

精度の高い評価を可能にする豚の唾液を用いたストレスマーカー測定技術の開発

養豚現場で活用しやすい方法を用いて、豚の唾液を採取・分析することで、唾液中のストレスマーカー（コルチゾール）を測定すると、精度の高いストレス評価が可能である。

農業研究センター畜産研究所中小家畜研究室（担当者：島村 勝則）

研究のねらい

家畜のストレス評価は、従来から行動学的指標が用いられてきたが、近年では血液や唾液中に含まれるストレスマーカーの測定による生化学的評価法が知られている。そこで、養豚技術者や生産者が飼養豚のストレス状況を把握するために、保定不要かつ簡便な唾液採取方法・測定結果の誤差が少ない分析手法を用いた、フィールドで活用しやすいストレス評価方法を開発・確立する。

研究の成果

1. 採材は無保定で行い、ストレス負荷の前後で唾液を採取する（図1）。
2. 汚れが付かないようガーゼを巻いたコットンを用い（図2）、鉗子で保持して十分唾液が浸みこむまで豚にコットンを咬ませる。採取した材料は速やかに氷冷し実験室へ搬入する。汚れが付着したガーゼを外して、コットンを3回遠心分離し、夾雑物を除いて、その上清を検査材料とし（図3）、間接酵素免疫法により450nmの吸光度でコルチゾール値を測定することで、安定した測定値が得られる（図4）。
3. 本技術を用いることで、ストレス負荷の前後でコルチゾール値の上昇を高い精度で測定でき、農場における豚のストレスを客観的数値として評価できる。
4. 唾液を検査材料とするため、豚の保定や採血などのストレスを与えることなく採材ができる。

普及上の留意点

1. コルチゾールの分析は検査材料の採材でストレスをかけないことが重要であり、慎重な採材が必要である。
2. 採材は季節、時間を統一すること。また、試料は氷冷し運搬、前処理後の検査材料を保存する場合は-20℃で冷凍するなど温度管理にも十分な注意が必要である。
3. 検査キットは市販されていないため、測定技術を有する専門機関で実施する必要がある。
4. 本試験は大規模農場の発酵床豚舎で飼養されている肥育豚を用いた試験成績である。



図1 無保定での唾液採取

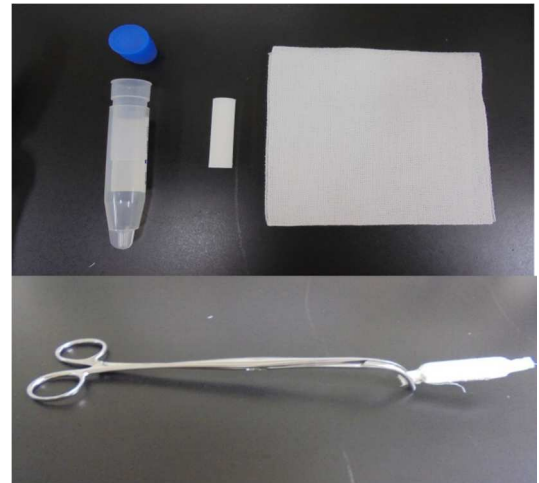
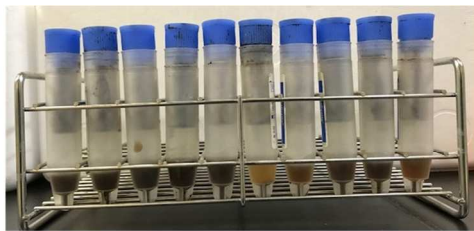
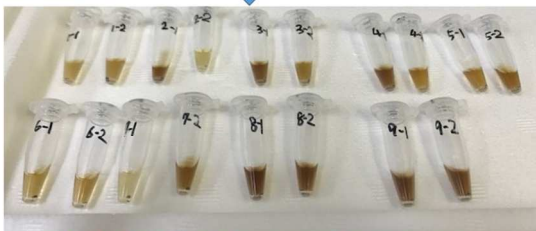


図2 唾液採材用資材



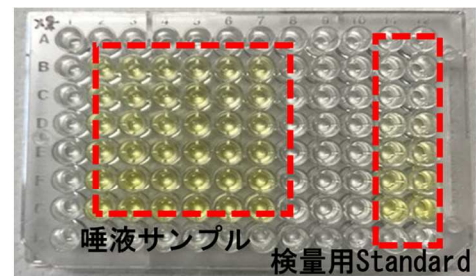
遠心分離 (2500rpm 15min) 1回

↓ 上清分注



遠心分離 (15000rpm 5min) 2回

図3 検体処理方法



- ① Munetaらの方法に従いマイクロプレート上で間接酵素免疫法を実施
- ② 450nmの吸光度で測定
- ③ 検量線により測定値を算出
- ④ 測定値を比較・統計処理(t検定)

図4 コルチゾール測定手順

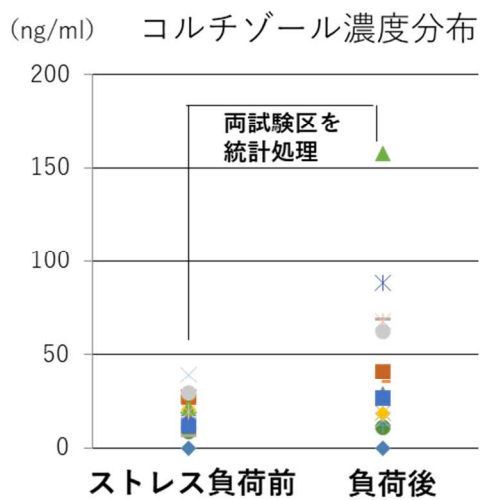


図5 ストレスマーカー測定結果によるストレス評価例