短 報

暑熱環境下におけるグルコースおよび
多糖類分解性酵素の給与が肥育豚の発育成績,
飼料の消化率および酸化ストレスに及ぼす影響

芦原 茜・石田藍子・京谷隆侍*・勝俣昌也

(独)農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所, 茨城県つくば市, 305-0901

*現住所) 福島県農業総合センター畜産研究所, 福島県福島市, 960-2156

(2013 年 12 月 2 日受付, 2014 年 2 月 27 日受理)

緒 言

地球温暖化が現在のスピードで進行したとき、2060 年の 7, 8 月には、関東以西における肥育豚の増体が現在と比較して 15~30% 低下すると予測されている(高田ら, 2008)。夏季における増体量の低下は、飼料摂取量が低下することによって生じる(HEITMAN ら, 1958; HOLMES, 1973; NIENABER ら, 1987; MYER and BUCKLIN, 2001; COLLIN ら, 2001)。これは、暑熱による体温上昇が関与している。恒温動物は、通常体熱が産生されるのと同様速度で放熱することによって、体熱平衡を維持する(山本, 1992)。暑熱環境下では体温が上昇するため、肥育豚は呼吸による放熱によって体熱平衡を保とうとする(INGRAM and LEGGE, 1970; QUINIOU ら, 2001; PATIENCE ら, 2005)。しかし、体内に蓄熱できる量には限度があるため、暑熱環境下で放熱が不十分になると体温が上昇し、体熱の産生を阻止しようとして飼料摂取量が低下する(KERR ら, 2003)。これらのことから、暑熱環境下では増体が遅延し生産性が低下する。

これまでに、岩崎ら(1997; 1998; 2000)は、暑熱環境下でブロイラーにグルコースを添加した水を給

与することにより、増体抑制が緩和されたことを報告している。このとき、直腸温度の上昇が緩和されたが、グルコースを混合した飲水の摂取量が増加したことにより、エネルギーとしてグルコースが利用され、呼吸数を高いレベルで維持し、放熱を持続できたことがその一因ではないかと考察している。また、ZHOU ら(1998)は、ブロイラーを用いた実験で、グルコースを混合した飲水を暑熱環境下で給与すると、血流量の低下や全血粘度の変化を緩和できると報告している。このことから、暑熱環境下でブロイラーにグルコースを添加した飲水を給与すると、水分代謝調節機構が正常に機能し直腸温度の上昇が緩和した可能性が考えられる。暑熱環境下におけるブロイラーへのグルコース給与は、増体を改善し、体温の上昇を緩和させるのに有効であると考えられる。しかし、暑熱環境下で肥育豚にグルコースを給与した報告はこれまでにないため、肥育豚でもブロイラーと同様の効果が得られるかを確認する必要がある。

暑熱環境下では、ストレスの増加による消化能の低下(松本ら, 2008; BRESTENSKY ら, 2012)が増体を抑制させるため、消化能を増加させることも暑熱対策の 1 つとして重要であると考えられる。大和ら

Effects of Glucose and Polysaccharide-Degrading Enzyme Supplementation to Diet at a High Ambient Temperature on Growth Performance, Feed Digestibility and Oxidative Stress of Growing Pigs

Akane ASHIHARA, Aiko ISHIDA, Takahito KYOYA and Masaya KATSUMATA

Key words : heat environment, glucose, oxidative stress, growing pig

連絡者: 芦原 茜 (E-mail : akanee@affrc.go.jp TEL. 029-838-8656)

(1998) は、ペクチナーゼ主体の多糖類分解性酵素を飼料に添加し肥育豚に給与することにより、糞中窒素排泄量および糞乾物量が減少し、飼料の消化率が上昇したことを報告している。このことから、肥育豚に多糖類分解性酵素を併せて給与することにより、飼料の消化性を改善し、豚の消化能が低くなる暑熱環境下でも飼料の消化率を維持できないかと考えた。

以上から、本実験では、暑熱環境下で肥育豚にグルコースおよびペクチナーゼ主体の多糖類分解性酵素を添加し給与することにより発育成績および飼料の消化率について検討し、さらに暑熱ストレスの指標として酸化ストレス (SANDERCOCK ら, 2001; ALTAN ら, 2003; LIN ら, 2006) に及ぼす影響について調査した。

材 料 と 方 法

本試験は、畜産草地研究所動物実験指針に従って計画し、畜産草地研究所動物実験委員会の審査、承認を得て行った。

供試動物は、LWD 種去勢雄豚 18 頭 (7 腹: 23℃ 4 腹, 30℃ 3 腹) を用いた。8 週齢に到達した時点で同腹から 2 頭あるいは 4 頭ずつ選び、環境温度別にそれぞれ反復を繰り返して試験を行った。環境温度 23℃ に設定した空調室に移動し、2 週間の予備飼育を行った。供試動物は、予備飼育時から代謝ケージ (120 cm×96 cm) で単飼し、不断給餌、自由飲水とした。試験は、10 週齢 (平均体重 39 kg) になった時点で開始した。環境温度は 23℃ と 30℃ の 2 水準、グルコースは添加 (5%) と無添加の 2 水準、計 4 試験区とした。グルコースを添加した飼料には、キシラナーゼ、ペクチナーゼの複合酵素である多糖類分解性酵素 (キシラナーゼ 400 単位/g, ペクチナーゼ 12,000 単位/g 含有, ニッチク薬品工業) を 0.06% 添加した。飼料は、トウモロコシと大豆粕を主体とし、グルコース+多糖類分解性酵素区にはトウモロコシの 5% 代替でグルコースを添加した (対照区: トウモロコシ 78%, 大豆粕 17%, 粗タンパク質含量 14.3%, 総エネルギー含量 3.39 Mcal/kg, グルコース+多糖類分解性酵素区: トウモロコシ 73%, 大豆粕 17%, グルコース 5%, 粗タンパク質含量 14.5%, 総エネルギー含量 3.37 Mcal/kg)。各飼料には酸化クロムを 0.1% 添加した。週 1 回体重および飼料摂取量を測定した。併せて、週 1 回 9 時および 16 時に、体温計で直腸温度を測定した。試験期間は 4 週間と

し、実験開始後 22 日から 25 日の 3 日間に部分尿を採取した。部分尿は、酸化ストレスマーカーである 8-ヒドロキシ-デオキシグアノシン (8-OHdG) の測定に用い、New 8-OHdG Check (ELISA キット, 日本老化制御研究所) で測定した。なお、8-OHdG の測定は、日内変動が少なく尿中に一定量含有するクレアチニンあたりの量で示した。クレアチニンはラボアッセイTMクレアチニン (Jaffe 法, 和光純薬工業) で測定した。また、実験開始後 26 日から 28 日の 3 日間に部分糞を採取した。糞は、凍結乾燥機で凍結乾燥し、粉碎して分析に供した。飼料摂取量あたりの消化率の算出は、酸化クロムの回収率を 100% とした指示物質法により行った (武政, 1992)。

供試豚が 14 週齢になった時点で、約 220 V で 5 秒間の電気ショックを与えて失神させた後、頸動脈から放血してと畜した。放血時に採血し、その後体長 1/2 部位の右側の胸最長筋を採取した。胸最長筋は、分析に供するまで -80℃ で凍結保存した。得られた血液から、遠心分離 (800×g, 10 分間, 4℃) によって血漿を得た。当日中に、血球中スーパーオキシドディスムターゼ (Superoxide Dismutase, SOD) 活性、血漿中総抗酸化能 (Total Antioxidant Status, TAS) および血漿中スルフヒドリル基 (Sulfhydryl H, SH 基) を測定した。血球中 SOD 活性の測定には、SOD 測定キット (RANSOD, Randox Laboratories Ltd.) を用いた。スーパーオキシドラジカルは INT [2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyl-tetrazolium chloride] と反応し赤色に呈色され、SOD 活性はこの赤色呈色を阻止する割合によって算出した。血漿中 TAS は、TAS キット (Randox Laboratories Ltd.) を用い、6-ヒドロキシ-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-2-カルボン酸 (トロロックス) をスタンダードとしてラジカル消去能を測定することによりトロロックス当量として評価した。また、血漿中 SH 基濃度の測定は、ELLMAN ら (1959) の方法を用いた。血漿中 2-チオバルビツール酸 (TBARS) の測定は、-45℃ で凍結保存した血漿を使用し、YAGI (1984) の方法で、蛍光分光光度計 F-4500 (日立) を使って励起波長 515 nm, 蛍光波長 500~600 nm で測定した。胸最長筋は、解凍した後細断し、WITTE ら (1970) および MITSUMOTO ら (1993) の方法に従って、TBARS 値の測定を行った。筋肉中 TBARS 値は紫外可視分光光度計 UV-2450 を使って、532 nm における吸光度を測定した。なお、標準物質はテトラエトキシプロパンを用い、TBARS 値

はマロンジアルデヒド (MDA) 当量で示した。

発育成績, 酸化ストレスマーカーおよび直腸温度の結果は, SAS (SAS version 9.2, SAS Institute) の GLM プロシジャを用いて, 環境温度とグルコース + 多糖類分解性酵素を固定効果, 腹をランダム効果とした反復測定混合モデルを用いた。環境温度およびグルコースの効果が有意 ($P < 0.05$) な時は, SAS の GLM プロシジャの LSMEAN ステートメントを用いて, 最小有意差法で平均値間の差の検定を行った。

結果および考察

試験開始時体重, 試験終了時体重, 飼料摂取量, 可消化エネルギー摂取量, 日増体量, 飼料効率, 乾物消化率および窒素吸収率を表 1 に示した。飼料摂取量, 試験終了時体重, 可消化エネルギー摂取量, 日増体量および乾物消化率は暑熱環境下で減少した ($P < 0.05$) が, グルコースと多糖類分解性酵素の給与はこれらの項目に影響しなかった。岩崎ら (1997; 1998; 2000) は, 暑熱環境下でプロイラーにグルコースを添加した水を給与することにより, 増体抑制が緩和されたことを報告している。しかし, 本実験ではグルコース給与による増体への影響はなかった。このことから, 飼料にグルコースを添加する場

合と飲水にグルコースを添加する場合では効果が異なるのかもしれない。飼料効率は環境温度およびグルコースと多糖類分解性酵素添加のいずれの影響も受けなかった。窒素吸収率は暑熱環境下で低下し ($P < 0.05$), グルコース + 多糖類分解性酵素区で高かった ($P < 0.05$)。この結果は, キシラナーゼとペクチナーゼの複合酵素である多糖類分解性酵素を給与したためと考えられる。大和ら (1998) も, 多糖類分解性酵素を肥育豚に給与することにより, 窒素吸収率が増加したことを報告しており, 結果が一致した。このことは, 多糖類分解性酵素により飼料の主成分であるトウモロコシや大豆粕などの植物細胞の細胞壁の成分が壊れやすくなったため, 粗タンパク質が効率よく消化された可能性を示唆している。以上から, 暑熱環境下では, 肥育豚の消化能が低下するものの, 多糖類分解性酵素の給与によって飼料の消化性が改善され, 窒素の吸収率が高くなった可能性が示された。

試験開始後 1 週目から 4 週目までのいずれの測定タイミングでも, 午前 9 時および午後 4 時ともに暑熱環境下での直腸温度が適温下より高かった ($P < 0.05$) が, グルコースと多糖類分解性酵素の給与による影響はなかった (データは示していない)。ZHOU ら (1998) は, 暑熱環境下でプロイラーにグル

Table 1. Effects of glucose and polysaccharide-degrading enzyme supplementation to diet on growth performance of pigs fed under high ambient temperature

	23°C		30°C		SEM	P		
	Con	G + Enz	Con	G + Enz		Temperature	treat	Temperature × treat
Initial body weight (kg)	38.5	36.9	38.5	40.0	0.93	NS	NS	NS
Final bodyweight (kg)	67.1	63.6	60.3	61.0	1.35	*	NS	NS
Feed intake (kg/day)	2.31	2.12	1.84	1.94	0.08	*	NS	NS
Digestible energy intake (Mcal/day)	9.5	10.0	7.3	8.0	0.34	*	NS	NS
Daily gain (kg/day)	0.99	0.92	0.77	0.74	0.03	*	NS	NS
Feed efficiency ratio	0.45	0.49	0.48	0.45	0.02	NS	NS	NS
Dry matter digestibility (%)	92.3	92.2	91.2	91.5	0.23	*	NS	NS
Nitrogen absorption rate (%)	85.4	87.1	83.7	84.8	0.71	*	*	NS

Con ; control, G+Enz ; glucose and polysaccharide-degrading enzyme

* ; significantly different at $P < 0.05$

NS ; not significant

Table 2. Effects of glucose and polysaccharide-degrading enzyme supplementation to diet on the concentrations of the oxidative stress markers under high ambient temperature

	23°C		30°C		SEM	<i>P</i>		
	Con	G + Enz	Con	G + Enz		Temperature treat	Temperature × treat	
SOD (U/mol)	6.7	6.6	15.6	14.5	1.52	*	NS	NS
SH (nmol/l)	503.8	538.0	631.2	498.2	25.9	NS	NS	NS
TAS (mmol/l Trolox equivalent)	1.08	1.09	1.05	1.02	0.05	NS	NS	NS
8-OHdG/creatinine (ng/ml/ml)	0.07	0.08	0.13	0.12	0.01	*	NS	NS
plasma TBARS (nmol/MDA ml)	19.3	18.9	19.4	20.3	0.8	NS	NS	NS
muscle TBARS (mg MDA/g)	11.7	10.2	22.8	26.9	2.2	**	NS	NS

Con ; control, G+Enz ; glucose and polysaccharide-degrading enzyme

SOD ; superoxide dismutase, SH ; glutathione, TBARS ; thiobarbituric acid reactive substances, 8-OHdG ; 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, TAS ; total antioxidant status

* ; significantly different at $P<0.05$, ** ; significantly different at $P<0.01$

NS ; not significant

コースを混合した水を給与すると、全血粘度や血漿浸透圧の変化が緩和されたことを報告している。岩崎ら（2000）も、暑熱環境下でブロイラーにグルコースを混合した水を給与すると、対照区に比べ飲水量が約 70% 増えたことを報告している。グルコースを飲水に混合する場合は、飲水量が増加し、その結果血流量も増加、全血粘度は高くなり、水分代謝調節機構が正常に機能するため、体温上昇を緩和できる可能性が考えられる。一方、本実験では飲水量は測定していないため不明であるが、暑熱環境下で増加したと推察される。しかし、飼料にグルコースを混合して給与したため、水分代謝調節機構は影響を受けず、体温上昇を緩和できなかったと考えられた。

酸化ストレスマーカーである血漿中総抗酸化能 (TAS)、血漿中スルフヒドリル (SH) 基、全血中スーパーオキシドディスムターゼ (SOD) 活性、血漿中および筋肉中 2-チオバルビツール酸 (TBARS)、尿中 8-ヒドロキシ-デオキシグアノシン (8-OHdG)・クレアチニン比を表 2 に示した。暑熱環境下では全血中 SOD 活性、筋肉中 TBARS、尿中 8-OHdG が増加した ($P<0.05$)。TBARS は、脂質の過酸化によって生じるチオバルビツール酸反応性物質であり、8-

OHdG は DNA を構成する塩基がヒドロキシル化された構造を持つ DNA 酸化損傷マーカーである。いずれも値が高いと活性酸素が体内で多く発生している状態を示している。本実験において、TBARS と 8-OHdG が高かったので暑熱環境下で酸化ストレスが増加したと考えられる。しかし、グルコースと多糖類分解性酵素の給与によって酸化ストレスマーカーは変化せず、酸化抑制の影響はなかった。

暑熱環境下における肥育豚へのグルコースと多糖類分解性酵素の飼料による混合給与は、体温の上昇を抑制せず、また酸化ストレスにも影響を及ぼさないことが明らかとなった。また、暑熱環境下において消化能は低下したものの、多糖類分解性酵素を添加することにより窒素吸収率の低下が緩和できる可能性が示唆された。

文 献

- ALTAN, O., A. PABUCCUOGLU, A. ALTAN, S. KONYALIOGLU and H. BAYEAKTAR : 2003, Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers, *Bri. Poult. Sci.*, **44**, 545-550.
- BRESTENSKY, M., J. HEGER, S. NITRAYOVA and P.

- PATRAS : 2012, Total tract digestibility of nitrogen in pigs exposed to high environmental temperatures, *J. Anim. Sci.*, **90**, 101-103.
- COLLIN, A., J. VAN MILGEN, S. DUBOIS and J. NOBLET : 2001, Effect of high temperature on feeding behavior and heat production in group-housed young pigs, *Bri. J. Nutr.*, **86**, 63-70.
- ELLMAN, G.L. : 1959, Tissue sulfhydryl groups, *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70-77.
- HEITMAN, H., C.F. KELLY and T.E. BOND : 1958, Ambient air temperature and weight gain in seine, *J. Anim. Sci.*, **17**, 62-67.
- HOLMES, C.W. : 1973, The energy and protein metabolism of pigs growing at a high ambient temperature, *Anim. Prod.*, **16**, 117-133.
- INGRAM, D.L. and K.F. LEGEE : 1970, The thermoregulatory behavior of young pigs in a natural environment, *Phys. Behav.*, **5**, 981-987.
- 岩崎和也・伊川玲次・小山博幸・堀河 博・大石隆一 : 1997, 暑熱期のブロイラー生産性に及ぼすグルコース給与の影響, *家禽会誌*, **34**, 394-398.
- 岩崎和也・伊川玲次・鷺尾雄一郎・小山博幸・堀河 博・周維統・山本禎紀 : 1998, 高温下におけるブロイラーの飼料摂取量, 直腸温, 血漿中グルコース濃度, 遊離脂肪酸および熱死発生に及ぼすグルコース給与の影響, *家禽会誌*, **35**, 249-255.
- 岩崎和也・伊川玲二・小山博幸・堀河 博・周 維統・山本禎紀 : 2000, 高温暑熱下におけるブロイラーの体温調節性生理反応に及ぼす飲水によるグルコース給与の影響, *家禽会誌*, **37**, 108-112.
- KERR, B.J., J.T. YEN, J.A. NIENABER and R.A. EASTER : 2003, Influences of dietary protein level, amino acid supplementation and environmental temperature on performance, body composition, organ weights and total heat production of growing pigs, *J. Anim. Sci.*, **81**, 1998-2007.
- LIN, H., E. DECUYPERE and J. BUYSE : 2006, Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens, *Comp. Biochem. Phys.*, **144**, 1-17.
- 松本光史・村上 斉・阪谷美樹・井上寛暁・梶 雄次 : 2008, 暑熱環境が肥育後期豚の深部体温と消化吸収能力に及ぼす影響, *栄養生理研究会報*, **52**, 43-48.
- MITSUMOTO, M., R.N. ARNOLD, D.M. SCHAEFER and R.G. CASSENS : 1993, Dietary versus postmortem supplementation of vitamin E on pigment and lipid stability in ground beef, *J. Anim. Sci.*, **71**, 1812-1816.
- MYER, R. and R. BUCKLIN : 2001, Influence of hot-humid environment on growth performance and reproduction of swine, <http://edis.ifas.ufl.edu/AN107>.
- NIENABER, J.A., G.L. HAHN and J.T. YEN : 1987, Thermal environment effects on growing-finishing swine. Part I—Growth, feed intake and heat production, *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.*, **30**, 1772-1775.
- PATIENCE, J.F., J.F. UMBOH, R.K. CHAPLIN and C.M. NYACHOTI : 2005, Nutritional and physiological responses of growing pigs exposed to a diurnal pattern of heat stress, *Liv. Prod. Sci.*, **96**, 205-214.
- QUINIOU, N., J. NOBLET, J. VAN MILGEN and S. DUBOIS : 2001, Modelling heat production and energy balance in group-housed growing pigs exposed to cold or hot ambient temperatures, *B. J. Nutr.*, **85**, 97-106.
- SANDERCOCK, D.A., R.R. HUNTER, G.R. MITCHELL, M.A. MITCHELL and P.M. HOCKING : 2001, Acute heat stress-induced alterations in blood acid-base status and skeletal muscle membrane integrity in broiler chickens at two ages: implications for meat quality, *Poult. Sci.*, **80**, 418-425.
- 高田良三・山崎 信・杉浦俊彦・横沢正幸・大塚 誠・村上 斉 : 2008, 地球温暖化が肥育豚の飼養成績に及ぼす影響—「気候温暖化メッシュデータ(日本)」によるその将来予測—, *日畜会誌*, **79**, 59-65.
- 武政政明 : 1992, リン酸カリ試薬による酸化クロム定量法の改良, *畜産試験場研究報告*, (**52**), 7-13.
- WITTE, V.C., G.F. KRAUSE and M.E. BAILEY : 1970, A new extraction method for determining 2-thio-barbituric acid values of pork and beef during storage, *J. Food. Sci.*, **35**, 582-585.
- YAGI, K. : 1984, Assay for blood plasma or serum, *Meth. Enzymol.*, **105**, 328-331.
- 大和碩哉・佐藤充徳・山本英二 : 1998, 飼料素材が豚ふん排泄量と肉質に及ぼす影響, <http://farc.pref.fukuoka.jp/farc/seika/seika10/8seino01.htm>
- 山本禎紀 : 1992, 家畜の温熱環境管理に関する研究課題, *日畜会報*, **63**, 743-755.
- ZHOU, W.T., M. FUJITA, S. YAMAMOTO, K. IWASAKI, H. IKAWA and H. HORIKAWA : 1998, Effects of glucose in drinking water on the changes in whole blood viscosity and plasma osmolality of broiler chickens during high ambient temperature, *Jpn. Poult. Sci.*, **77**, 644-647.