では、変性反応として94℃、5秒、アニーリング反応として60℃、20秒、伸長反応として72℃、20秒インキュベートするという反応を30サイクル繰り返した。*Clostridium* Cluster I・IIでは、変性反応として94℃、5秒、アニーリング反応として60℃、30秒、伸長反応として72℃、50秒インキュベートするという反応を35サイクル繰り返した。これらの分析は株式会社テクノスルガ・ラボに依頼した。

5. 背部皮下脂肪中スカトール含量の測定

スカトール含量の測定を、ISから4頭、OP-Bから5頭をランダムに選び、行った。Löselら(2006)や西岡ら(2011)の報告では、腹部と背部の脂肪中スカトール含量に差がみられなかったことから、本研究では肥育豚の腰椎上部の脂肪を採取した。脂肪をと畜直後の温と体から100 g以上採取し、採取後はジッパー付きのポリエチレン製保存袋に入れてできるだけ空気を抜き、分析時まで-4℃で保存した。凍結保存していた試料2~5 gに蒸留水150 mlを加え、水蒸気蒸留により留液300 mlを採取した。留液に塩化ナトリウム120 gとジエチルエーテル100 mlを添加し、振とう抽出した。抽出したジエチルエーテル層を分取し、残渣にジエチルエーテル100 mlを添加し、再度振とう抽出した。先のジエチルエーテル層と合わせ、脱水ろ過、減圧濃縮し、抽出された試料の2 mlをガスクロマトグラフ質量分析(GC/MS)に供した。使用した機種は6890N/5975B inertXL(Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA)、カラムはDB-WAX(内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm)(Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA)であった。移動相はヘリウムガスとし、流量1 mL/minで用いた。試料注入口は220℃、カラムは80℃を1分保持し、10℃/分で昇温し、240℃で15分保持した。イオン源温度230℃、イオン化法はEI、設定質量数は130、131 m/zとした。以上、スカトールの分析は一般財団法人日

本食品分析センターに依頼した。

6. 統計処理

統計解析には R 3.0.2 for Mac OS X を使用した。行動については各時期で処理区間の比較を行った。全処理区における全摂食行動および飼料の摂食行動時間配分を Steel-Dwass 法により、生草の摂食、土壌の摂食、探査、休息の各行動時間配分を OP - A と OP - B 間で Mann-Whitney の U 検定により解析した。MPS の有病個体数については Fisher の正確確率検定を、肺病変浸潤割合については Kruskal-Wallis 検定により解析した。糞便 1g あたりの腸内全細菌標的遺伝子コピー数および腸内全細菌数に対する *Clostridium* Cluster I・II の割合を Steel-Dwass 法に供した。いずれも有意水準を $P < 0.05$ とした。

結果および考察

1. 放牧による正常行動発現の実態と福祉性

行動調査の結果を表 3 に示した。前期では、全摂食行動時間配分は IS で OP - B よりも有意に少なく、また有意ではないが OP - A の半分以下であった。後期でも同様に、IS では放牧両区の 3 割程度で、有意に少なかった。いずれにおいても、飼料摂食行動に差はなく、放牧区では生草や土壌の摂食行動が増えたことにより、全摂食行動時間は長くなった。

探査行動は前後期とも OP - A と OP - B で活動時間の 14 ~ 22% であった。原野放牧下では、ブタは活動時間の 75% を飼料や放牧地での摂食、探査、ルーティングといった摂食関連行動に費やす (Stolba と Wood-Gush, 1989)。本研究では、Stolba と Wood-Gush (1989) の報告には達しなかったものの、両放牧区的全摂食行動と探査行動をあわせた摂食関連行動は、前期には OP - A で 38.3%、OP - B で 63.5%、後期にはそれぞれ 40.7% と 43.1% と長時間発現していた。既報との違いは、品種差

や年齢差に加え、ブタが摂食行動を発現する薄明、薄暮時間帯 (Feddes ら, 1989) の調査が含まれていないことによると考えられる。それにもかかわらず、放牧区的全摂食行動時間の IS との差は前期調査の OP - A との差を除き有意であり、それは放牧草や土壌の摂食行動に由来していた。すなわち、両放牧区とも十分量の飼料が給与されていたにもかかわらず、肥育豚は肥育時期によらず飼料以外の生草や土壌を探査、摂食していた。Tozawa ら (2016) は、ブタにコンクリート床で生草を給与しても、土床で飼育しても、摂食行動は長くなることを確認し、生草や土床はブタにとって摂食行動促進の要因になっていることを明らかにした。特に土床はブタに摂食行動の欲求行動も含む探査行動を大きく発現させ、探査行動と摂食行動のいずれも長期化させる。また、ブタは他の動物と同様に、目の前に出される餌よりもワラで隠された餌を食べること (contrafreeloading) を好む (de Jonge ら, 2008)。これらのことから、探査行動と摂食行動は内的に強く動機づけられている行動 (Signoret ら, 1975; Studnitz ら, 2007) であり、適切に発現させることは福祉上重要であることがわかる (Wemelsfelder ら, 2000)。すなわち、探査行動と摂食行動の長期化はブタの福祉改善に有効と考えられる。

生草の摂食行動時間配分は、前期および後期ともに OP - A よりも OP - B で有意に長くなった。両区とも飼料は不断給餌であったため、摂食量は満たされていたと考えられる。よって、両放牧区の違いは、OP - B では本試験前に嗜好性植物 (吉本, 1969) であるヘアリーベッチ (*Vicia villosa* Roth) の播種を行っていたこと、および放牧地面積が OP - A に比べて OP - B で大きかったことが考えられる。イノシシの野生下での餌選択の要因として、入手可能性、エネルギー量、季節変動、地域変化が挙げられる (Ballari と Barrios-García, 2014)。本研究では放牧地の嗜好性植物現存量や面積が異なっていたことにより、OP - A と OP - B 間での生草の摂食行

Table 3. Time budget of pig behaviours in the indoor and the outdoor rearing systems

Category	The prior				The latter			
	IS	OP-A	OP-B	P-value	IS	OP-A	OP-B	P-value
Foraging	10.1 ± 5.5a	23.6 ± 10.4a	41.7 ± 9.1b	@	8.9 ± 4.3a	26.6 ± 7.7b	28.6 ± 5.3b	@
Feeding	10.1 ± 5.5	8.5 ± 3.4	10.5 ± 2.2	NS	8.9 ± 4.3	16.5 ± 7.4	12.1 ± 2.7	NS
Plant eating	0	7.5 ± 4.7	22.2 ± 6.9	**	0	4.6 ± 3.2	9.9 ± 2.3	**
Soil eating	0	7.5 ± 6.1	8.9 ± 2.7	NS	0	5.6 ± 1.2	6.6 ± 3.7	NS
Exploring	—	14.7 ± 4.9	21.8 ± 6.1	NS	—	14.1 ± 3.0	14.5 ± 3.6	NS
Resting	—	43.3 ± 19.2	20.6 ± 8.8	*	—	48.6 ± 8.2	43.9 ± 10.7	NS
Others	89.9 ± 5.5	18.5 ± 8.2	15.9 ± 3.7	—	91.1 ± 4.3	10.7 ± 2.5	13.1 ± 3.6	—

For abbreviations IS, OP - A, and OP - B, see Table 1.

The results are represented as means ± S.D. (%) (n = 6)

Mann-Whitney U test

@ : Steel-Dwass procedure

* : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$; NS : No significance

a, b : Means with different letters differ significantly in each behaviour ($P < 0.05$)

動時間配分に違いがあらわれたと考えられる。

2. MPS 感染並びに腸内細菌叢に及ぼす放牧の効果

MPS 有病率は IS で 85.7% (14 頭中 12 頭)、OP - A で 100% (14 頭中 14 頭)、OP - B で 64.3% (14 頭中 9 頭) であり、処理間に差はなかった ($P = 0.06$)。病変浸潤割合 (平均 $\pm$ 標準偏差%) も IS で $16.4 \pm 24.1\%$ 、OP - A で $14.8 \pm 19.1\%$ 、OP - B で $8.6 \pm 9.7\%$ であり、差はみられなかった ($P = 0.51$)。舎飼方式における MPS 感染に影響する要因として、素豚の導入方法 (導入か一貫飼育か)、飼育密度、群サイズ、他の疾病の汚染状況、衛生管理、空気環境が挙げられる (Maes ら, 2008)。本研究では、供試豚をすべて同一農場から導入し、1 群あたりの飼育頭数は 14 ~ 15 頭であったため、これらの要因は同一である。また、MPS 感染リスクやその症状の悪化を予防するために推奨されている飼育面積は $0.7 \text{ m}^2/\text{頭}$ 以上であるが (Maes ら, 2008)、本研究では飼育面積が最も狭かった IS でも $2.1 \text{ m}^2/\text{頭}$ であり、MPS 感染の促進要因として可能性は低いと考えられる。それら以外の他の疾病の汚染状況や衛生管理は、すべての区において十分な管理が行われていた。すなわち、空気環境だけは、舎飼区と放牧区で大きく異なるにもかかわらず、MPS 感染およびその病変形成には違いがあらわれなかった。我が国での MPS 罹患率は高いままであり、2005 年の報告でも出荷豚の 88% が抗体陽性、59% が MPS による肺病変を有するとの報告もある (食品安全委員会, 2013)。よって、導入前の育成期に、すでに MPS 感染が重篤であったと考えられ、その病変の浸潤には空気環境は大きく影響しない可能性が示唆された。また、OP - B で MPS 有病率並びに病変浸潤割合が低い傾向であったが、本研究ではその要因を特定できなかったため、今後検討が必要である。

腸内全細菌数および *Clostridium* Cluster I・II の全細菌数に対する割合を表 4 に示した。IS の全細菌数は OP - A、OP - B 両区よりも有意に多かった ($P < 0.05$) が、OP - A と OP - B の間には有意差はなかった。また、

Clostridium Cluster I・II の全細菌数に対する割合は、IS では OP - A よりも有意に多く ($P = 0.02$)、OP - B よりも多い傾向にあった ($P = 0.07$)。OP - A と OP - B の間には有意差はなかった。

腸内細菌のなかでも、*Clostridium* 属菌は土壤中に存在している種も含む。特に破傷風菌 (*C.tetani*) やボツリヌス菌 (*C.botulinum*) といった菌種は外傷からの感染や摂取によって疾病につながる可能性がある。本研究でターゲットとした *Clostridium* Cluster I・II には *C.tetani* や *C.botulinum* のほかに腸内常在菌であり腐敗菌であるウェルシュ菌 (*C.perfringens*) やスカトール産生に關与する *C.scatologenes* や *C.nauseum* が含まれている。肥育豚を放牧飼育することによって、土壌を鼻や口で掘り返し、摂食する機会が多くなることにより腸内細菌中の *Clostridium* 属菌の割合が高くなる可能性が考えられる。しかし、本研究では舎飼方式の IS と比較して放牧方式の OP - A, B ではともに腸内全細菌数が有意に少なく、*Clostridium* cluster I・II の割合が少なかった。ヒトの研究ではあるが、Benno ら (1989) は食物繊維摂取量が多いと糞便中の全細菌数が低下し、*Clostridium* 属菌含量が少なくなると報告している。また、腸内細菌の構成、特に *Clostridium* 属菌には摂取食物内容が大きく影響するという報告がある (Benno ら, 1986)。行動調査の結果から、IS では発現不可能な生草と土壌の摂取が OP - A, B では可能であり、この点が舎飼方式と放牧方式における摂取内容物の大きな違いとして腸内環境に影響を与えたと考えられる。肥育豚の放牧方式は、土壌を含む周辺環境から有害な細菌群を消化管内に取り込む可能性があるが、牧草あるいは野草を食物繊維として摂取可能な点が舎飼方式とは異なる腸内細菌叢の構成に大きく寄与する可能性が考えられる。

本研究は実態的な調査であったため、処理区毎の給餌飼料を統一することができなかった。腸内環境の変化は食餌の影響も否定できない (Montagne ら, 2003) ことから、放牧地の植生状態も含め、すべての摂取物を考慮した更なる検討が必要である。

Table 4. Microbial counts (log count / g feces) and the ratio of *Clostridium* cluster I・II in pig feces

Treatment	Total bacterial 16S rDNA (log count / g feces)	Abundance ratio of <i>Clostridium</i> cluster I・II (%)
IS	$12.5 \pm 0.1a$	$12.4 \pm 6.4a$
OP-A	$12.2 \pm 0.1b$	$1.8 \pm 1.8b$
OP-B	$12.1 \pm 0.0b$	$4.2 \pm 3.8ab$

n = 5

For abbreviations IS, OP - A, and OP - B, see Table 1.

Values with different letters in superscript differ significantly in each column (a, b : $P < 0.05$)

3. 豚肉の臭気に及ぼす放牧の影響

表5は肥育豚の背脂肪中スカトール含量の結果である。スカトールの検出限界値以下である0.01 ppm未満の個体がISでは4頭中2頭であったのに対し、OP-Bでは5頭中4頭であった。また、ISでは半数の個体が0.02 ppm以上0.03 ppm未満の値を示した。西岡ら(2011)は、市場出荷豚の脂肪中スカトール含量を調査しているが、0.01 ppm未満の個体が128頭中4頭であったと報告している。本研究のISが実施された農場は前述したように一般生産農場とは異なり、衛生管理が徹底されていたことから、西岡ら(2011)の結果と異なったと考えられる。以上を勘案した場合、本研究の放牧下の肥育豚の背脂肪中スカトール含量の低さは顕著である。スカトールは哺乳類の消化管内で合成されるが、*Clostridium* 属菌のうち、*C.scatologenes* や *C.nauseum* は腸管内でスカトールの産生に関わっている(Honeyfield と Carlson, 1990; Jensen ら, 1995)。放牧方式では腸内全細菌数に対する *Clostridium* 属菌の占める割合が舎飼方式よりも少なかった。つまり、放牧を行うことで腸内の *Clostridium* 属菌が減少し、それに伴って腸内でのスカトール産生が抑制され、背脂肪中スカトール含量も少なくなる可能性が考えられる。

腸内で産生されたスカトールは腸粘膜から吸収されるが、その後肝臓で代謝されなかったものが脂肪や筋組織に沈着する(Doran ら, 2002)。ブタの背部皮下脂肪と最長筋に含まれるスカトールに関する研究では、最長筋よりも背部皮下脂肪でスカトール含量が多くなり、背部皮下脂肪と最長筋の部位間では有意な相関関係があったことが報告されている(Rius と García-Regueiro, 2001)。このことから、背部皮下脂肪中のスカトール含量が多い個体は筋肉内も含め、全身のスカトール含量も多くなり、豚肉の不快臭気が強くなる可能性が高い。

また、スカトールは腹部の皮膚や肺からも吸収されるとの報告(Hansen ら, 1994)もあることから、本実験のISであるコンクリート床では放牧に比べて、糞との接触機会は多く、豚肉中のスカトール含量が高くなった可能性もある。

本研究の舎飼方式で得られた背部皮下脂肪中のスカトール含量はすべての個体で0.03 ppm未満であり、デンマークでの豚肉出荷停止基準となるスカトール含量の0.25 ppm (Maribo, 2012) を大きく下回っていた。しか

し、Annor-Frempong ら(1997)が行ったパネル評価訓練を受けた試験者による官能試験では、スカトール臭気を感じる閾値が0.008～0.060 $\mu\text{g/g}$ と個人差が大きかったことを示していることから、0.01 ppmというわずかな量の違いでも消費者は敏感にスカトール臭気を感じ取ることがあると考えられる。よって、本研究では、放牧区においてスカトール含量が0.01 ppm未満の個体が多かったことから、放牧豚の豚肉はスカトールによる風味への影響が極めて小さいと考えられる。

以上より、放牧肥育豚は舎飼肥育豚と比較し、内的に最も強く動機づけられている正常行動である摂食行動を、その欲求行動も含む土壌の掘り返しといった探索行動とともに長時間発現し、腸内全細菌数および *Clostridium* 属菌の割合が低下し、さらに、主たる豚肉臭気成分である脂肪中スカトールが低減した。すなわち、肥育豚の放牧方式は福祉性の高い、しかも高付加価値生産につながり得る生産方式であると考えられる。

謝 辞

本研究の一部は、公益財団法人伊藤記念財団の平成23年度研究助成「最高級豚肉を目指した生産方式の解明」(代表：佐藤衆介)を受けて行われた。

引用文献

- 安藤太助, 中井 裕. 豚肉の獣臭をコントロールする飼養技術 SPF 豚肉は本当ににおいが少ないのか(特集 豚肉とにおい-見えない品質). 養豚界, 37: 39-41. 2002.
- Annor-Frempong IE, Nute GR, Whittington FW, Wood JD. The problem of taint in pork: 1. Detection thresholds and odour profiles of androstenone and skatole in a model system. Meat Sci., 46: 45-55. 1997.
- Ballari SA, Barrios-García MN. A review of wild boar *Sus scrofa* diet and factors affecting food selection in native and introduced ranges. Mamm. Rev., 44: 124-134. 2014.
- Benno Y, Suzuki K, Narisawa K, Bruce WR, Mitsuoka T. Comparison of the fecal microflora in rural Japanese and urban Canadians. Microbiol. Immunol., 30: 521-532. 1986.
- Benno Y, Endo K, Mizutani T, Namba Y, Komori T, Mitsuoka T. Comparison of fecal microflora of elderly persons in rural and urban areas of Japan. Appl. Environ. Microbiol., 55: 1100-1105. 1989.
- Collins MD, Lawson PA, Willems A, Cordoba JJ, Fernandez-Garayzabal J, Garcia P, Cai J, Hippe H, Farrow JAE. The phylogeny of the Genus *Clostridium*: Proposal of five new

Table 5. The number of pigs with different skatole concentrations in backfat

Skatole (ppm)	0 ~	0.01 ~	0.02 ~ 0.03	Total
IS	2	0	2	4
OP-B	4	0	1	5

For abbreviations IS, and OP-B, see Table 1.

- genera and eleven new species combinations. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 44: 812–826. 1994.
- Corthesy B, Gaskins HR, Mercenier A. Cross-Talk between Probiotic Bacteria and the Host Immune System. *J. Nutr.*, 137: 781–790. 2007.
- de Jonge FH, Tilly S-L, Baars AM, Spruijt BM. On the rewarding nature of appetitive feeding behaviour in pigs (*Sus scrofa*): Do domesticated pigs contrafreeload? *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 114: 359–372. 2008.
- Doran O, Whittington F, Wood JD, McGivan JD. The relationship between adipose tissue skatole levels, rates of hepatic microsomal skatole metabolism and hepatic cytochrome P450IIE1 expression in two breeds of pig. *Anim. Sci.*, 74: 461–468. 2002.
- Edwards SA. Intake of nutrients from pasture by pigs. *Proce. Nutr. Soc.*, 62: 257–265. 2007.
- Eijck IAJM, Borgsteede FHM. A survey of gastrointestinal pig parasites on free-range, organic and conventional pig farms in The Netherlands. *Vet. Res. Commun.*, 29: 407–414. 2005.
- FAWC. Report on the welfare of pigs kept outdoors. 38pp. Farm Animal Welfare Council. Tolworth. UK. 1996.
- Feddes JJR, Young BA, DeShazer JA. Influence of temperature and light on feeding behaviour of pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 23: 215–222. 1989.
- Goodwin RF, Whittlestone P. Enzootic pneumonia of pigs: immunization attempts inoculating *Mycoplasma suis* antigen by various routes and with different adjuvants. *Br. Vet. J.*, 129: 456–464. 1973.
- 濱岡隆文. クロストリジウム病 (VI 細菌病・真菌病の項). 柏崎 守, 久保正法, 小久江栄一, 清水実嗣, 出口栄三郎, 古谷 修, 山本孝史編. 豚病学: 生理・疾病・飼養. 第4版. 297–301. 近代出版. 東京. 1999.
- Hansen LL, Larsen AE, Jensen BB, Hansen-Møller J, Bartongade P. Influence of stocking rate and feces deposition in the pen at different temperatures on skatole concentration (boar taint) in subcutaneous fat. *Anim. Prod.*, 59: 99–110. 1994.
- Hansson KE, Lundstrom K, Fjelkner-Modig S. The importance of androstenone and skatole for boar taint. *Swed. J. Agri. Res.*, 10: 167–173. 1980.
- Honeyfield DC, Carlson JR. Assay for the enzymatic conversion of indoleacetic acid to 3-methylindole in a ruminal *Lactobacillus* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 724–729. 1990.
- Jensen M, Cox R, Jensen B. 3-Methylindole (skatole) and indole production by mixed populations of pig fecal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 3180–3184. 1995.
- Leaper R, Massei G, Gorman ML, Aspinall R. The feasibility of reintroducing Wild Boar (*Sus scrofa*) to Scotland. *Mamm. Rev.*, 29: 239–258. 1999.
- Lösel D, Lacorn M, Büttner D, Claus R. Flavor improvement in pork from barrows and gilts via inhibition of intestinal skatole formation with resistant potato starch. *J Agric. Food Chem.*, 54: 5990–5995. 2006.
- Maes D, Segales J, Meyns T, Sibila M, Pieters M, Haesebrouck F. Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. *Vet. Microbiol.*, 126: 297–309. 2008.
- Maribo H. Trial Report 955: Screening of organic entire males. 2012. [homepage on the Internet] Pig Research Centre, Research Results, Copenhagen. Available from URL : <http://www.pigresearchcentre.dk/Research%20results/Finishers/955.aspx>
- Montagne L, Pluske JR, Hampson DJ. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 108: 95–117. 2003.
- 森下芳行. 腸内フローラの構造と機能. 普及版. 朝倉書店. 東京. 2008.
- Muyzer G, de Waal EC, Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59: 695–700. 1993.
- Nagao F, Nakayama M, Muto T, Okumura K. Effects of a Fermented Milk Drink Containing *Lactobacillus casei* Strain Shirota on the Immune System in Healthy Human Subjects. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 64: 2706–2708. 2014.
- 成田 實, 中澤宗生. 日和見感染・混合感染 (IV 臨床病理の項). 柏崎 守, 久保正法, 小久江栄一, 清水実嗣, 出口栄三郎, 古谷 修, 山本孝史編. 豚病学: 生理・疾病・飼養. 第4版. 155–160. 近代出版. 東京. 1999.
- 西岡輝美, 石塚 譲, 因野要一, 入江正和. 豚脂肪中のスカトール含量と官能評価への影響. *日畜会報*, 82: 147–153. 2011.
- OIE (World Organization for Animal Health). Global conference on animal welfare: an OIE initiative. 2004. [homepage on the Internet]. World Organization for Animal Health, Paris; [cited 18 June 2015]. Available from URL : http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Conferences_Events/docs/pdf/proceedings.pdf

- Rius MA, García-Regueiro JA. Skatole and indole concentrations in *Longissimus dorsi* and fat samples of pigs. *Meat Sci.*, 59: 285–291. 2001.
- Roepstorff A, Murrell K. Transmission dynamics of helminth parasites of pigs on continuous pasture: *Ascaris suum* and *Trichuris suis*. *Int. J Parasitol.*, 27: 563–572. 1997.
- Schley L, Roper T. Diet of wild boar *Sus scrofa* in Western Europe, with particular reference to consumption of agricultural crops. *Mamm. Rev.*, 33: 43–56. 2003.
- 食品安全委員会・動物用医薬品評価書 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症（アジュバント・油性アジュバント加）不活化ワクチン（エムパック）. p4. 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会. 2013.
- Signoret JP, Baldwin BA, Fraser D, Hafez ESE. The Behaviour of Swine. In: *The behaviour of Domestic Animals* (Hafez ESE eds.) 295–329. Bailliere-Tindale, London. 1975.
- Song Y, Liu C, Finegold SM. Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70: 6459–6465. 2004.
- Stolba A, Wood-Gush DGM. The behaviour of pigs in a semi-natural environment. *Anim. Prod.*, 48: 419–425. 1989.
- Studnitz M, Jensen MB, Pedersen LJ. Why do pigs root and in what will they root? *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 107: 183–197. 2007.
- Tozawa A, Tanaka S, Sato S. The effects of components of grazing system of fattening pigs. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 29: 428–435. 2016.
- Wemelsfelder F, Haskell M, Mendl MT, Calvert S, Lawrence AB. Diversity of behaviour during novel object tests is reduced in pigs housed in substrate-impovertished conditions. *Anim. Behav.*, 60: 385–394. 2000.
- Yagihashi T, Kazama S, Tajima M. Seroepidemiology of mycoplasmal pneumonia of swine in Japan as surveyed by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet. Microbiol.*, 34: 155–166. 1993.
- 八木橋 武, 山本孝史. マイコプラズマ病（Ⅵ 細菌病・真菌病の項）. 柏崎 守, 久保正法, 小久江栄一, 清水実嗣, 出口栄三郎, 古谷 修, 山本孝史編. 豚病学：生理・疾病・飼養. 第4版. 377–386. 近代出版. 東京. 1999.
- Yonezawa T, Takahashi A, Imai S, Okitsu A, Komiyama S, Irimajiri M, Matsuura A, Yamazaki A, Hodate, K. Effects of outdoor housing of piglets on behavior, stress reaction and meat characteristics. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 25: 886–894. 2012.
- 吉本 正. マメ科牧草利用による豚の飼養とその肉質. 日豚会誌, 37: 6–10. 1969.

Effects of pasturing system on behaviour, lung disease, enteric bacteria and back fat skatole in fattening pigs

Akitsu TOZAWA¹, Toshiyoshi TAKAHASHI², Shusuke SATO^{1,a}

¹Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Osaki, Miyagi 989-6711, Japan

²Faculty of Agriculture, Yamagata University, Tsuruoka, Yamagata 997-8555, Japan

Present Address :

^aFaculty of Life and Environmental Sciences, Teikyo University of Science, Adachi-ku, Tokyo 120-0045, Japan

Corresponding : Shusuke SATO

2-2-1 Senju Sakuragi, Adachi-ku, Tokyo, 120-0045

Tel : +81 (0) 3-6806-1259, e-mail : shusato@ntu.ac.jp

Forty four castrated male pigs were allocated to the indoor intensive system (15 heads), the outdoor pasturing system with concentrate feeds (15 heads), and the outdoor pasturing system with fermented total mixed rations (14 heads) to examine welfare and health of pigs in the pasturing systems. The time budget of normal behaviour, the prevalence rate and invasiveness of *Mycoplasma hyopneumoniae* (MPS), the number of enteric bacteria and *Clostridium* spp. in feces, and skatole content in backfat were investigated in pigs in each system. Pigs spent 8.9–10.1 % of daytime in feeding on concentrates in the indoor intensive system, whereas they spent 24–42 % in foraging on concentrates or mixed rations and plants and soil in the outdoor pasturing systems. In addition, pigs in the outdoor pasturing systems spent 14–22 % of daytime in exploring including the appetitive foraging behaviour. The prevalence rate and invasiveness of MPS were not different between the indoor and the pasturing pigs. The total number of enteric bacteria and the ratio of *Clostridium* spp. were lower in the pasturing pigs than in the indoor pigs. Skatole content in backfat was below the detection limit in 80 % of pigs in the pasturing system, but in only 50 % of pigs in the indoor system. In conclusion, the outdoor pasturing system improves animal welfare and produces high-value pork in fattening pigs.

Keywords : animal welfare, *Clostridium* spp., pig, porcine mycoplasma pneumonia, skatole