

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05959

研究課題名(和文) 子牛期における粗飼料順応と発育・健全性向上を両立する新規哺育育成戦略に関する研究

研究課題名(英文) New strategy for the feeding control of suckling and weaning calves: coexistence of animal health, growth performance and forage feeding

研究代表者

芳賀 聡 (Haga, Satoshi)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・主任研究員

研究者番号：90442748

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)： 哺乳・離乳期はその後の体質を決定し乳牛の生産性を左右する感受性時期とされています。そこで、国産の粗飼料によって高い生産性と健全性を発揮できる体質を持つ乳牛を作出するため、子牛期をターゲットに粗飼料に早期順応させながら高い健全性と発育を促進させる新たな哺育育成コンセプト「粗飼料型スターター給与哺育法」を考案しました。その哺育法の検証の結果、子牛の高い発育を得ると共に、器官形成・組織機能に新たな生理的インパクトを与える可能性を見出すことができました。この成果を基盤にして、本コンセプトの発展研究そして日本型畜産への実用化が期待されます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界の人口増加および気候変動による穀物生産の不安定化や食糧不足など、輸入穀物に大きく依存した国内畜産を取り巻く情勢は世界的に大きく変化しています。その一方で、土地基盤型の自給粗飼料多利用飼養や放牧飼養は持続的な生産体系として大きく期待され、これからの日本型畜産のキーテクになり得ます。そのためには、このような飼養法にマッチした体質を持つ乳牛をどのように作出していくかが重要であり、そのために本研究では、幼児期の栄養条件が代謝生理機能や器官形成に作用し生涯の体質まで決定し得る、という医療概念DOHaDを応用した技術開発を試みています。

研究成果の概要(英文)：The nutrition in calves period can affect the longterm performance of cattle, with concomitant development of absorption and metabolic functions as ruminants. Therefore, we made a new feeding concept that give the ability of early adaptation of forage feeding and high growth performance of calves for the high-performance dairy cows by forage feeding or grazing system in Japan. In the present study, we can show the results that high growth performance and the differences in the organ size and tissue functional gene expressions of calves in weaning period. These results indicated that this concept, forage starter, have a potential for a new feeding system that give the ability of early adaptation of forage feeding and high growth performance of calves for the high-performance dairy cows by forage feeding or grazing in Japan.

研究分野：家畜栄養生理学、家畜衛生学

キーワード：子ウシ 離乳 初期発育 哺乳 スターター 代謝インプリンティング 粗飼料 器官発達

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

輸入濃厚飼料に依存せず、自給(国産)飼料をフル活用した「日本型酪農」を創成するには、自給粗飼料(草飼料)によって高い生産性と健全性を発揮できる体質を持つ乳牛が必要である。そこで我々は DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) 概念に着目した。これは幼児期の栄養条件が、エピジェネティック(DNA 配列変化によらない遺伝子発現の制御)に代謝生理機能や器官形成に作用し生涯の体質まで決定し得る、という医療概念である。牛は複数の胃を持ち、特に一番目の胃(ルーメン)内の発酵と反芻運動により、粗飼料(草飼料)の繊維成分を揮発性脂肪酸(VFA:主に酢酸、酪酸、プロピオン酸)に変換し、それをエネルギー源として吸収・利用できる。あらゆる生理機能はこのルーメン機能に基づき特化している。ただし、ルーメンは生まれつき未発達であり、哺乳期から離乳期にかけて後天的に発達し反芻動物としての栄養生理機能を獲得する。つまり、牛の哺乳~離乳期は、ルーメンをはじめあらゆる体組織が栄養条件に応じて、生理学的、形態学的にまさに発達変化している時期であり、DOHaD 的影響を受けやすい時期と推測される。ならば、哺乳・離乳期に粗飼料順応させることで、粗飼料からの栄養の吸収・利用効率に優れた体質を持った、日本型酪農にマッチした乳牛を創り出せるのではないかと考えた。ただし、一般的なイネ科乾草等を子牛に給与しただけではルーメン機能や免疫機能、発育を促進できないことは証明されており、このポイントには工夫が必要である。そこで、申請者は「粗飼料の繊維・物理性」と「穀物同等の高タンパク・高エネルギー・高消化性」を併せ持つ粗飼料型スターター(発酵アルファルファ飼料)に着目した。

## 2. 研究の目的

以上の背景より、日本型酪農創成に向けて、生涯の体質が形成され得る哺乳・離乳期をターゲットに、粗飼料に早期順応させつつ高い健全性と発育を促進させる、という新たな哺育育成コンセプトの有効性と応用可能性を探るため、本研究では、「発酵アルファルファ飼料」をスターター素材とする哺育育成飼養が、慣行の濃厚飼料スターター給与飼養と比較して、子牛の体質形成、健全性そして発育にどのような影響を与えるか、について詳細に明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1) 哺乳期~離乳期飼養試験

生後~離乳までの期間において、最初の固形飼料(スターター)として発酵アルファルファ飼料を採食する効果が、子牛の体質形成、健全性そして発育にどのような影響を及ぼすか、従来の濃厚飼料スターター給与と比較した。具体的には、新生ホルスタイン子牛をランダムに発酵アルファルファ(FS区)および濃厚飼料(CS区)給与の2区(各n=10および9)に配置した。哺乳期(生後3日~離乳56日齢まで)に強化哺乳法と合わせて各スターターを段階増給法により給与レベルを両区揃えて飼養した。採食量を毎日計測し、採血および体重・体格測定を毎週行った。血液サンプルを用いて白血球分画動態および代謝プロファイルを調べた。離乳56日齢時にルーメン液を採取し、ルーメン液性状および菌叢を調査すると共に、各n=5を実験殺し、胸腺、肝臓、腎周囲脂肪およびルーメンの器官重量を測定した。またルーメン絨毛組織および耳下腺組織からRNAを抽出して各機能関連遺伝子の発現量の解析を行った。

### (2) 育成期発育追跡試験

生後から離乳時期56日齢まで発酵アルファルファおよび濃厚飼料を各スターターとして給与した2区(FS区、CS区各雌子牛n=4)について、90日齢まで各処理を基にした離乳後飼養管理を継続し、その後、同一群にて14カ月齢まで育成管理を行い、その期間の発育レベルの調査を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 哺乳期~離乳期飼養試験

**乾物採食量の違い**: FS区では、粗飼料型スターター(発酵アルファルファ飼料)を新生期から口に少量手やりで馴致させることにより、子牛の餌としての認識付け、自発的採食を促すことが可能であった。3~5週齢期間は、強化哺乳法により代用乳1200g/日(ミルクとして6L/日)給与となったためスターター採食増加量は両区共に鈍化したが、特にFS区で増加が停滞した。6~8週齢の離乳に向けて哺乳量減量段階に入るとスターター採食量は両区で著しく増加したが、その増加度も両区で同等であったためFS区はCS区の採食量には追い付かなかった。それでも8週齢の離乳までに平均1kg DM/日採食させることが可能であり離乳可能と判断した。また採食量の個体差(バラつき)は両区において違いはほとんどなかったため、嗜好性などの面からは実用

性への問題はないと判断した。

**発育度の違い**：全頭において日本ホルスタイン種標準発育値以上の初期発育レベルを確認した。8週齢時の体重はCS区の方がFS区より6kg程度高い傾向にあったが、体格（体高、十字部高、体長、尻長、腰角幅、寛幅、胸深および胸囲）に有意な差はなかった。本結果より、濃厚飼料スターター給与と同等レベルの高い初期発育を粗飼料型スターター給与により得られることが確認された。一方、離乳時の器官形成について、胸腺やルーメンの体重当たり重量は両区で同等であったのに対し、腎周囲脂肪はCS区において高い傾向、そして肝臓については有意にCS区の方が有意に高かったことから、同一強化哺乳条件下においてもスターター採食が一部の器官形成要因として作用していることが示唆され、スターターによる体質制御の可能性が高まった。

**代謝プロファイルの違い**：離乳期から離乳後にかけて、血中グルコース濃度はFS区においてCS区より低く、血中 ヒドロキシ酪酸濃度は逆に高かった。粗飼料型スターター採食は、反芻動物特有の炭水化物代謝機構への移行を早め、グルコース依存型からVFA依存型のエネルギー代謝の早期獲得に寄与する可能性が示唆された。また離乳期には、肝損傷マーカーである血清中ASTおよびGTP活性値がFS区でCS区より有意に低いことも見出された。また、末梢白血球分画（リンパ球、好中球、単球数）に両区の違いはなかった。

**ルーメン液性状および菌叢構成の違い**：離乳時のルーメン液中のVFA濃度・組成および微生物叢パターン（PCR-DGGE法に基づく）は、両区間で大きく異なった。FS区ではCS区と比較して酢酸、酪酸濃度が高く、プロピオン酸濃度が低かった。採食5時間後のルーメン液中pHはCS区がFS区より有意に低く、ルーメンアシドーシスになっている可能性が示唆された（ただし、経時モニタリングは行っていない）。ルーメン微生物叢はクラスター解析の結果、両区間での分類が明確となり、離乳時までに形成される菌叢構成が明らかに違うことが判明したことから、今後は実際にどのような菌が違っているのか、また育成期までこのような差異が継続されるのか検討が必要と考えられる。

**組織発現遺伝子**：離乳期に採取したルーメン絨毛組織の遺伝子発現量の解析により、栄養代謝・輸送系において、モノカルボン酸トランスポーターと共同在することによりそのVFA輸送機能を維持させるCD147のmRNA発現量がFS区において有意に低いことが分かった。これはルーメン内でのプロピオン酸産生量の違いを反映している可能性が示唆された。免疫・炎症応答系において、菌毒素LPSの認識受容体であるTLR4やLPS結合タンパクであるLBPの発現量がCS区において高い傾向にあったことから、ルーメン液pH低下によって生じたLPSの暴露による可能性が示唆され、FS区のルーメン内環境がCS区よりも安定している可能性が示唆された。その一方で、剖検によりルーメン粘膜を観察すると、発酵アルファルファの微粒子がルーメン柔毛間に固着堆積しており、物理的にルーメン柔毛の成長を阻害している可能性も新たに示唆された。離乳期に採取した耳下腺組織中の炭酸脱水素酵素（carbonic anhydrase：CA）のmRNA発現量は、FS区においてCS区の2倍ほど有意に高かった。アルカリ性（約pH8.2）で緩衝能が高く、ルーメン内で多量に産生されるVFAを中和するために必要な耳下腺から唾液分泌機能において重要な役割をもつCAの遺伝子発現が、粗飼料型スターター採食に伴う物理的刺激により促進された可能性があり、離乳に必要なルーメン機能発達およびルーメン環境の恒常性に必要な唾液の分泌機能の同時並行的発達に寄与できる可能性が示唆された。

## （2）育成期発育追跡試験

離乳期から育成期（初回種付け時期の14カ月齢まで）の発育レベルについて、56日齢から90日齢までの体重増加には違いがあり、90日齢においてFS区ではCS区よりも10kg程度低く、有意な差が生じていた。しかし、その後4カ月齢には有意な差は認められなくなり、5カ月齢時にはFS区の体重がCS区に追いつき、14カ月齢まで同等の平均440kg程度となった。また体格については期間を通じて同等レベルであったことから、繁殖供用時期に影響はなかった。

これまで、強化哺乳法が普及する中で離乳前の子牛に乾草を給与すべきではないとされ、VFA産生も物理的刺激もテクスチャータイプのスターターで確保すべきであるという飼養管理法が提唱されてきた。しかし、2010年代、ルーメンアシドーシスへの危惧等から粗飼料併給（forage provision）が子牛の健全な発育にとって有効であることが証明される報告が増え、子牛への粗飼料給与が見直されるようになった。また近年は持続的飼養法としての放牧（草）主体の家畜生産体系への適性追求や穀物フリー飼養によって生産した畜産物に対するニッチ市場の拡大を受けて、「粗飼料型スターター」という新たな飼養管理技術が発案されている。しかし、粗飼料型スターターに関してはエビデンスがかなり不足しており、濃厚飼料型スターター飼養との違いもほとんど分かっていなかった。本研究により、我々は濃厚飼料型スターター法と比較して、その体質、特にルーメン等の組織機能に全く異なる生理的インパクトを与えていることを初めて見出すことに成功しており、更なる新知見を得ていくことで、日本型酪農創成に向けて、生涯の体質が形成され得る哺乳・離乳期をターゲットに、粗飼料に早期順応させつつ高い健全性と発育を促進させる、という新たな哺育育成コンセプトの実用化を進めていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 芳賀聡	4. 巻 10
2. 論文標題 総説：哺乳・離乳期の飼養管理における粗飼料給与の栄養生理学的意義	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 家畜感染症学会誌	6. 最初と最後の頁 43-49
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 芳賀聡
2. 発表標題 哺乳・離乳期の飼養管理における粗飼料給与の栄養生理学的意義
3. 学会等名 第11回家畜感染症学会シンポジウム「新生子牛の疾病と飼養管理」（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 芳賀聡（第4章監修・執筆）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 緑書房	5. 総ページ数 343
3. 書名 新しい子牛の科学：胎生期から初産分娩まで	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	石崎 宏  (Ishizaki Hiroshi)  (10370579)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門草地利用研究領域・ユニット長    (82111)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	遠野 雅徳  (Tohno Masanori)  (50547718)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター飼養管理技術研究領域・上級研究員    (82111)	
連携研究者	小林 寿美  (Kobayashi Hisami)  (80609701)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター飼養管理技術研究領域・主任研究員    (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関