

提高飼糧鐵、硒或錳含量對仔豬生長性能、 血液性狀與免疫反應之影響⁽¹⁾

劉芳爵⁽²⁾⁽³⁾ 林幼君⁽²⁾

收件日期：110 年 6 月 11 日；接受日期：111 年 1 月 10 日

摘 要

為及早因應政府禁用抗生素作為畜禽生長促進劑，可能影響仔豬的生長與健康狀況，本試驗旨在運用提高飼糧鐵、硒與錳等含量，以提升仔豬的先天性免疫力，改善仔豬的生長性能與免疫力。試驗共採用 48 頭 32 — 35 日齡之 LYD 三品種雜交仔豬，依性別與體重 4 處理組，每處理 6 重複，每重複 2 頭（公母各半）。對照組飼糧含 20% 粗蛋白質與 3,400 kcal/kg 可消化能，鐵、硒與錳含量分別為 140 mg/kg、0.15 mg/kg 與 20 mg/kg。三個處理組飼糧分別含 2 倍鐵、硒或錳，試驗共進行 4 週。試驗結果顯示，在餵飼仔豬鐵、硒和錳正常量與 2 倍量鐵、硒或錳飼糧，仔豬的體重、日增重、飼料採食量與飼料轉換率均無顯著差異。另外在仔豬血液性狀，亦不受飼糧處理的影響。在免疫反應，餵飼 2 倍硒飼糧，在免疫球蛋白 IgA、IFN- γ 、TNF- α 與抗菌勝肽 pBD-2 濃度均顯著地高於對照組 ($P < 0.05$)，而餵飼 2 倍鐵或錳飼糧與對照組比較，則無顯著差異。綜上結果顯示，餵飼 2 倍硒飼糧，雖然沒有顯著改善仔豬的生長性能，但有提升 IgA、IFN- γ 、TNF- α 與抗菌勝肽 pBD-2 等性狀，有助於提升仔豬的免疫力。

關鍵詞：抗菌勝肽、礦物元素、仔豬、免疫力。

緒 言

鐵、硒與錳等微量礦物質，均為豬隻不可缺乏的營養元素。為了預防哺乳仔豬發生貧血，慣常於仔豬出生後 3 天注射 100 — 200 mg 鐵劑 (Almond *et al.*, 2017)。不過有研究指出，儘管新生仔豬有注射鐵劑，在每胎哺乳仔豬中，生長最快速與體型最大的仔豬，經常於離乳時發生缺鐵性貧血，導致仔豬的生長性能下降 (Perri *et al.*, 2015)，鐵為製造血紅素必需的營養分，缺乏時會造成豬隻貧血的問題。依據行政院農業委員會編輯委員會 (1990) 與 National Research Council (NRC) (2012)，推薦仔豬的鐵需要量為 80 — 150 mg/kg，在養豬飼料中鐵的慣行用量為 140 mg/kg，以避免仔豬發生缺鐵性貧血。至於硒部分，依據 NRC (2012) 於豬隻推薦需要量為 0.2 — 0.15 mg/kg，而國內養豬飼料中硒的慣行用量為 0.15 mg/kg (行政院農業委員會編輯委員會，1990)。由於硒是抗氧化物「麩胺基硫過氧化酶」(glutathione peroxidase) 的成分，硒對豬隻具有調節免疫與抗氧化的作用 (Rotruck *et al.*, 1973; Gelderman and Clapper, 2013)。另外，依據 NRC (2012) 與行政院農業委員會編輯委員會 (1990) 推薦豬隻錳的需要量為 2 — 4 mg/kg，在養豬飼料中錳的慣行用量為 20 mg/kg。錳具有維持碳水化合物、脂肪及蛋白質正常代謝的作用，提高錳含量有助於增加線粒體超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性和骨骼發育 (Kerkaert *et al.*, 2019)。

仔豬於離乳後需要適應新的生長環境、飼料與同伴，同時需要克服包括下痢、生長停滯、低採食量和高死亡率等問題 (Blecha and Charley, 1990; Pluske *et al.*, 1997; Yin *et al.*, 2010; Yao *et al.*, 2012)。抗菌勝肽 (antimicrobial peptides, AMPs) 屬於宿主 (動物) 先天性免疫 (innate immunity) 的一部分，具有抑制革蘭氏陽性和陰性細菌和真菌的作用 (Zasloff, 2002; Brogden *et al.*, 2005)。在哺乳類動物先天性免疫，常見的抗菌勝肽有抗菌肽 (cathelicidin) 與禦菌素 (defensins) 兩大類。Cathelicidin 抗菌勝肽一般由 12 — 80 個胺基酸組成，富含離胺酸、精胺酸和組胺酸等陽離子胺基酸，為帶正電的勝肽，並具有親水性 (hydrophilicity) 與疏水性 (hydrophobicity) 等兩性特徵，主要存在於白血

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2689 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(3) 通訊作者，E-mail: fcliu@mail.tlri.gov.tw。

球與巨噬細胞中 (Zanetti, 2004)。豬隻 cathelicidin 分成 3 類，直線型富脯胺酸 (proline-rich) 的 cathelicidin (如 PR-39、Prophenin 1 與 2)、富 disulfide bond 胜肽 (如 disulfide-rich protegrins 1 – 5) 以及骨髓中富 arginine/histidine 的 AMP (Sang and Blecha, 2009)。其中有關抗菌胜肽 PR-39 研究指出，PR-39 分泌自巨噬細胞，出現於受傷組織的體液中，干擾細菌細胞膜正常的功能造成細菌的溶解，而且可以干擾細菌 DNA 與蛋白質合成，進而改變細菌細胞膜的完整性與抑制細菌細胞內的生理代謝作用 (Boman *et al.*, 1993; Li *et al.*, 2000; Bao *et al.*, 2001)。

第二類禦菌素 (defensins) 一般由 15 – 20 個胺基酸組成，包括 6 – 8 個半胱胺酸，屬陽離子胜肽，具有很強抗細菌、真菌和具外套膜病毒作用，其前驅物 (胜肽) 儲存於豬隻迴腸上皮細胞層、腸道嗜中性球及潘氏細胞 (paneth cell) 顆粒內，當仔豬腸道受細菌感染造成發炎反應時，此禦菌素的前驅物經過蛋白酶切割成有活性的型態後大量釋放出，以對抗侵入的病原。常見如豬隻迴腸上皮細胞層表現的禦菌素有 β -禦菌素 1 (β -defensin 1, pBD-1) 與 2 (pBD-2) (Shi *et al.*, 1999; Sang and Blecha, 2009)，其中抗菌胜肽 pBD-2 於細菌感染時表現量會上升，可以藉由提高表現量改善豬隻腸道的健康 (Veldhuizen *et al.*, 2006)。因此，本試驗運用提高飼糧鐵、錳與硒含量，評估其對提升仔豬生長性能、血液性狀、免疫球蛋白、白血球數量與分類計數、細胞激素、PR-39 與 pBD-2 等含量的影響。

材料與方法

本試驗於行政院農業委員會畜產試驗所營養組試驗豬舍進行，試驗動物之使用、飼養管理及試驗內容，經畜產試驗所實驗動物管理小組以畜試動字 106-22 號核准在案。

I. 試驗動物及飼糧處理

試驗採用 32 – 35 日齡 LYD 三品種雜交仔豬 48 頭，依照體重與性別分成四處理，每 2 頭關一欄，共 24 欄 (公母各半)，每處理 6 重複，每頭仔豬飼養空間面積為 0.5 m² 並提供 30 kg 容量的飼料槽。試驗期間採任食，提供充分清潔飲水，維持舍溫 28 – 30°C，並配合通風扇定時通風換氣，以維持畜舍內的空氣品質，試驗進行 4 週。飼糧處理，對照組仔豬飼糧含 20% 粗蛋白質與 3,400 kcal/kg 可消化能，鐵、硒與錳分別為 140 mg/kg、0.15 mg/kg 與 20.0 mg/kg；處理組飼糧分別提高對照組飼糧中鐵或硒與或錳量，各達 2 倍量 (如表 1)。

II. 測定項目

每週秤量與記錄仔豬體重和飼料採食量，計算仔豬的生長性能。分別在試驗開始日與結束日，分別採集 48 頭試驗仔豬血液樣品 5 mL (採樣前禁食 4 – 6 小時、頸部靜脈竇採集、使用含 EDTA 的 10 mL 採血管) 供分析血液性狀、免疫球蛋白、白血球數量與分類計數、細胞激素濃度、PR-39 與 pBD-2 等濃度。

(i) 血液性狀分析

分別於試驗開始日與結束日，採集血液樣品，供分析血液之總蛋白質、總膽固醇、三酸甘油酯、血液尿素氮與肌酸酐等性狀含量，分析儀器為 Hitach 血清生化分析儀 (Hitach 7170, Japan) 並以血液生化值套組分析總蛋白值 (No. 993-52901)、總膽固醇 (No. 21.862.1175)、三酸甘油酯 (No. 21.862.1705) 以及肌酸酐 (No. 277-10501) 等含量 (Wako Chemical Com., Japan)。

(ii) 免疫球蛋白、PR-39、pBD-2 含量分析

血液樣品經血球分析儀 (Sysmex XN-1000, Japan) 測定白血球數量、嗜酸性白血球、嗜鹼性白血球、淋巴球、單核球與分葉型嗜中性白血球百分比。

血液免疫球蛋白與抗菌胜肽含量測定，以 Multiskan™ FC Microplate Photometer 分析儀 (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) 與 Bethyl Laboratories 公司生產之 Pig IgA 酵素免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 套組 (No. E101-102)、Pig IgM ELISA 套組 (No. E101-117)、Pig IgG ELISA 套組 (No. E101-104) 以及 Porcine ELISA PR-39 (BlueGene, China) 和 Porcine ELISA pBD-2 (ABclonal, USA) 等商業套組，以波長 450 nm 量測吸光度，並配合標準曲線，計算血液樣品的 IgA、IgM、IgG、PR-39 與 pBD-2 濃度。

(iii) 細胞激素分析

以 Merck Millipore Milliplex 類似酵素免疫吸附法，利用抗體抗原免疫鍵結原理來偵測 (Pereira *et al.*, 2012)。將分析用抗體鍍膜在微珠上，藉由混合紅光及遠紅外光螢光染劑，混合成多種的顏色編碼 (color – code)。將每種不同顏色編碼微珠接上具專一性辨識特定蛋白的抗體，辨識血液樣品中細胞激素的特定蛋白，接續與標誌生物素 (biotin) 的偵測抗體作用，最後加入 SAPE (streptavidin phycoerythrin) 螢光抗體反應，以 Luminex 200 型機器 (Luminex Corporation, USA)，偵測介白素 (Interleukin, IL)-1 β (IL-1 β)、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL10、IL-12、Interferon- γ (IFN- γ) 與 Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) 等含量。

III. 統計分析

試驗收集之各項資料，利用 SAS (2005) 的套裝統計軟體，依一般線性模式 (general linear model procedure, GLM) 進行變方分析，並以鄧肯氏多變域測定法 (Duncan's multiple range test) 進行處理組平均值間之差異顯著性分析，當 $P < 0.05$ 表差異顯著，而 $P < 0.01$ 表差異極顯著。

表 1. 試驗仔豬之飼糧組成

Table 1. The feed formulation for piglets experiment

Ingredients, kg	Dietary mineral treatment			
	Control diet	Fe (× 2)	Se (× 2)	Mn (× 2)
Yellow corn, CP 7.5%	620.0	620.0	620.0	620.0
Soybean meal, CP 43.5%	257.5	256.8	257.5	257.5
Limestone (pulverized)	8	8	8	8
Dicalcium phosphate	16	16	16	16
Fish meal, CP 65%	50	50	50	50
Skimmed milk	20	20	20	20
Whey powder	20	20	20	20
Choline-Cl, 50%	1	1	1	1
Salt (iodized)	5	5	5	5
Vitamin premix ^a	1	1	1	1
Mineral premix ^b	1.5	1.5	1.5	1.5
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0	0.7	0	0
Na ₂ SeO ₃	0.0003	0	0.0006	0
MnSO ₄ · H ₂ O	0	0	0	0.06
Total	1,000	1,000	1,000	1,000
Calculated value				
Crude protein, %	20.1	20.1	20.2	20.2
Digestible energy kcal/kg	3,439	3,439	3,448	3,448
Lysine, %	1.14	1.14	1.10	1.10
Iron, mg/kg	140	280	140	140
Selenium, mg/kg	0.15	0.15	0.3	0.15
Manganese, mg/kg	20	20	20	40
Analyzed value				
Crude protein, %	20.0	20.2	19.9	20.4
Lysine, %	1.10	10.8	1.05	1.09
Calcium, %	0.85	0.86	0.83	0.84
Total phosphorus, %	0.63	0.65	0.64	0.63
Iron, mg/kg	140.4	280.5	140.3	140.6
Selenium, mg/kg	0.15	0.15	0.3	0.15
Manganese, mg/kg	20.1	20.1	20.2	40.3

^a Supplied per kg of diet: Vitamin A, 6,000 IU; Vitamin D₃, 800 IU; Vitamin E, 20 IU; Vitamin K₃, 4 mg; Vitamin B₁, 2 mg; Vitamin B₂, 4 mg; Vitamin B₆, 1 mg; Vitamin B₁₂, 0.02 mg; Niacin, 30 mg; Calcium pantothenate, 16 mg; Folic acid, 0.6 mg; Biotin, 0.01 mg.

^b Supplied per kg of diet: Fe, 140 mg; Cu, 7 mg; Mn, 20 mg; Zn, 120 mg; Se, 0.15 mg; Cobalt (+2) sulfate heptahydrate 0.5 mg; I, 0.45 mg.

結果與討論

I. 仔豬的生長性能

飼餵仔豬鐵、硒與錳正常量或各 2 倍量飼糧對仔豬生長性能的影響，如表 2 與 3 所示。試驗結果顯示，在

仔豬的體重、日增重、採食量與飼料轉換率方面，各試驗組間沒有顯著效應。相關文獻指出，鐵、硒與錳等礦物質飼料原料，分別與豬隻的血紅球形成、軟骨組織的生長與骨骼發育以及免疫力與抗氧化能力相關，但是這些礦物質元素對豬隻的生長性能作用甚小 (Cao *et al.*, 2014; Estienne *et al.*, 2019; Kerkaert *et al.*, 2019)，本研究亦有類似的現象。因此，餵飼 2 倍量的鐵、硒或錳飼糧，並沒有顯著改善仔豬生長性能的作用。

表 2. 餵飼鐵、硒與錳正常量或 2 倍量飼糧對仔豬體重的影響

Table 2. Effect of feeding Fe, Se or Mn or double amount on body weight of LYD piglets

Period	Dietary mineral treatment			
	Control diet ¹	Fe (× 2)	Se (× 2)	Mn (× 2)
n	12	12	12	12
Initial, kg	10.3 ± 2.2*	10.1 ± 1.8	10.1 ± 1.7	10.2 ± 1.6
8 th -d, kg	12.1 ± 2.4	12.4 ± 1.9	12.8 ± 2.7	12.7 ± 2.2
14 th -d, kg	15.9 ± 2.7	16.0 ± 2.1	16.5 ± 3.0	16.2 ± 2.6
22 th -d, kg	19.5 ± 3.1	19.7 ± 2.6	20.6 ± 3.6	19.8 ± 2.4
28 th -d, kg	23.6 ± 3.5	23.3 ± 2.8	24.8 ± 2.3	24.0 ± 1.8

¹ Control diet: Fe, 140 mg/kg; Se, 0.15 mg/kg; Mn, 20 mg/kg; Initial at the age 32 - 35 days for 4 weeks; body weight at each stage is not affected by the source and amount of mineral-added ($P > 0.05$).

* Mean ± SD.

表 3. 餵飼鐵、硒與錳正常量或 2 倍量飼糧對仔豬生長性能的影響

Table 3. Effect of feeding Fe, Se or Mn or double amount on growth performance of LYD piglets

Items	Dietary mineral treatment			
	Control diet ¹	Fe (× 2)	Se (× 2)	Mn (× 2)
ADG, kg ²				
n	12	12	12	12
1 st wk	0.35 ± 0.12*	0.34 ± 0.11	0.37 ± 0.11	0.36 ± 0.12
2 nd wk	0.45 ± 0.10	0.49 ± 0.10	0.54 ± 0.06	0.50 ± 0.09
3 rd wk	0.51 ± 0.08	0.53 ± 0.13	0.59 ± 0.07	0.52 ± 0.10
4 th wk	0.61 ± 0.11	0.56 ± 0.20	0.60 ± 0.18	0.58 ± 0.15
Whole period	0.47 ± 0.07	0.49 ± 0.08	0.53 ± 0.08	0.50 ± 0.10
ADFI, kg ²				
n	6	6	6	6
1 st wk	0.52 ± 0.16	0.47 ± 0.09	0.53 ± 0.14	0.48 ± 0.08
2 nd wk	0.79 ± 0.14	0.67 ± 0.10	0.80 ± 0.14	0.65 ± 0.10
3 rd wk	0.98 ± 0.13	0.84 ± 0.08	0.99 ± 0.13	0.85 ± 0.08
4 th wk	1.21 ± 0.16	1.12 ± 0.13	1.16 ± 0.24	1.09 ± 0.15
Whole period	0.89 ± 0.13	0.77 ± 0.09	0.90 ± 0.13	0.78 ± 0.09
FC (Feed/gain) ²				
n	6	6	6	6
1 st wk	1.49 ± 0.38	1.34 ± 0.32	1.43 ± 0.37	1.33 ± 0.39
2 nd wk	1.76 ± 0.53	1.37 ± 0.37	1.46 ± 0.29	1.30 ± 0.42
3 rd wk	1.88 ± 0.49	1.66 ± 0.38	1.66 ± 0.31	1.63 ± 0.29
4 th wk	1.98 ± 0.42	1.93 ± 1.90	1.93 ± 0.55	1.88 ± 0.44
Whole period	1.88 ± 0.44	1.59 ± 0.26	1.66 ± 0.41	1.59 ± 0.39

¹ Control diet: Fe, 140 mg/kg; Se, 0.15 mg/kg; Mn, 20 mg/kg; Growth performance at each stage is not affected by the source and amount of mineral-added ($P > 0.05$).

* Mean ± SD.

² ADG: average daily gain; ADFI: average daily feed intake; FC: feed conversion rate.

II. 仔豬的血液性狀

餵飼仔豬鐵、硒與錳正常量或 2 倍量的飼糧對仔豬血液的總蛋白、血漿尿素氮、三酸甘油酯、總膽固醇與肌酸酐濃度，各組間亦無顯著差異，如表 4 所示。依據生醫產業用畜禽動物應用手冊 (2011) 顯示，前述血液性狀在試驗第 1 與 28 天，各項血液性狀除總膽固醇含量較參考值高外，其餘均在正常血液生理範圍，另外血液尿素氮與三酸甘油酯濃度第 28 天高於第 1 天約為 2 倍。此現象可能因第 28 天豬隻採食量較高所致 (Gowanlock *et al.*, 2013)。另外，血液總膽固醇濃度偏高，主要受飼糧脂肪、膽固醇與粗纖維攝取量的影響。在仔豬階段，為滿足與促進仔豬的生長速率，餵飼飼糧為含高能量與低纖維的飼料配方，可能因此而使得血液總膽固醇含量有偏高的現象 (Costa *et al.*, 1994)。由前述血液性狀結果顯示，餵飼仔豬鐵、硒與錳正常量或各提高 2 倍量的鐵、硒或錳飼糧，並不顯著影響仔豬之總蛋白、尿素氮、三酸甘油酯、總膽固醇與肌酸酐濃度等血液性狀。

表 4. 餵飼鐵、硒與錳正常量或 2 倍量飼糧對仔豬血液性狀的影響

Table 4. Effect of feeding Fe, Se or Mn or double amount on blood traits of LYD piglets

Traits	Dietary mineral treatment			
	Control diet ¹	Fe (× 2)	Se (× 2)	Mn (× 2)
Day 1				
n	12	12	12	12
Total protein, g/dL ²	5.80 ± 0.26*	4.36 ± 0.64	4.68 ± 0.17	5.58 ± 0.42
Blood urea nitrogen, mg/dL	4.65 ± 1.03	4.88 ± 0.88	5.23 ± 0.60	5.23 ± 0.84
Triglyceride, mg/dL	24.75 ± 3.77	26.40 ± 8.74	23.83 ± 7.08	25.87 ± 8.60
Total cholesterol, mg/dL	108.75 ± 20.89	98.20 ± 16.12	95.83 ± 7.93	96.67 ± 15.57
Creatinine, mg/dL	1.62 ± 0.17	1.92 ± 0.11	1.35 ± 0.08	1.19 ± 0.07
Day 28				
n	12	12	12	12
Total protein, g/dL	4.38 ± 0.36	5.28 ± 0.27	5.05 ± 0.41	5.25 ± 0.21
Blood urea nitrogen, mg/dL	8.90 ± 2.37	9.67 ± 0.99	9.78 ± 2.26	9.85 ± 1.52
Triglyceride, mg/dL	48.51 ± 8.32	45.43 ± 7.59	48.67 ± 9.15	49.87 ± 12.79
Total cholesterol, mg/dL	79.75 ± 5.27	82.60 ± 5.27	91.00 ± 19.67	93.50 ± 6.79
Creatinine, mg/dL	1.72 ± 0.15	1.43 ± 0.16	1.53 ± 0.18	1.42 ± 0.14

¹ Control diet: Fe, 140 mg/kg; Se, 0.15 mg/kg; Mn, 20 mg/kg.

² Reference values: total protein 3.5 - 6.0 g/dL, blood urea nitrogen 10 - 30 mg/dL, triglyceride 20 - 52 mg/dL, total cholesterol 28 - 48 mg/dL and creatinine 1.0 - 2.7 mg/dL. Data source: application manual of livestock and poultry Animals for biomedical industry (2011).

* Mean ± SD.

III. 仔豬的白血球數量與分類計數

餵飼仔豬 2 倍量的鐵、硒或錳以及正常量飼糧對仔豬血液白血球分類計數 (differential count, DC) 的影響如表 5 所示。依據生醫產業用畜禽動物應用手冊 (2011) 顯示，無論第 1 與 28 天時，測定之仔豬白血球數量與白血球分類計數，均在正常值範圍。在白血球數量第 1 與 28 天均有偏高現象 (接近於最高量)。此現象可能因採血造成短暫的緊迫作用，使白血球數量偏高。Weijenberg *et al.* (1996) 文獻指出，白血球數量會因激烈的運動或壓力等原因，造成暫時性偏高。在第 28 天時，餵飼 2 倍硒飼糧，在白血球數量顯著低於餵飼正常鐵、硒與錳飼糧的對照組，而餵飼 2 倍鐵或 2 倍錳飼糧與對照組比較，則沒有顯著差異。此現象可能因 2 倍硒 (0.3 mg/kg) 飼糧具有降低緊迫的作用，讓白血球數量比對照組低 (Spallholz *et al.*, 1990)。另外，在嗜鹼性白血球、嗜酸性白血球、淋巴球、單核球與分葉型嗜中性白血球等白血球分類計數，均在正常值範圍 (生醫產業用畜禽動物應用手冊, 2011)，且餵飼鐵、硒與錳正常量對比於 2 倍量的鐵、硒或錳飼糧組間，前述白血球分類計數均沒有顯著差異。此現象可能因鐵、硒或錳等礦物質對白血球分類計數影響不顯著 (Cao *et al.*, 2014; Estienne *et al.*, 2019;

Kerkaert *et al.*, 2019)。由上述結果顯示，2 倍硒飼糧具有降低白血球數量的現象，不過對於白血球分類計數與對照組或 2 倍之鐵或錳飼糧，沒有顯著差異。

表 5. 餵飼鐵、硒與錳正常量或 2 倍量飼糧對仔豬白血球數量與分類計數的影響

Table 5. Effect of feeding Fe, Se or Mn or double amount of on cell count and differential count of white blood

Traits	Dietary mineral treatment			
	Control diet ¹	Fe (× 2)	Se (× 2)	Mn (× 2)
Day 1				
n	12	12	12	12
White blood cell count, cells/uL ²	19,240 ± 222.2*	20,409 ± 165.4	21,280 ± 405.6	21,877 ± 496.2
Basophils, %	1.08 ± 0.52	1.24 ± 1.62	1.19 ± 0.49	0.98 ± 0.56
Eosinophils, %	1.16 ± 0.52	0.99 ± 0.77	1.06 ± 0.44	1.27 ± 0.52
Lymphocytes, %	55.39 ± 4.21	53.44 ± 5.42	57.22 ± 8.26	59.98 ± 12.56
Monocytes, %	5.38 ± 1.37	5.90 ± 1.10	5.72 ± 1.24	5.43 ± 1.35
Neutrophil Segmented, %	48.30 ± 4.23	45.60 ± 3.21	42.67 ± 10.25	49.35 ± 7.29
Day 28				
n	12	12	12	12
White blood cell count, cells/uL	21,289 ± 326.2 ^a	20,299 ± 375.6 ^{ab}	18,140 ± 706.0 ^b	20,717 ± 395.2 ^{ab}
Basophils, %	0.84 ± 0.52	1.14 ± 1.26	0.79 ± 0.29	0.83 ± 0.49
Eosinophils, %	1.06 ± 0.81	0.93 ± 0.37	0.96 ± 0.64	0.79 ± 0.41
Lymphocytes, %	52.49 ± 3.61	50.64 ± 4.52	54.03 ± 10.44	58.96 ± 13.72
Monocytes, %	4.59 ± 2.73	4.90 ± 1.00	5.46 ± 0.24	5.43 ± 1.46
Neutrophil Seg, %	41.03 ± 5.02	42.10 ± 4.71	48.76 ± 11.20	44.01 ± 3.38

¹ Control diet: Fe, 140 mg/kg; Se, 0.15 mg/kg; Mn, 20 mg/kg.

² Reference values: white blood cell count 11 - 22 × 10³ cells/uL, basophils 0 - 1.3%, eosinophils 0 - 7.7%, lymphocytes 38.1 - 73.1 %, monocytes 0 - 15% and neutrophil Segmented 40 - 70%. Data source: application manual of livestock and poultry Animals for biomedical industry (2011).

* Mean ± SD.

^{a, b} Means in the same row with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

IV. 仔豬的免疫球蛋白與細胞激素含量

餵飼仔豬對照組或 2 倍量的鐵、硒或錳飼糧對仔豬血液免疫球蛋白與細胞激素含量的影響如表 6 所示。在第 28 天時，餵飼 2 倍硒飼糧，仔豬血液免疫球蛋白 IgA 濃度高於對照組與 2 倍鐵或錳飼糧 (P < 0.05)。在 IgG 與 IgM 濃度，各組間沒有顯著差異。在 Blodgett *et al.* (1986) 文獻指稱，以相同硒濃度餵飼離乳仔豬對血液 IgG 與 IgM 濃度，亦沒有顯著的提升作用。不過在 Gelderman and Clapper (2013) 文獻指出，餵飼含 0.3 mg/kg 硒飼糧提高新母豬與哺乳仔豬血液免疫球蛋白 IgA、IgG 與 IgM 濃度的作用。此現象可能因哺乳仔豬受到母豬初乳移行抗體的影響，亦可能因不同抗原對應產生的抗體不同所致。在細胞激素濃度，餵飼 2 倍飼糧比對照組顯著提高 IFN-γ 與 TNF-α 濃度，但是在餵飼 2 倍之鐵或錳飼糧與對照組比較，則沒有顯著差異。此結果顯示，餵飼仔豬 2 倍硒飼糧，可能經由 TNF-α 活化免疫系統 (van Heugten *et al.*, 1994)，亦可能經由致活 T-細胞和自然殺手細胞 (NK 細胞) 提高 IFN-γ 產生量，進而提升仔豬抵抗病原菌與免疫調節等作用，改善仔豬的免疫力 (Schroder *et al.*, 2004)。另外，在 IL-1β、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10 與 IL-12 等細胞激素的濃度，四組飼糧組間沒有顯著差異。此現象可能因飼糧鐵、錳與硒等飼料原料，對於上述細胞激素濃度影響較小，不及其本身具有調控血紅素形成、軟骨組織的生長與骨骼發育以及抗氧化等相關作用 (Cao *et al.*, 2014; Estienne *et al.*, 2019; Kerkaert *et al.*, 2019)。由以上結果顯示，僅有 2 倍硒飼糧有調節 IFN-γ 與 TNF-α 等免疫相關的性狀，而 2 倍之鐵或錳飼糧對提高仔豬的 IL-1β、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10 與 IL-12 等細胞激素含量作用不顯著。

表 6. 飼餉鐵、硒與錳正常量或 2 倍量飼糧對仔豬免疫球蛋白與細胞激素含量之影響

Table 6. Effects of feeding Fe, Se or Mn or double amount of on the concentration of immunoglobulins and cytokines

Traits	Dietary mineral treatment			
	Control diet ¹	Fe (× 2)	Se (× 2)	Mn (× 2)
Day 1				
n	12	12	12	12
Immunoglobulin				
IgG, × 10 ⁶ ng/mL	4.60 ± 1.07	5.60 ± 1.28	6.04 ± 1.30	5.76 ± 0.62
IgA, × 10 ⁵ ng/mL	2.66 ± 0.76	2.48 ± 0.12	2.54 ± 0.58	2.47 ± 0.82
IgM, × 10 ⁶ ng/mL	1.08 ± 0.48	1.12 ± 0.26	1.35 ± 0.47	1.33 ± 0.58
Cytokine				
IFN-γ, pg/mL	0.53 ± 0.07	1.38 ± 0.25	0.33 ± 0.04	1.29 ± 0.31
IL-1β, pg/mL	0.07 ± 0.01	0.12 ± 0.07	0.32 ± 0.05	0.28 ± 0.05
IL-2, pg/mL	0.02 ± 0.001	0.05 ± 0.01	0.28 ± 0.07	0.21 ± 0.05
IL-4, pg/mL	0.10 ± 0.06	0.29 ± 0.04	1.04 ± 0.24	0.73 ± 0.01
IL-6, pg/mL	0.02 ± 0.008	0.03 ± 0.001	0.23 ± 0.06	0.11 ± 0.03
IL-8, pg/mL	0.16 ± 0.01	0.33 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.46 ± 0.03
IL-10, pg/mL	0.05 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.42 ± 0.01	0.33 ± 0.08
IL-12, pg/mL	0.55 ± 0.03	0.55 ± 0.02	0.68 ± 0.05	0.68 ± 0.03
TNF-α, pg/mL	0.009 ± 0.0005	0.02 ± 0.002	0.001 ± 0.0005	0.009 ± 0.0003
Day 28				
n	12	12	12	12
Immunoglobulin				
IgG, × 10 ⁶ ng/mL	8.80 ± 1.40	7.88 ± 1.42	8.97 ± 1.27	9.49 ± 1.02
IgA, × 10 ⁵ ng/mL	3.94 ± 0.54 ^b	3.97 ± 0.35 ^b	6.58 ± 0.98 ^a	3.85 ± 0.82 ^b
IgM, × 10 ⁶ ng/mL	2.66 ± 0.72	2.15 ± 0.59	2.44 ± 0.43	2.50 ± 0.61
Cytokine				
IFN-γ, pg/mL	0.66 ± 0.01 ^b	2.72 ± 0.51 ^{ab}	5.81 ± 0.86 ^a	1.54 ± 0.31 ^{ab}
IL-1β, pg/mL	0.62 ± 0.06	0.37 ± 0.04	0.43 ± 0.03	0.77 ± 0.08
IL-2, pg/mL	0.59 ± 0.05	0.38 ± 0.04	0.31 ± 0.03	0.85 ± 0.09
IL-4, pg/mL	1.70 ± 0.12	0.94 ± 0.12	0.96 ± 0.01	2.49 ± 0.33
IL-6, pg/mL	0.27 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.37 ± 0.05
IL-8, pg/mL	0.32 ± 0.02	0.32 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.33 ± 0.02
IL-10, pg/mL	1.03 ± 0.09	0.66 ± 0.07	0.61 ± 0.06	1.34 ± 0.15
IL-12, pg/mL	0.43 ± 0.02	0.75 ± 0.03	0.88 ± 0.03	0.72 ± 0.05
TNF-α, pg/mL	0.05 ± 0.01 ^b	0.09 ± 0.01 ^{ab}	0.22 ± 0.03 ^a	0.09 ± 0.01 ^{ab}

¹ Control diet: Fe, 140 mg/kg; Se, 0.15 mg/kg; Mn, 20 mg/kg.

* Mean ± SD.

^{a, b} Means in the same row with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

V. 仔豬的血液 pBD-2 與 PR-39 含量

飼餉仔豬鐵、硒與錳正常量或提高各 2 倍飼糧對仔豬血液抗菌胜肽 pBD-2 與 PR-39 含量之影響如表 7 所示。在第 1 天時，飼餉鐵、硒與錳正常量或提高各 2 倍飼糧組間，仔豬血液抗菌胜肽 pBD-2 與 PR-39 含量，沒有顯著差異。但是在第 28 天時，仔豬飼餉 2 倍錳飼糧，抗菌胜肽 pBD-2 含量顯著高於對照組與 2 倍鐵飼糧 (P < 0.05)。而抗菌胜肽 PR-39 含量，則各飼糧組間沒有顯著差異。此現象可能因僅有硒具有調節免疫力作用 (Cao *et al.*, 2014)，當飼糧硒含量為 0.3 mg/kg 時，提升抗菌胜肽 pBD-2 濃度，不過在提升抗菌胜肽 PR-39 含量的作用，僅比對照組提高 15.5%，並沒有達到顯著水準。此現象可能因抗菌胜肽 PR-39 是由巨噬細胞分泌，富含脯

胺酸與精胺酸胜肽，出現於受傷組織的體液中，而本研究可能因仔豬處於健康狀態（沒有受傷組織）下，因此在 PR-39 表現量較低 (Bao *et al.*, 2001)。由上述結果顯示，餵飼仔豬 2 倍硒飼糧具有提升抗菌胜肽 pBD-2 濃度的作用，不過對於提升抗菌胜肽 PR-39 含量的作用，餵飼 2 倍量之鐵、硒或錳飼糧沒有顯著的作用。

表 7. 餵飼鐵、硒與錳正常量或 2 倍量飼糧對仔豬血液 pBD-2 與 PR-39 含量的影響

Table 7. Effect of feeding Fe, Se or Mn or double amount of on the concentration of pBD-2 and PR-39

Traits	Dietary mineral treatment			
	Control diet ¹	Fe (× 2)	Se (× 2)	Mn (× 2)
Day 1				
n	12	12	12	12
pBD-2, pg/mL	241.75 ± 61.95*	207.50 ± 73.86	268.14 ± 32.98	182.93 ± 56.56
PR-39, pg/mL	164.65 ± 45.03	174.88 ± 33.88	199.86 ± 39.83	183.23 ± 56.84
Day 28				
n	12	12	12	12
pBD-2, pg/mL	195.09 ± 68.34 ^b	205.16 ± 64.24 ^b	399.86 ± 39.41 ^a	259.52 ± 35.72 ^{ab}
PR-39, pg/mL	168.90 ± 22.37	178.67 ± 23.99	199.78 ± 42.26	186.85 ± 31.52

¹ Control diet: Fe, 140 mg/kg; Se, 0.15 mg/kg; Mn, 20 mg/kg.

* Mean ± SD.

^{a, b} Means in the same row with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

結 論

在仔豬生長性狀，餵飼仔豬 2 倍量之鐵、硒或錳飼糧，相較於餵飼鐵、硒與錳正常量飼糧，兩者對日增重、採食量與飼料轉換率等生長性能沒有顯著差異。而在總蛋白、膽固醇、三酸甘油酯、肌酸酐與尿素氮等血液性狀，亦沒有顯著的差異。

餵飼 2 倍量硒飼糧，仔豬血液 IgA、IFN- γ 、TNF- α 與抗菌胜肽 pBD-2 含量顯著高於餵飼對照組飼糧，而餵飼 2 倍量之鐵或錳飼糧，則沒有顯著影響。綜上所述，餵飼仔豬含 0.3 mg/kg 硒飼糧，具有提升前述血液性狀表現與仔豬免疫力的效果。

誌 謝

試驗期間感謝畜產試驗所營養組同仁嚴世俊先生與蕭合芬小姐，試驗進行過程中之協助與相關資料之收集與分析工作，使試驗能順利完成。

參考文獻

- 行政院農業委員會編輯委員會。1990。臺灣地區飼養標準—豬。行政院農業委員會出版，臺北市。
- 生醫產業用畜禽動物應用手冊編輯委員會。2011。無特定病原豬 (Specific pathogen free, SPF)。生醫產業用畜禽動物應用手冊，中華實驗動物學會編印，臺北市，第 2-27 頁。
- Almond, G., E. Byers, J. Seate, and P. Boyer. 2017. Supplemental iron dextran injections: influence on hemoglobin concentrations and piglet growth. *J. Swine Health Prod.* 25: 308-312.
- Bao, J., K. Sato, M. Li, Y. Gao, R. Abid, W. Aird, M. Simons, and M. J. Post. 2001. PR-39 and PR-11 peptides inhibit ischemia-reperfusion injury by blocking proteasome-mediated IkB- α degradation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 281: H2612-H2618.
- Blecha, F. and B. Charley. 1990. Rationale for using immune potentiators in domestic food animals. *Adv. Vet. Sci. Comp.* 35: 3-19.

- Blodgett, D. J., G. G. Schurig, and E. T. Kornegay. 1986. Immunomodulation in weanling swine with dietary selenium. *Am. J. Vet. Res.* 47: 1517-1519.
- Boman, H. G., B. Agerberth, and A. Boman. 1993. Mechanisms of action on *Escherichia coli* of cecropin P1 and PR-39, two antibacterial peptides from pig intestine. *Infect. Immunol.* 61: 2978-2984.
- Brogden, K. A. 2005. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria ? *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 238-250.
- Cao, J., F. Guo, L. Zhang, B. Dong, and L. Gong. 2014. Effects of dietary selenomethionine supplementation on growth performance, antioxidant status, plasma selenium concentration, and immune function in weaning pigs. *J. Anim. Sci. Biotech.* 5: 46-53.
- Costa, N. M. B., A. G. Low, A. F. Walker, R. W. Owen, and H. N. Englyst. 1994. Effect of baked beans (*phaseolus vulgaris*) on sterol metabolism and non-starch polysaccharide output of hypercholesterolemia pigs with or without an ileo-rectal anastomosis. *Brit. J. Nutri.* 71: 871-886.
- Estienne, M., S. Clark-Deener, and K. Williams. 2019. Growth performance and hematology characteristics in pigs treated with iron at birth and weaning and fed a nursery diet supplemented with a pharmacological level of zinc oxide. *J. Swine Health Prod.* 27: 64-75.
- Gelderman, A. and J. Clapper. 2013. Effects of inorganic or organic selenium on immunoglobulins in swine. *J. Anim. Sci. Biotech.* 4: 47-55.
- Gowanlock, D. W., D. C. Mahan, J. S. Jolliff, S. J. Moeller, and G. M. Hill. 2013. Evaluating the NRC levels of Cu, Fe, Mn, and Zn using organic and inorganic mineral sources for grower-finisher swine. *J. Anim. Sci.* 91: 5680-5686.
- Kerkaert, H. R., J. C. Woodworth, J. M. DeRouchey, S. S. Dritz, M. D. Tokach, and R. D. Goodband. 2019. Determining the effects of manganese source and level on growth performance, carcass characteristics, and economics of growing-finishing pigs. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports: Vol. 5: 8.* <https://doi.org/10.4148/2378-5977.7853>.
- Li, J., M. Post, R. Volk, Y. Gao, M. Li, C. Metais, K. Sato, J. Tsai, W. Aird, and R. D. Rosenberg. 2000. PR-39, a peptide regulator of angiogenesis. *Nat. Med.* 6: 49-55.
- National Research Council. 2012. *Nutrient Requirements of Swine*. 11th Revised. Ed. National Academies Press, Washington D. C., USA. <https://doi.org/10.17226/13298>.
- Pereira, C. G., S. P. Pereir, C. V. Pereir, J. A. Lumini, J. Magalhaes, A. Ascensao, M. S. Santos, A. J. Moreno, and P. J. Oliveira. 2012. Mitochondrionopathy phenotype in doxorubicin-treated wistar rats depends on treatment protocol and is cardiac-specific. *PLoS one* 6: e38867.
- Perri, A. M., R. M. Friendship, J. C. S. Harding, and T. L. O' Sullivan. 2015. An investigation of iron deficiency and anemia in piglets and the effect of iron status at weaning on post-weaning performance. *J. Swine Health Prod.* 24: 10-20.
- Pluske, J. R., D. J. Hampson, and I. H. Williams. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livest. Prod. Sci.* 51: 215-236.
- Rotruck, J. T., A. L. Pope, H. E. Ganther, A. B. Swanson, D. G. Hafeman, and W. G. Hoekstra. 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179: 588-590.
- Sang, Y. and F. Blecha. 2009. Porcine host defense peptides: expanding repertoire and functions. *Dev. Comp. Immunol.* 33: 334-343.
- SAS. 2005. *User's guide: Statistic*, version 9.1 edition. SAS Inc., Cary, NC, USA.
- Schroder, K., P. J. Hertzog, T. Ravasi, and D. A. Hume. 2004. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J. Leukoc. Biol.* 75: 163-89.
- Shi, J., G. Zhang, H. Wu, C. Ross, F. Blecha, and T. Ganz. 1999. Porcine epithelial *beta*-defensin 1 is expressed in the dorsal tongue at antimicrobial concentrations. *Infect. Immunol.* 67: 3121-3127.
- Spallholz, J. E., L. M. Boylan, and H. S. Larsen. 1990. Advances in understanding selenium role in the immune-system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 587: 123-139.
- van Heugten, E., J. W. Spears, and M. T. Coffey. 1994. The effect of dietary protein on performance and immune response in weanling pigs subjected to an inflammatory challenge. *J. Anim. Sci.* 72: 2661-2669.
- Veldhuizen, E. J., H. G. Hendriks, A. Hogenkamp, A. van Dijk, W. Gastra, P. C. Tooten, and H. P. Haagsman. 2006. Differential regulation of porcine β -defensins 1 and 2 upon salmonella infection in the intestinal epithelial cell line IPI-

21. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 14: 94-102.

Weijenberg, M. P., E. J. Feskens, and D. Kromhout. 1996. White blood cell count and the risk of coronary heart disease and all-cause mortality in elderly men. *Arterio. Throm. Vascu. Biol.* 16: 499-503.

Yao, K., Y. Yin, X. Li, P. Xi, J. Wang, J. Lei, Y. Hou, and G. Wu. 2012. Alpha-ketoglutarate inhibits glutamine degradation and enhances protein synthesis in intestinal porcine epithelial cells. *Amino Acids* 42: 2491-2500.

Yin, Y. L., K. Yao, Z. J. Liu, M. Gong, Z. Ruan, D. Deng, B. Tan, Z. Q. Liu, and G. Y. Wu. 2010. Supplementing L-leucine to a low-protein diet increases tissue protein synthesis in weanling pigs. *Amino Acids* 39: 1477-1486.

Zanetti, M. 2004. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. *J. Leukoc. Biol.* 75: 39-48.

Zasloff, M. 2002. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* 415: 389-395.

Effects of high levels of dietary iron, selenium or manganese on growth performance, blood traits and immune response of piglets ⁽¹⁾

Fang-Chueh Liu ⁽²⁾⁽³⁾ and Yu-Chun Lin ⁽²⁾

Received: Jun. 11, 2021; Accepted: Jan. 10, 2022

Abstract

The purpose of this experiment was to provide double amount of iron (Fe), selenium (Se) or manganese (Mn) in weaning pig diet to stimulate the growth and innate immunity. The experiment used 48 LYD crossbred piglets, aged 32 - 35 days. The pigs were divided into 24 pens by gender (half male and half female) and bodyweight, with 6 replicates per each treatment. The control diet contained 20% crude protein, 3,400 kcal/kg digestible energy, 140 mg/kg iron, 0.15 mg/kg selenium and 20 mg/kg manganese. Three treatment diets contained double amount of iron, selenium or manganese, respectively. The experiment was implemented for 4 weeks. The results showed that feeding piglets with double amount of dietary iron, selenium or manganese had no effect on the daily weight gain, feed intake and feed conversion rate. Moreover, there was no difference found on blood traits of pigs. The concentrations of immunoglobulin, IgA, IFN- γ , TNF- α and the antimicrobial peptide pBD-2 (immune-related traits) of piglets fed with double amount of Se were remarkably higher than those fed with controlled diet. However, piglets fed with double amount of dietary Fe or Mn did not have a significant effect on the immune response when compared with feeding with controlled diet. In conclusion, the provision of double amount of Se in diet did not improve the growth performance of piglets but increased the IgA, IFN- γ , TNF- α concentration and the antibacterial peptide pBD-2 contents.

Key words: Antimicrobial peptides, Mineral elements, Piglets, Immunity.

(1) Contribution No. 2689 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Nutrition Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: fcliu@mail.tlri.gov.tw.