メカブを利活用した豚の育成率向上飼育技術の開発(第2報)

武田 真城・八木 智子・平田 真樹 1・森松 文毅 1・新居 雅宏

要 約

飼料価格の高騰は生産コストの増大を招いており、その対策は養豚業の安定経営にとって喫緊の課題となっている。近年、生産コスト低減を目指した未利用資源の活用例が多数報告されている。ワカメ養殖により副次的に生産されるメカブは大部分が廃棄されているが、豚の腸内細菌叢改善及び免疫活性化効果があることが示唆されている。本研究では疾病対策にかかるコスト低減を目指し、メカブを利活用した豚の飼育技術を開発するため、メカブ給与が発育成績及び腸内細菌叢に与える影響を調査した。発育成績は試験区と対照区間で有意差はなく、メカブ給与による負の影響は認められなかった。腸内細菌叢では腸内環境のバランス調整に重要な役割を果たす短鎖脂肪酸の産生菌であるAcetitomaculum 属及びLachnospira 属の占有率が9週齢時に試験区で有意に高かった。以上より、メカブ給与により、豚の発育成績に影響を与えずに腸内細菌叢を改善できる可能性が示された。

目 的

飼料価格の著しい高騰は生産コストの増大を招き、その対策は養豚業の安定経営にとって喫緊の課題となっている。近年、生産コストを削減する手法として未利用資源の活用事例が注目を集めており、研究例が多数報告されている 1)2)。

徳島県では、令和4年度に養殖ワカメが約3,800 t 生産され³⁾、特産品「鳴門わかめ」として全国3 位のシェアを誇っている。ワカメは葉体が食用部位として使用される一方で、胞子葉であるメカブは廃棄されることが多く、その処理費用が漁業者の負担となっている。

Shimazu et al. (2019) は、離乳後の子豚及び肥育豚にワカメ茎乾燥粉末を 1%混合した飼料を給与することで、羊赤血球 (SRBC) 接種後の全白血球中の NK 細胞の割合が給与しない場合よりも有意に増加したことを報告している。さらに、子豚では腸内細菌叢における乳酸菌の割合が給与しない場合の約 7 倍に増加することも示されている 40。また、肥育豚でも試験区では1日平均増体重(ADG)

が対照区よりも有意に高くなるとともに、末梢血細胞傷害性リンパ球 T 細胞及び末梢血 NK 細胞の割合が給与しない場合よりも有意に増加することを報告している4。

ワカメには、機能性成分であるフコイダンが含まれており、メカブはワカメの中でも特に含有量が多い部位である 5)。Shimazu et al. (2019) は免疫応答及び腸内細菌叢の変化はフコイダンによるものと推察していることから、メカブもワカメ茎同様の効果が期待できる。メカブを免疫機能の活性化や腸内細菌叢の改善に利用できれば、疾病対策にかかるコストの低減につながり、メカブを有効活用することで処理費用の低減により漁業者の負担軽減につながる。

一方で、腸内細菌叢は母豚の腸内細菌叢のや豚舎の環境の等、様々な要因に影響を受けることが知られており、ワカメ茎やメカブの給与による豚の腸内細菌叢改善効果が安定的に得られるかについては疑問が残る。飼料添加物としてメカブの普及を図っていく上では、異なる環境下においてワカメ

茎やメカブを給与した知見の集積が必要となる。

徳島県では、特産品である「鳴門わかめ」の未利 用部位であるメカブを活用した豚の育成率向上飼 育技術の開発に取り組んでおり⁸⁾、メカブ乾燥粉末 の給与が離乳後の子豚の発育成績及び腸内細菌叢 へ及ぼす影響に関する知見が得られたので報告す る。

材料および方法

1) 供試豚及び飼育条件

供試豚は、同一の母豚から得られた WL 交雑種を用い、各試験区で 5 個体ずつ (去勢雄 2 個体、雌 3 個体)の群飼とした。 3 週齢の離乳時まで当試験場の慣行法で飼育し、試験用の隔離豚舎に移動させた後、5 週齢時より試験を開始した。試験期間は令和 5 年 7 月 31 日から 10 月 23 日までの85 日間実施し、供試豚が17 週齢時に終了した。なお、試験期間中は不断給餌及び自由飲水とした。

2) 給与飼料

メカブ乾燥粉末は福岡ら(2022)が作製し,真空保存していたものを使用した。メカブ乾燥粉末を抗菌性物質及び生菌剤無添加飼料に 1%混合したものを,メカブ乾燥粉末混合飼料とした。試験区にはメカブ乾燥粉末混合飼料を,対照区には抗生剤無添加飼料を給与した。

3) 調査項目

(1) 発育成績

発育成績は、各試験区の平均体重及び1日平均 増体重(ADG)の平均値、総飼料摂取量、飼料要求 率を評価した。試験開始時から終了時まで1週間 毎に供試豚の体重測定を行い、平均体重及び平均 ADGを算出した。飼料要求率は、試験期間中の増 体重を給与した飼料量で除して求めた。

(2) 腸内細菌叢

採便は5週齢時(試験開始前)及び9週齢時,

13 週齢時、17 週齢時に行った。保定または体重測定器に収容した豚の肛門を綿棒で刺激し、排出された便をシャーレで受け止め、調整した保存液(4 M guanidine thiocyanate;100 mM Tris-HCl [pH=9.0];40 mM EDTA)へ採便管のさじを用いて入れた後に氷上で保管した。糞便からの DNA 抽出及び PCR、DNA の調整法は福岡ら(2022)と同様である。調整した DNA は、次世代シーケンサーによる 16S rRNA 遺伝子配列解析に供した。塩基配列データは、Qiime2⁹によって塩基配列のフィルタリング及び多様性解析、個体間の腸内細菌叢の類似度比較を行った。さらに、MaAsLin2¹⁰により試験区と対照区間で占有率の異なる菌を調査した。

4) 統計解析

発育成績は、統計ソフト R¹¹⁾を用いてウェルチの t 検定により比較した。一方で、腸内細菌叢は Shannon 及び Chao、Simpson の多様度指数を算出し、Mann-Whitney の U 検定により比較した。

結果および考察

1) 発育成績

試験終了時の発育成績を表 1 に示し、各週齢の平均体重及び平均 ADG を図 1 及び図 2 に示す。いずれの週齢でも 2 群の平均体重の間に有意差は認められなかったが、平均 ADG は 12 週齢時と 14 週齢時に対照区が有意に高く (p < 0.05)、 13 週齢時に試験区が有意に高かった (p < 0.01)。

本研究では、一部の期間において ADG の平均値間に有意差が認められたが、平均体重には有意差が認められなかった。また、総飼料摂取量や飼料要求率も試験区と対照区で同程度であり、1%であればメカブ乾燥粉末を飼料添加物として給与しても発育成績に負の影響を及ぼさないことが示された。

一方で、Shimazu et al. (2019) はワカメ茎乾燥粉末を 1%混合した飼料を 70 kg の肥育豚に給与することで ADG が約 100 g 増加することを報告している。本研究は供試豚の平均体重が 70 kg に達する前に終了したため、肥育豚における増体改良効果を検証することはできなかったが、肥育期の豚に給与した場合に、ADG へ及ぼす影響は検証すべき課題である。

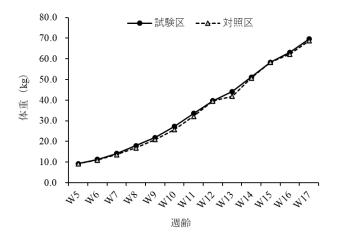


図 1. 平均体重の推移

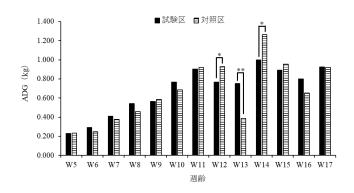


図 2.平均 ADG の推移

*: p < 0.05, **: p < 0.01

表 1. 試験終了時の発育成績

	平均体重(kg) 総飼料摂取量	(kg)	飼料要求率
試験区	6	9.6	700.5	2.32
対照区	6	8.8	674.0	2.27

2) 腸内細菌叢

試験終了時の多様性指数を表 2 に示す。Shannon

及び Chao、Simpson のいずれの多様度指数でも、 試験区と対照区間に有意差は認められなかった。

Weighted unifrac distance を用いて主座標分析を行った結果を図3に、PERMANAOVAによって統計解析を行った結果を表3に示す。5及び13、17週齢時には試験区と対照区間に有意差は認められなかったのに対し、9週齢時には試験区と対照区間に有意な差異が検出された(q < 0.05)。また、5週齢時の試験区及び対照区の両区とも、9及び13、17週齢時の各区とは有意に異なる分布であったが(q < 0.05)、13及び17週齢時の両区の間には有意差は認められなかった。

PERMANOVA により有意差が検出された9週齢 時について, 試験区と対照区間で占有率が異なる 腸内細菌を解析した結果, 試験区では対照区より も Acetitomaculum 属及び Lachnospira 属の占有率が 高く, Terrisporobacter 属及び Horsej-a03 属, Clostridium 属の占有率が低かった (図 4 - 8)。 Acetitomaculum 属及び Lachnospira 属は9週齢時以 外では有意差は認められなかったものの,13 及び 17 週齢時も試験区の中央値が対照区よりも高い値 で推移した。一方で、Terrisporobacter 属及び Horseja03 属は9週齢時に有意差が認められたものの(p < 0.05), 13 及び 17 週齢時には試験区よりも対照 区の中央値が高くなっていた。また、Clostridium 属 は 5 週齢時にも対照区より試験区の中央値が有意 に高かった (p < 0.05)。なお、本研究では、試験区 と対照区間で占有率の差が大きかった乳酸菌とし て Ligilactobacillus 属の占有率を解析したが、試験 区と対照区間で有意差は認められなかった。

本研究では、Weighted unifrac distance 解析の結果、5 週齢時の菌種の組成が試験開始後のいずれの組成とも異なっていた。離乳時期には子豚の食餌が母乳から固形飼料へ切り替えられることで腸内細菌叢が大きく変化することが知られている 12,5 週

齢時の採便日は離乳 10 日後であったため、離乳前の菌種の影響が残っていたことで、試験開始後の菌種組成とは大きく異なっていたと考えられる。一方で、9 週齢時には試験区と対照区間で菌種組成が有意に異なっており、Acetitomaculum 属及びLachnospira 属の占有率が試験区で有意に高かった。これらは短鎖脂肪酸産生菌であり、短鎖脂肪酸は腸内細菌叢のバランス調整及び腸上皮細胞の機能維持に重要な役割を果たしている「3」。このことから、メカブ粉末の給与は、Acetitomaculum 属及びLachnospira 属の増加を通じて腸内環境を改善し、豚の健全な発育に寄与する可能性がある。

一方で、Terrisporobacter 属及び Horsej-a03 属は 9 週齢時に対照区の中央値が試験区よりも有意に高かったが、これらの菌属は 13 週齢時以降に試験区の中央値が対照区よりも高くなっており、9 週齢時に検出された有意差は一時的な菌種組成のばらつきの影響によるものと考えられた。また、Clostridium 属でも 9 週齢時に有意差が認められたが、試験開始前の 5 週齢時にも有意差が認められていることから、メカブ乾燥粉末給与の影響によるものではないと考えられた。

本研究では、Shimazu et al. (2019) とは異なり Lactobacillus 属の増加は認められなかった。豚の腸内細菌叢のや豚舎の環境でに加え、豚の遺伝的背景にも影響を受けることが示されている ¹⁴⁾。Shimazu et al. (2019) は全ての試験においてデュロック種を使用したが、本研究では WL 交雑種を用いた。これらの品種は遺伝的背景が大きく異なっており、本研究でも影響を及ぼした可能性は否定できない。この可能性については、デュロック種を用いた試験により検証が可能であると考えられる。

本研究では徳島県の未利用資源であるメカブの 給与が豚の発育成績及び腸内細菌叢に及ぼす影響 を調査した。その結果、メカブ粉末を 1%飼料添加 することで豚の発育成績を損なわずに腸内細菌叢 を改善できる可能性が示された。

表 2. 試験終了時の多様度指数

	Shannon	Chao	Simpson
試験区	7.15 ± 0.26	544.01 ± 62.58	0.97 ± 0.01
対照区	7.08 ± 0.20	542.38 ± 28.47	0.97 ± 0.00

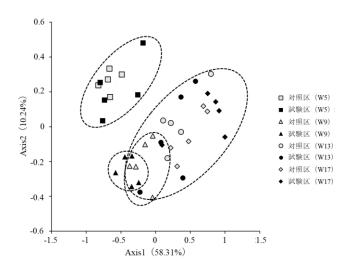


図 3. 主座標分析によるプロット図*点線は PERMANOVA に基づくグルーピングを表す。

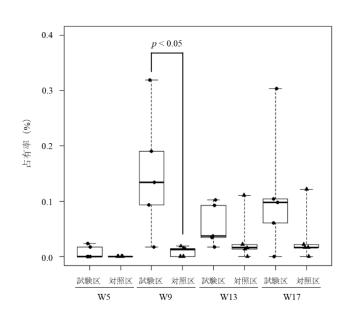
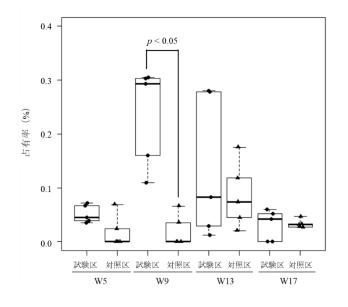


図 4. Acetitomaculum 属の占有率比較



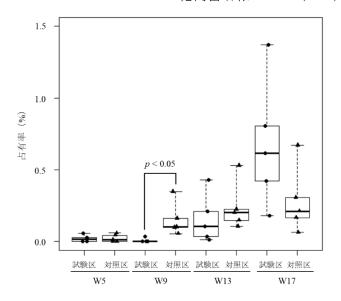


図 5. Lachnospira 属の占有率比較

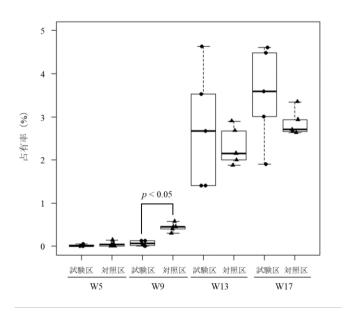


図 6. Terriporobacter 属の占有率比較

図 7. Horsej-a03 属の占有率比較

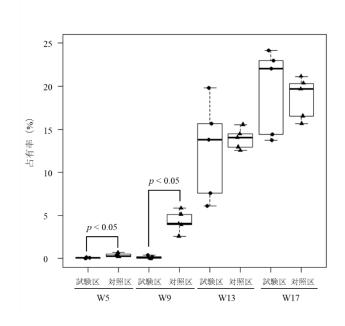


図 8. Clostridium 属の占有率比較

表 3. PERMANOVA により算出した p 値

-	試験区	(W5) 対照区	(W5)	試験区	(W9)	対照区	(W9)	試験区	(W13)	対照区	(W13)	試験区	(W17)	対照区	(W17)
試験区 (W5)	-														
対照区 (W5)	0.17	-													
試験区 (W9)	0.02*	0.02*		-											
対照区(W9)	0.02*	0.02*		0.03*		-									
試験区 (W13)	0.02*	0.02*		0.02*		0.02*		-							
対照区 (W13)	0.02*	0.02*		0.03*		0.02*		0.78		-					
試験区 (W17)	0.02*	0.02*		0.02*		0.02*		0.08		0.08		-			
対照区 (W17)	0.02*	0.02*		0.02*		0.02*		0.09		0.09		0.27		-	

^{*:} p < 0.05

文献

- 矢後啓司・青木稔・峰崎洋通・仲澤慶紀・川波 充・広瀬和男・神田満・菅野二郎王・永原則之.
 (2002). 未利用資源の有効利用に関する研究 発酵乾燥資材の豚給与試験. 神畜研研報. 89: 15-18.
- 稲垣望・後藤雅昭・仁田坂俊輔・志村英明. (2020). 未利用資源 (モヤシサイレージ) を利用した豚の低コスト肥育技術の確立. 大分県農林水産研究指導センター研究報告. 49. https://www.pref.oita.jp/uploaded/attachment/2123584.pdf
- 3) 農林水産省. 令和 4 年漁業・養殖業生産統計. https://www.maff.go.jp/j/tokei/kekka_gaiyou/gyog you_seisan/gyogyou_yousyoku/r4/
- 4) Shimazu, Y., Borjigin, L., Katoh, K., Roh, SG., Kitazawa, H., Abe, K., Suda, Y., Saito, H., Kunii, H., Nihei, K., Uemoto, Y., Aso, H. and Suzuki, K. (2019). Addition of Wakame Seaweed (*Undaria pinnatifida*) stalk to animal feed enhances immune response and improves intestinal microflora in pigs. *Anim. Sci. J.* 90: 1248-1260.
- 5) 森山充. (2020). 福井県雄島周辺における低利用海藻の粘質多糖含量. Journal of FisheriesTechnology. 13 (1): 9-12.
- 6) Chen, W., Ma, J., Jiang, Y., Deng, L., Lv, N., Ga, J., Cheng, J., Liang, J., B., Wang, Y., Lan, T., Liao, X. and Mi, J. (2022). Selective maternal seeding and rearing environment from birth to weaning shape the developing piglet gut microbiome. *Front Microbiol.* 13: 795101.
- Uryu, H., Tsukahara, T., Ishikawa, H., Oi, M., Otake, S., Yamane, I. and Inoue, R. (2020). Comparison of productivity and fecal microbiotas of sows in commercial farms. *Microorganisms*. 8: 1469.

- 8) 福岡まどか・飯塚悟・平田真樹・森松文毅・新居雅宏. (2022). メカブを利活用した豚の育成率向上飼育技術の開発(第1報). 徳島畜研報. 21:14-19.
- 9) Bolyen, E., Rideout, J., R., Dillon, M., R., Bokulich, N., A., Abnet, C., C., Alghalith, G., A., Alexander, H., Alm, E., J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J., E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C., J., et al. (2019). Reproduce, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME2. Nat. Biotechnol. 37: 852-857.
- 10) Mallick, H., Rahnavard, A., Mclver, L., J., Ma, S., Zhang, Y., Nguyen, L., H., Tickle, T., L., Weingart, G., Ren, B., Schwager, E., H., Chatterjee, S., Thompson, K., N., Wilkinson, J., E., Subramanian, A., Lu, Y., et al. Multivariable association discovery in population-scale meta-omics studies. PLos Comput. Biol.
- 11) R Core Team. https://www.R-project.org/.2020.
- 12) Franklin, M., A., Mathew, A., G., Vickers, J., R. and Clift, R., A. (2002). Characterization of microbial populations and volatile fatty acid concentrations in the jejunum, ileum, and cecum of pigs weaned at 17 vs 24 days of age. *J. Ani. Sci.* 80 (11): 2904-2910.
- 13) Liu, Z. and Yin, B. (2022). Alterations in the gut microbial composition and diversity of Tibetan sheep infected with Echinococcus granulosus. *Front. vet. sci.* 8:778789.
- 14) Lu, D., Tiezzi, F., Schillebeeckx, C., McNulty, N., P., Schwab, C., Shull, C. and Maltecca, C. (2018). Host contributes to longitudinal diversity of fecal microbiota in swine selected for lean growth. *Microbiome*. 6 (1): 1-15.