

強制換羽鶏の産卵，卵殻質および血中成分に およぼすクエン酸の影響

富田裕一郎・本坊敏郎・林 国興

(昭和52年8月31日 受理)

Effect of Citric Acid on Egg Production, Egg Shell Quality and Compositions of Blood in Forced Molting Hens

Yūichirō TOMITA, Toshiro HONBO and Kunioki HAYASHI

(Laboratory of Animal Nutrition)

緒 言

一般に，秋になると雌鶏は換羽を始め，産卵をやめ養鶏家にかなりの経済的損失を与える。これらをより少なく押えるために，ここ数年，産卵鶏の強制換羽処理が急速に普及している。強制換羽処理のもたらす効果についてみると更新鶏費用の節減と計画羽数の維持が保たれること，鶏はストレスの少ない換羽休産ができ，休産後産卵成績の向上と，卵重卵質の均一向上が期待できること，鶏卵価格の季節的変動を利用して生産調整すれば増収可能な点などが考えられる。また，米国では強制換羽処理を行い，2年間産卵を継続させる方法もかなり普及している。

強制換羽の実施方法，技術，結果，経済性などについては幾多の報告^{5,6,11,13,14,16)}があるが，生理的機構に関する報告はホルモンのパターンを除いては，極めて少ない。

強制換羽は自然換羽と異なり，換羽期に集中させるか，また換羽期でない時期に人工的に換羽させる方法で，一般に絶食絶水，光量調整，希釈飼料の利用，薬剤の利用等がある。白崎ら²⁾は，各季節毎絶食絶水による換羽処理法を検討し，春期においては絶食8日絶水4日以上，中沢ら⁷⁾は春期に絶食5日絶水3日以上で換羽を誘起できると報告している。

本報はこれらの報告にもとづき，最も手軽にできる絶食絶水方法で処理を行い，この処理によるストレスに対し，また換羽後の産卵に対し，前報¹⁵⁾同様クエン酸の経口投与が，いかなる影響をおよぼすかを見るため，強制換羽処理前，処理後における体重，産卵率，卵重，卵殻質，血中還元型グルタチオン (GSH) 量，

血漿中のカルシウム量，遊離アミノ酸量などの変動について比較検討した。

材 料 と 方 法

1. 供試鶏および飼育方法

500日齢，白色レグホーン種産卵鶏シェーバー系統を産卵率にもとづき30羽を選抜し，さらに23日間予備飼育後，その間の産卵率にもとづき，10羽ずつ3区に分け単飼ケージを用いて試験した。期間中1日1羽当たり100g制限給餌とし，強制換羽処理11日間は絶食としその後1日目は30g/羽給与し，日毎に10gずつ増加させ，処理後8日目まで100g/羽とした。なお，市販飼料（水分9.7%，粗脂肪4.6%，粗蛋白質14.8%，粗繊維3.0%，粗灰分8.0%，NFE 59.9%）を使用した。クエン酸は飲水に溶解し，強制換羽処理による3日間を除き，不断に給水し，毎日飲水量を測定した。なお試験区は，クエン酸0.15% (w/v) 給与のA区，クエン酸0.05% (w/v) 給与のB区，真水を与えた対照のC区の3区とした。

2. 産卵，卵重および体重の測定

産卵は，個体別に毎日記録し，卵重は週1回全卵について，体重は強制換羽処理前，処理1日後，処理2週目に各区の全供試鶏について測定した。

3. 卵殻重量，強度および厚さの測定

強制換羽処理後における卵を各区よりそれぞれ90個を集め，卵殻強度については新興通信工業K.K. TOM/200D型，万能引張圧縮試験機を用いて卵の鈍端を下に置き測定した。卵殻重量は，卵殻膜のついたまま，100°Cで，6時間乾燥後上皿天秤を用いて測定し，卵殻の厚さは，鈍端，尖端および中央部の3ヶ所をダイヤルゲージを用いて測定し，それらの平均値をとった。

本論文の要は，第24回西日本畜産学会（昭和48年10月，長崎）で発表した。

4. 血中成分の定量

(1) 血液の採取法

供試鶏の血液は、強制換羽処理前、処理1日後、処理2週後、5週後のそれぞれの日に、給餌4時間後へパリン溶液でしめらせた注射筒で、翼下静脈採血により得た。これを遠沈管に移し、2000 r.p.m. で10分間遠心して血漿を分離した。このようにして得た血液、血漿を用いて以下の実験を行った。

(2) 血中還元型グルタチオン (GSH)

GSH 定量は Kay と Mürfitt⁴⁾ の方法によった。なお測定は日立製 101 型比色計を使用した。

(3) 血中クエン酸の定量

血中クエン酸量は Fürth と Herrman 反応⁵⁾ に基づく Marier と Boulet の方法⁶⁾ で定量した。すなわち、除タン白試料(血液に対し、5倍量の20% TCA で除タン白) 1 ml にピリジン 1.3 ml を強撹拌後、無水酢酸 5.7 ml を加え、32±0.3°C の恒温槽に30分間保持後、波長 420 nm で比色後、標準曲線より定量値を算出した。

(4) 血漿カルシウムの定量

血漿カルシウムの定量は前報¹⁵⁾と同様に柳沢の方法に基づいて分析した。ただし、クロールフェノールアゾジオキシナフタリンジスルホン酸溶液は、住友化学の Plasco Corinth B を使用し、日立製 101 型比色計を用い波長 620 nm で比色した。

(5) 血漿遊離アミノ酸の定量³⁾

へパリン処理した 5 ml 注射筒で、翼下静脈から処理1日前、処理1日後に各区3羽ずつ1羽当たり 3 ml を採血しプールした。その後、遠心分離 (2,000 r.p.m., 10 min) し、血漿を得た。血漿 3 ml を 10 ml 遠沈管に取り、1%ピクリン酸溶液 15 ml を添加し、約2分間振盪した後遠心分離した。(3,000 r.p.m., 10 min)

あらかじめ、Dowex 2×8 Cl⁻ 型樹脂を蒸留水に、分散静置し、微細粒子を 1N-HCl に分散。これを 2×10 cm のカラム(樹脂の高さ2—3 cm)に、数分間、沈澱させたのち、コックを開き、1N-HCl を 20 ml 流す。脱イオン水で中性になるまで洗う。

そして樹脂床に円形濾紙を置き、樹脂上部は少し水が残ったままにする。こうして用意したカラムにの試料上澄み 15 ml を過剰のピクリン酸を除くために、全部通し、樹脂床の液をさらさないように、0.02N-HCl 約 3 ml で5回洗浄する。洗液と濾液を混合し、ロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、乾固させ、ナス型フラスコに直接脱イオン水 3 ml 添加し 1N-

NaOH 約 1 ml を入れて pH 7~8 に調節する。その後4時間室温にて放置後、1N-HCl 約 1 ml で pH 2.0 とする。次にロータリーエバポレーターで減圧濃縮し乾固させ、それに pH 2.2 緩衝液 5 ml を加えて残査をとかず。この液約 5 ml を試験を用いてアンブル状に封管し、オートクレーブで加熱 (120 °C 10 min) し、グルタミンをグルタミン酸に加水分解する。この 1 ml を分析用試料とし柳本高速自動アミノ酸分析機を用いて遊離アミノ酸 (FAA) の分析定量を行った。なお、pH 2.2 緩衝液はクエン酸三ナトリウム 9.8 g、濃塩酸 16.5 ml、n-カプリル酸 0.05 g、チオグリコール 10.0 ml、Brij-35、1.0 ml に水を加えて 500 ml としたものをを用いた。

結果と考察

1. 産卵率、卵重および体重

実験期間中のヘンディ (Hen day) 産卵率の変化を Fig. 1 に、卵重の変化を Fig. 2 に示した。

予備飼育 23 日間の各個体別産卵率に基き、各区 10 羽の平均産卵率が可及的に等しくなるよう区分した。クエン酸投与開始後 3 週間 (強制換羽処理前) の傾向は、クエン酸区がいずれも高く、とくに B 区が C 区に比べ 10~15% 高い値を示した。強制換羽処理後の産卵開始は、各区間にほとんど差はなかった。処理後も B 区は C 区に比べ終始高い産卵率を示した。しかし、A 区は C 区よりやや低くなる傾向が認められた。

Fig. 2 から卵重は、全期間中を通じて、A 区が C 区に比べ 3~5 g 高い傾向を終始示し、特に産卵再開後クエン酸区は 7~8 g 高い値を示した。一般に産卵率の高い鶏は卵重が小さく、低いものは大きいと言われているが、本実験も同じような結果が得られた。これら産卵率、卵重を総合して、強制換羽処理による休産日数をのぞいた実験期間中の 1 日 1 羽当たりの生産量に換算したものを Table 1 に示した。C 区 39.9 g に対し、A 区も 42.9 g、B 区 43.9 g とクエン酸投与区が 3~4 g も高い値を示した。このようにクエン酸投与は産卵鶏の生産を十分に高める可能性があることを示した。このことはクエン酸がエネルギー源となり得ることはもちろんあるが量的にはわずかであるので、他にも何らかの形で関与していることが推察される。

Table 2 から、体重は、各区とも処理後、それぞれ 70% 前後に減少、処理 2 週後に 87% 前後に回復している。クエン酸区は減少率が大きく増大率が小さかったが各区間に大きな差は認められなかった。

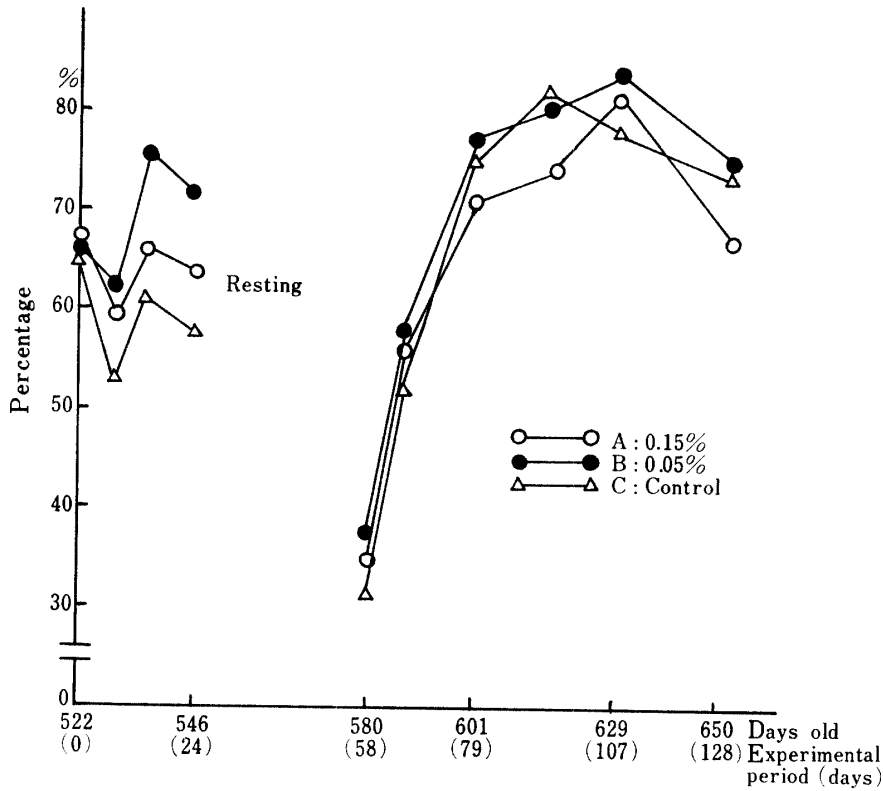


Fig. 1. The effect of citric acid levels on the percentage of egg production.

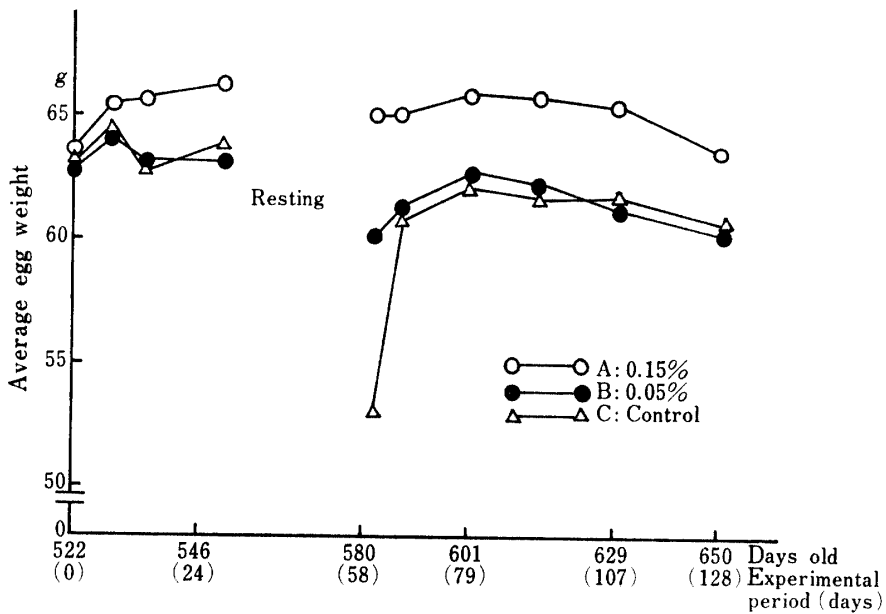


Fig. 2. The effect of citric acid levels on the egg weight.

Table 1. Egg production
(Means \pm S.D.)

Group	g/hen/day
A: 0.15%	42.9 \pm 8.4
B: 0.05%	43.9 \pm 8.2
C: Control	39.9 \pm 9.8

2. 卵殻の重量，厚さおよび強度

卵殻の卵重に対する重量%，強度，厚さを Table 3 に示した。卵殻の卵重に対する重量%は，各区分 8.8% 前後と大きな差は認められなかった。卵殻強度は C区 2.23 kg に対し A区 2.08 kg，B区 2.18 kg 卵殻の厚さは有意差は認められなかったが C区 0.32 mm

Table 2. Average of body weight (Kg)
(Means±S.D.)

Group	Just before treatment	Just after treatment	2 weeks after treatment
A: 0.15%	1.91±0.22	1.31±0.15	1.66±0.15
B: 0.05%	1.74±0.18	1.20±0.14	1.52±0.19
C: Control	1.84±0.19	1.30±0.11	1.63±0.15

Table 3. Egg shell quality
(Means±S.D.)

Group	Ratio of weight to egg weight (%)	Egg shell strength (Kg)	Egg shell thickness (mm)
A: 0.15%	8.8±0.5	2.08±0.37	0.30±0.04
B: 0.05%	8.7±0.8	2.18±0.36	0.30±0.04
C: Control	8.9±0.6	2.23±0.30	0.32±0.03

Table 4. Blood glutathione levels (mg/100 ml of blood)
(Means±S.D.)

Group	1 day before treatment	1 day after treatment	14 days after treatment	35 days after treatment
A: 0.15%	57.0±15.0	94.0±10.0	77.5±8.5	87.0±16.5
B: 0.05%	54.0±7.0	98.5±3.0	70.5±6.5	95.5±4.5
C: Control	52.5±15.5	111.5±11.0	65.0±7.0	80.0±7.5

Table 5. Blood citric acid levels (μg/ml of blood)
(Means±S.D.)

Group	1 day before treatment	1 day after treatment	14 days after treatment	35 days after treatment
A: 0.15%	38.0±6.9	65.6±4.6	27.7±9.7	26.1±3.8
B: 0.05%	44.0±9.1	65.3±13.4	29.5±6.5	24.3±3.3
C: Control	36.0±6.0	54.2±9.9	31.3±3.5	29.9±8.7

に対しA, Bとも0.30 mm とクエン酸区が低くなる傾向を示した。これらのことより、クエン酸投与が卵殻形成時の無機質代謝にかなりの影響をおよぼしていると考えられる。

3. 血中還元型グルタチオン (GSH)

各区における GSH 量を Table 4 に示した。GSH はグルタミン酸、システイン、グリシンのトリペプチドでこの中の SH 基をもったシステインが、羽毛形成にかなりの役割を果たすと言われている。処理直前に比べ、処理1日後は各区とも約1.8~2.0倍に増加している。これは、五斗と岡本²⁾の自然換羽時の値とほぼ同じ値を示したがクエン酸区は処理による GSH 増加率が、低い傾向にある。処理後5週目に再び各区とも増加していることは、何らかの形でストレスが加わったと思われる。

4. 血中クエン酸

血中クエン酸量の変動を Table 5 に示した。強制

換羽処理1日後は、処理前に比べ1.5~1.7倍の増加を示した。通常、対照区が30~35μg/ml であることから、だいたい30μg/mg前後が体維持に必要と考えられる。強制換羽処理1日前ではクエン酸区がやや高い値を示しているが、処理後、C区が高い傾向を示した。これらはクエン酸がCaのキャリアーとしての役割が大きいことからCa濃度の変動と何らかの関係があるものと推察される。

5. 血漿カルシウム

血漿中の総カルシウム量および遊離型Ca量を Table 6 に示した。今日では、血漿Ca濃度は鶏の卵巣機能の消長を反映する一つの指標とも言われる。総Ca量について検討すると強制換羽処理1日前においては、B区はC区に対し5%水準で有意に低かった。しかし、これらの結果は、前報¹⁵⁾の自然換羽時における報告と逆の傾向を示した。処理によって各区とも約2分の1の減少が認められたが各区間に大なる差は

Table 6. Calcium levels in plasma (mg/100 ml of plasma) (Means±S.D.)

Group		1 day before treatment	1 day after treatment	14 days after treatment	35 days after treatment
A: 0.15%	Total	24.0±2.7	14.3±0.4	22.0±1.6**	23.5±1.0
	Free	5.5±2.2	5.5±0.7	5.0±1.1	4.0±0.7
B: 0.05%	Total	23.8±1.8*	13.9±1.4	19.9±2.6	25.6±1.3
	Free	3.7±0.4	4.9±2.5	5.2±0.7	6.0±0.7
C: Control	Total	27.2±1.0	13.9±1.2	17.2±1.2	23.2±1.7
	Free	5.7±1.2	5.2±1.8	6.0±0.3	6.1±0.4

*, **: Significantly different from control values: P<0.05 and P<0.01, respectively.

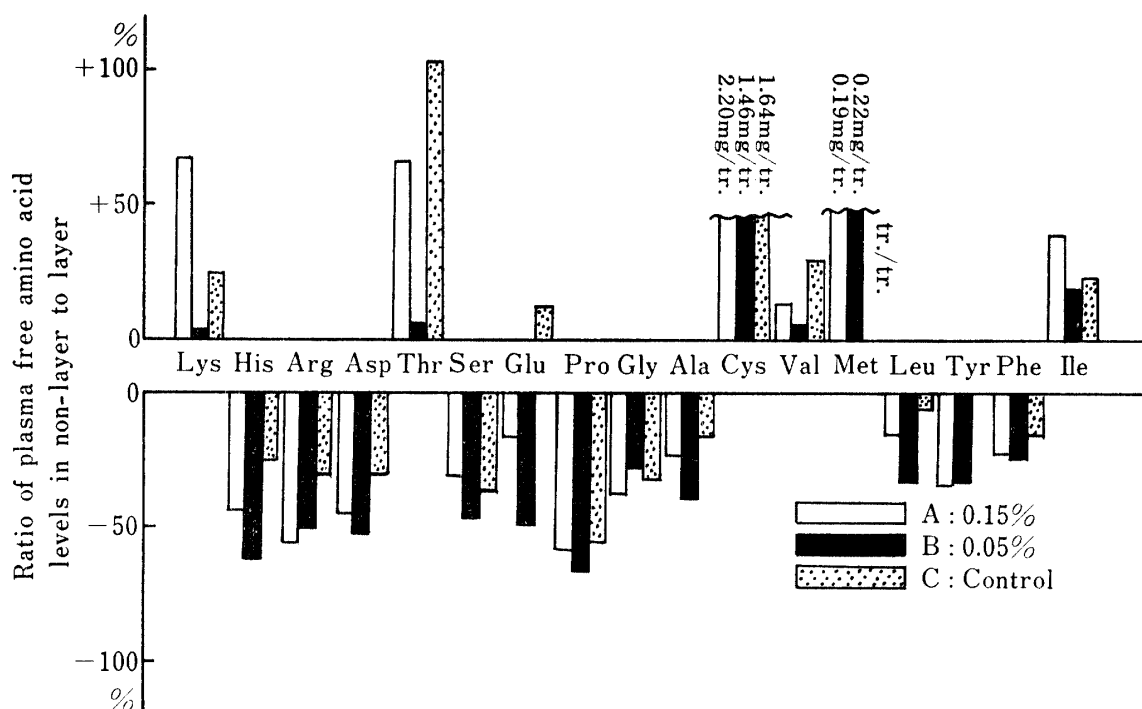


Fig. 3. The effect of citric acid levels on the ratio of plasma free amino acid levels in non-layer to layer. tr: trace

認められなかった。この減少は大島ら⁹⁾の自然換羽時の変動とほぼ同じ傾向を示した。しかし、処理後2週目で、A区はC区に比べ1%水準で有意に高かった。これは、クエン酸投与が産卵回復にプラスの効果をもたらすものと考えられる。また、遊離Ca量は、全体を通じて5.0 mg/100 ml程度で大きな差は認められないことより、体内のCa変動は、結果的に結合型Ca変動によるものと考えて良いだろう。

6. 血漿遊離アミノ酸 (FAA)

強制換羽処理1日前，処理1日後の血漿遊離アミノ酸 (FAA) 量の各区における割合を Fig. 3 に，各区におけるアミノ酸総量および必須アミノ酸 (EAA) 量の非必須アミノ酸 (NEAA) 量に対する割合を Table 7 に示した。強制換羽処理前の正常鶏のアミ

ノ酸総量はクエン酸区がやや高い傾向を示した。特にB区はグルタミン酸，スレオニン，アスパラギン酸，アルギニン，トリプトファンなどが高い値を示し，特にA区はアルギニン，トリプトファン，B区はグルタミン酸が顕著であった。このことは，正常時におけるクエン酸投与がアミノ酸代謝をより活発にしているものと推察できる。強制換羽処理鶏は，B区が極めて低い傾向を示しているが，これはメチオニン，イソロイシンを除いた FAA 全てが減少，とくにスレオニン，グルタミン酸，ヒスチジン，あるいはグリコゲニックな FAA であるセリンが，かなり減少していることに起因している。強制換羽処理によって FAA 総量は A区 88%，B区 70%，C区 94%に減少し，クエン酸区の減少が顕著であった。全体を通じ正常鶏に対

Table 7. Amino acid levels in plasma

	A: 0.15%		B: 0.05%		C: Control	
	Normal	Molting	Normal	Molting	Normal	Molting
Total levels of amino acids (mg/100 ml plasma)	42.99	37.91	42.16	29.49	39.54	37.12
E : N*	0.79	1.10	0.77	1.05	0.74	1.07

* Ratio of essential to non-essential amino acid.

Essential amino acid: Lys, His, Arg, Thr, Val, Met, Ileu, Leu, Phe.

し、換羽処理鶏はリジン、スレオニン、シスチン、メチオニン、バリン、イソロイシンが増加したのを除いて FAA が減少した。これは、佐々木らの鶏における報告¹²⁾とスレオニン、イソロイシン、バリン、セリン、グリシン、ロイシンを除いてほぼ同様な結果を示した。シスチン、メチオニンなど含硫アミノ酸は正常時にほとんど存在しないのに、処理後に増加していることは、これらの FAA が羽毛形成上非常に重要な FAA であることは明確であろう。次に、EAA の NEAA に対する割合は、処理前、処理後において各区とも同じような傾向を示した。すなわち強制換羽処理鶏では、FAA 総量が減少している中で EAA の割合が増加している。これは、換羽時、新生羽毛形成に EAA が重要な役割をもち、なかでもリジン、スレオニン、バリン、イソロイシン、メチオニンが増加あるいは維持されていることより、これらの FAA の重要性が推察できる。

要 約

クエン酸投与が、強制換羽鶏の産卵、体重、卵殻質、血中還元型グルタチオン (GSH)、クエン酸量および血漿中のカルシウム、遊離アミノ酸に及ぼす影響をおよぼすかを比較検討するために本実験を行った。結果は次の如くである。

(1) クエン酸投与によって、産卵率、卵重とも高くなる傾向が認められ1日1羽当りに換算するとクエン酸区が3~4g も高い値を示した。体重は、換羽処理によって70%前後に減少したが各区間に大きな差は認められなかった。

(2) 卵殻質は重量、厚さ、強度ともに、クエン酸区がやや低い傾向を示したものの有意な差は得られなかった。

(3) 血中クエン酸、GSH量は換羽処理によって約1.5~2倍の高い値を示した。血漿総Ca量は、強制換羽処理前B区はC区に対し、5%水準で有意に低く、処理後2週目にA区がC区に比べ1%水準で有意

に高いことから考えると、産卵回復に影響を与えたものと考えられる。また、各区それぞれ処理によっておよそ2分の1の減少が認められたが遊離型カルシウムは、換羽処理による大きな変動がないことより、常に一定に維持されることが、重要であろう。

(4) 血漿遊離アミノ酸パターンに関し強制換羽処理前のアミノ酸総量は、クエン酸区が血漿100mlあたり約3mg高い値を示し、特に、グルタミン酸、アルギニン、トリプトファンが顕著であった。また、強制換羽処理によりリジン、シスチン、メチオニン、スレオニン、バリン、イソロイシンの増加が認められた。よってこれらのアミノ酸が羽毛形成および産卵回復に関与する重要なアミノ酸であることが考えられる。

終りに臨み、クエン酸を提供していただいた昭和化工株式会社鹿児島研究所々長川原一氏、また供試鶏の入手に際しては鹿児島県養鶏試験場東上床久司技師およびアミノ酸分析には畜産化学教室福永隆生助教授の御協力をいただき深謝します。

文 献

- 1) Fürth, O. and Herrmann, H.: Farbenreaktionen der weinsäure, citronensäure und aconitsäure. *Biochem. Z.*, **280**, 448-457 (1955)
- 2) 五斗一郎・岡本正幹: 換羽鶏における血中還元型グルタチオン量および血漿蛋白成分の変動について. *日本家禽学会誌*, **2**, 33-36 (1965)
- 3) 市原百合子・桐山修八・吉田昭: シロネズミにおけるアンモニウム塩の利用 III. 成長速度、肝トランスアミナーゼ活性および血漿アミノ酸パターンにおよぼす影響. *栄養と食糧*, **23**, 526-531 (1970)
- 4) Kay, W. W. and Mürfitt, K. C.: The determination of blood glutathione. *Biochem. J.*, **74**, 203-208 (1960)
- 5) 小山石光一: 採卵鶏の強制換羽の一例 (1). *飼料の研究*, **7**, 8-11 (1971)
- 6) Marier, J. R. and Boulet, M.: Direct determination of citric acid in milk with

- an improved pyridine-acetic anhydride method. *J. Dairy Sci.*, **45**, 1683-1692 (1958)
- 7) 中沢 稔・吉田賢治・北野良一：強制換羽が産卵鶏におよぼす影響 I. 春季に換羽を誘起した場合. 日本家禽学会誌, **5**, 131-135 (1968)
- 8) Noles, R. K.: Subsequent production and egg quality of forced molted hens. *Poultry Sci.*, **45**, 50-57 (1966)
- 9) 大島正尚：産卵鶏の換羽期における代謝の研究 (I) 産卵から換羽への移行期における生理的諸変化の観察. 畜試研報, **6**, 41-47 (1964)
- 10) 佐々木正雄・山谷洋二・大谷 勲：めん羊，ウサギ，ニワトリの血清アミノ酸組成におよぼす飢餓の影響. 日畜会誌, **44**, 569-571 (1973)
- 11) 佐藤孝二・大島俊三・神野雅宏・五島治郎：産卵鶏に対する ICI 33, 828 の効果. 日畜会誌, **38**, 72-74 (1967)
- 12) 白崎克治・柏木忍・坂ノ上学：産卵制御に関する研究. 鹿児島県鶏試報, **11**, 28-41 (1972)
- 13) 田原 滋・片山詔司：採卵養鶏における強制換羽とその実際 (1) 畜産の研究, **25**, 1085-1089 (1968)
- 14) 田名部雄一：鶏の改良と繁殖 (20). 畜産の研究, **22**, 1507-1510 (1968)
- 15) 富田裕一郎・林 国興・本坊敏郎：自然換羽鶏における換羽，産卵，肝臓中の酵素活性および血清無機成分に及ぼすクエン酸の影響. 鹿児島農学術報告, **No. 27**, 165-170 (1977)
- 16) Wilson, H. R., Fry, J. L., Harms, R. H. and Arrington, L. R.: Performance of hens molted by various method. *Poultry Sci.*, **46**, 1406-1412 (1967)

Summary

This study was conducted to identify the effect citric acid (per os) on egg production, the weights of body, egg shell quality, the levels of blood glutathione (GSH), blood citric acid, plasma calcium and free amino acid in plasma of the forced molting hens. Thirty layers of White Leghorn were divided in to 3 groups A, B and C. To the groups was given 0.15%, 0.05% and 0% citric acid aq. solution for the drinking water, respectively. For the forced molting treatment was adopted the method of the fasting (11 days of food deprivation and 3 days of water deprivation). The results were as follows.

(1) During the experimental period, the average of percentages of egg production (hen day) and egg weight of A and B group were noted to be higher than those in C group.

The amounts of egg production of A, B and C group were 42.9, 43.9 and 39.9 g/hen/day respectively.

In all the 3 groups, body weights were decreased to about 70% by forced molting treatment, but no significant difference was found between groups.

(2) As regards the weights, thickness and strength of egg shell, those of A and B groups were slightly lower than those of C group, but this difference was not statistically significant.

(3) Immediately after the forced molting treatment, it was found that the levels of glutathione and citric acid in blood of hens in each group, increased by about 85% and 60% respectively. Just before the fasting treatment, total levels of plasma calcium of the B group was significantly lower than that of the C group ($P < 0.05$); and after 2 weeks of forced molting treatment, the A group was significantly higher than C group ($P < 0.01$). Total calcium levels of all the groups were reduced to about half by the forced molting treatment, but the levels of ionized calcium in each group remained unchanged.

(4) Total levels of free amino acid in plasma of A and B groups were higher than those of the control by about 3 mg/100 ml of plasma.

The forced molting treatment tended to increase the levels of lysine, cystine, methionine, threonine, valine and isoleucine.