

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 5 月 20 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02346

研究課題名(和文) 負の情動改善を伴う我が国に適した採卵鶏飼育法の構築

研究課題名(英文) Construction of an egg-laying chicken rearing method suitable for Japan with negative emotional improvement

研究代表者

古瀬 充宏 (Furuse, Mitsuhiro)

九州大学・農学研究院・学術特任教員

研究者番号：30209176

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：ケージ飼育(C区)と群飼平飼い(F区)との間で長期のストレス・栄養状態を比較し、改善策を提案することで、我が国に適した養鶏技術の構築・提案をすることを目的とした。卵黄の遊離アミノ酸濃度(YFAA)の変化などを指標とした。青色LED下と白熱灯下で、C区とF区に大きな違いはなかった。LEDにより鎮静効果が認められたがYFAAは低下した。暑熱ストレスではC区とF区に違いはなく、両区とも暑熱ストレスによりYFAAは著しく低下した。C区にエンリッチ処理したCE区はF区とともにC区よりYFAAは減少した。ケージ飼育は有効で、群飼平飼い、LEDならび暑熱ストレスでは飼料タンパク質の補足の必要性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食卓卵の安定確保のために、イメージが先行する形になっているアニマルウェルフェアの技術に対してニワトリが適切に反応しているのかを検証する必要がある。今回の一連の研究において、群飼平飼いにおける1羽当たりの飼育面積は、単飼ケージに比べ1.7倍程度広いにも関わらず利点は認められず、むしろマイナスの効果が確認された。一方的に単飼ケージの使用がニワトリに不利に働くという概念を再考する必要性が示された。得られた結果より飼育方法を改善すれば、生産者にとっては産卵鶏を健康的に飼育でき、消費者にとっては遊離アミノ酸を十分に含む栄養価の高い鶏卵の購入に繋がる可能性が示唆され社会的意義は大きいものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to compare long-term stress and nutritional status between cage rearing (C group) and group rearing in the flat (F group), and to propose measures for improvement, to establish and propose poultry farming techniques suitable for our country.

Changes in the concentration of free amino acids (YFAA) in egg yolk and other parameters were used as indicators. There was no significant difference between C and F groups under blue LED and incandescent light; LED showed a sedative effect, but YFAA decreased. Heat stress showed no difference between C and F groups. Heat stress significantly reduced YFAA in both groups, and YFAA decreased in C group with enrichment (CE group), as well as in F group. Cage rearing was effective but suggesting the need for supplemental dietary protein to group rearing, LED, and heat stress.

研究分野：動物管理学

キーワード：IgY 青色LED ケージ飼育 行動 採卵鶏 飼育環境 暑熱ストレス 卵黄遊離アミノ酸

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

現在、畜産業においては従来の生産性を考慮した飼養管理技術から、西欧諸国が主導するアニマルウェルフェアを考慮した飼養技術への移行が強く求められている。個別管理で対応が可能な大型家畜に比べ、ニワトリは単位面積当たりの飼育数が極端に多いために個別管理は非常に難しいものとなっている。ニワトリの飼育に対して、アニマルウェルフェアの概念が求めるものとして、1) 飼育面積の拡張、2) 飼育ケージの形状の改変、3) 初生雄ヒナの殺処分の回避、4) 本能行動履行への回帰、5) デビーキング(嘴の切断)の禁止、6) 強制換羽(エサを与えず産卵を停止させて、人工的に羽毛が抜け始めるのを誘起すること)の禁止などが挙げられる。国内の卵の生産を考慮すれば上記全ての条件を受け入れることは非常に難しいことが理解できる。特に取り入れにくい技術課題は、1) 飼育面積の拡張と2) 飼育ケージの形状の改変であるように思われる。

平成29年度の国内の鶏卵生産量は260万1千トンで、前年度比で1.7%増加し、自給率は96%となっていた(鶏鳴新聞2018年8月25日号)。これらの多くが従来の飼養管理技術を用い生産されている。平成30年度の国内鶏卵生産量は前年比1.0%増、また、鶏肉の生産量と消費量は世界的に見て肉類の中で最高の伸びを示した(鶏鳴新聞2019年3月15日号)。家禽産業は人間の栄養やQOLに大きく貢献していることが伺える。ここにアニマルウェルフェアの考えを基にする飼育面積の拡張を追求した新たなケージの導入を全面的に行えば、国内の卵需要を賅うことができなくなる。国内消費量の5%程度を海外から輸入しているが、依存する割合を高くせざるを得ず、その際に輸入先の卵がアニマルウェルフェアの考えに則って飼育されているのが追求され、また、輸入先で鳥インフルエンザが発症すれば輸入停止となり需要を賅うことはできない。さらに、鶏卵の輸入は賞味期限の問題で航空輸送となり価格は高いものとなる。

一方で、自然環境の下で群飼平飼いを選択すると、毎年のように国内で発症する鳥インフルエンザの驚異を克服することができないばかりか、発症が確認されれば周囲の生産者に及ぼす影響は甚大である。鳥インフルエンザに感染しないような密閉空間を形成できる鶏舎が必要であるが、その空間にアニマルウェルフェアの概念に従ったケージを多く導入することはできない。また、毎年のように集中豪雨による被害により建物の浸水が報告され、採卵鶏を床で群飼平飼いした場合には救済することが困難となる。さらに、ニワトリは集団で飼育すると、互いにつつき合いを繰り返す、最悪の場合には、傷口から感染し、死に至る個体までが見受けられる。この点で、群飼平飼いがニワトリにとって本当に良いかは疑問となる。飼育密度よりも飼育環境がニワトリのウェルフェアに強く影響することも報告されている<sup>1)</sup>。ただし、我が国の実情のみを訴えただけでは海外の理解を得ることは難しく、我が国独自の飼養技術を確立し、ニワトリに対する負の面を軽減できることを証明する必要がある。アニマルウェルフェアを充足した卵の生産を達成するには、現状のケージシステム下でストレスを軽減することが重要なポイントとなる。しかし、面積とケージの福祉的課題を克服できるような飼養技術は未だ開発されていない。また、イメージが先行する形になっているアニマルウェルフェアの技術に対してニワトリが適切に反応しているのかを検証する必要もあった。

### 2. 研究の目的

上記に対して、我が国が従来用いてきた採卵鶏の飼育方法が本当に負の情動を及ぼしているのかを確認し、そうであれば栄養学ならびに管理学的な工夫を加えることで、ストレスの軽減を検討し、飼育状況に即した新たな採卵鶏飼養技術の構築を行うことが必要と考えた。過去には飼養標準に環境の因子が加味されていないことが指摘されたが<sup>2)</sup>、その後の飼養標準においては環境温度の影響が考慮された。本申請で得られた事実を基に、日本飼養標準にアニマルウェルフェアを考慮した栄養推奨値を新たな項目として提案することを目指すこととした。それによって、新たな飼育法を海外に広め、理解を得ることで、我が国における食卓卵の安全で安定した供給を確保することが可能となる。そこで、従来のケージ飼育した群と群飼平飼い群との間でストレス反応の違いを明確化し、ストレス緩和効果が期待される処理により、我が国に適した養鶏技術の構築・提案を画策することを目的とした。

### 3. 研究の方法

試験期間を通じて共通した材料と測定した項目は以下の通りである。

- 1) 白色レグホーン系産卵鶏を使用し、飼料(粗タンパク質含量18%、代謝エネルギー2800 kcal/kg)および水は自由摂食とした。飼料摂取量、卵重および産卵数を測定し、ヘンデイ産卵率(総産卵数÷延羽数×100)を算出した。

- 2) 試験最終日には、1日に3回、1時間ずつ行動観察を行った。ニワトリの行動は、「佇立」、「歩行」、「腹臥」、「摂食」、「飲水」、「砂浴び(様)」、「床啄」および「羽繕い」に分類して集計した。
- 3) 行動観察の翌日には、翼下静脈より血液を採取し、血漿グルコース濃度および遊離脂肪酸濃度の測定に供した。また、試験終了時には過麻酔の後、屠殺して盲腸内容物を採取し、内容物からDNAを抽出して細菌叢の解析に供した。対象とした細菌群は、乳酸菌群、大腸菌群、クロストリジウム菌群、カンピロバクター菌群、サルモネラ菌群およびビフィズス菌群であった。
- 4) 過去の研究では、血液を特定の時間あるいは繰り返し採取することで、短期あるいは長期のストレスや栄養状態を説明してきた。しかし、サンプル採集時にストレス負荷がかかるばかりでなく、サンプルの採取時期の影響を把握することが難しかった。そこで非侵襲的にストレスや栄養状態を把握する手法として、卵黄中のコルチコステロン、IgYならびに遊離アミノ酸を測定した。その理由は、それらの指標物質が7~12日間かけて卵胞に蓄積するためである。

実験条件としては、「負の情動の軽減」を目指して、1) 光と飼育形状による制御、2) 高温環境に対する飼育形状による制御ならびに3) ケージ環境と飼育形状による制御により正の情動を付与した環境で生体への影響の差異を検出し、それぞれの環境について従来のケージによる負の情動が実際に生じるかを検討することとした。実験条件の詳細について下記に述べる。

#### 1) 光と飼育形状による制御

実験には、青色LEDを照明に用いたLED区と白熱灯を用いた白熱灯区(いずれも平均30ルクス)さらにそれぞれの照明条件において単飼バッテリーケージ(C区: 920 cm<sup>2</sup>/羽)あるいは群飼平飼い(F区: 1600 cm<sup>2</sup>/羽)で飼育する環境を設けた。そのほかの飼育条件については、照明は16時間(16L 8D、5時点灯・21時消灯)とした。

#### 2) 高温環境に対する飼育形状による制御

単飼バッテリーケージ(C区: 920 cm<sup>2</sup>/羽)飼育および群飼平飼い(F区: 1620 cm<sup>2</sup>/羽)に配置し、1週間の馴致の後、2週間自然環境下で暑熱暴露した。

#### 3) ケージ環境と飼育形状による制御

単飼バッテリーケージ(C区)、単飼エンリッチドケージ(CE区)あるいは群飼平飼い(F区)で飼育した。飼育は2週間とした。C区とCE区は床面積920 cm<sup>2</sup>/羽、F区は1620 cm<sup>2</sup>/羽であった。なお、CE区には止まり木(長さ29cm、幅5cm、厚さ3cm)とセラミック製爪研ぎ(7cm x 14cm x 3cm)を設置した。

### 4. 研究成果

#### 1) 光と飼育形状による制御

ニワトリの行動は、いずれの区も「佇立+歩行」が40~50%を占め、最も高い割合であることが観察された。飼育面積の影響について見た場合、光源の種類にかかわらず、F区において「腹臥」が期待値よりも多いこと、「摂食」についてはC区において多いことが示された。目視による観察において、F区では他のニワトリによる摂食の妨害が観察され、摂食が短時間であったことが摂食量低下の原因と考えられた。一方、青色LEDの照射は産卵鶏の維持行動には影響がないように考えられた。「床啄き」については、いずれの区でも10~17%ほど観察されたが、白熱灯かつF区においてその割合が期待値よりも多いこと、青色LEDかつF区で少ないことが示され、青色LEDの鎮静効果による影響があったものと考えられた。生産に関わる項目については、ヘンデイ産卵率(総産卵数÷延羽数×100)に著しい差は認められなかったが、飼料摂取量および卵飼比(飼料摂取量÷卵重)において飼育面積(ケージ vs 群飼平飼い)による影響があり(P<0.001)、いずれもF区のほうが高かった。これは、青色LED照明は卵生産に影響を及ぼさないものの、群飼平飼いでは活動性(歩行)の高まりから卵生産の低下に繋がることを示唆するものである。

試験終了後に採取した血液の分析結果では、血漿グルコース濃度には差はなく、遊離脂肪酸濃度は、飼育面積の効果が示され、F区のほうがC区よりも低い値となった。一般的に、血漿グルコース濃度は、ストレス指標であるコルチコステロン濃度の上昇に伴って増加し、遊離脂肪酸濃度は交感神経系の活動更新によるアドレナリン、ノルアドレナリン濃度の上昇に伴って増加することが知られており、両者の血漿濃度が高い場合は、ストレス状態である可能性が考えられる。ケージ飼いのような行動制限がある場合にはストレス状態となるものと予想されがちであるが、今回の結果からは、少なくとも採血時にはケージ飼いであっても、ストレス状態にあったとは考えにくいものであった。

卵黄中のコルチコステロン濃度は、飼育形態の違いによる差は見られなかったが、青色LEDの

照射により低下することが示された。卵黄中のコルチコステロンは、卵黄が形成される過程で蓄積されるものなので、長期にわたって見ても飼育面積がストレスアとなっていたとは考えにくい。一方、青色 LED の照射は、当初期待したストレス緩和効果を発揮するものと推察された。

卵黄中の IgY 濃度は、C 区のみにおいて青色 LED の照射により増加することが示された。コルチコステロンは、免疫系を負に制御するため、青色 LED の照射によるコルチコステロン濃度の低下が、逆に免疫系を亢進した可能性がある。卵黄中の遊離アミノ酸濃度は、青色 LED の照射によって、Asp, Glu, Ser, Asn, Gly, Thr, Arg, Pro, Tyr, Val, Cys, Leu, Trp が低い値を示した。一方、飼育面積（ケージ vs 群飼平飼い）による影響については、Asp, Hpro, Ser, Gln, Arg が、C 区よりも、F 区で低い値を示した。これらのアミノ酸は血中でも同様の傾向で変化した。変化が認められたアミノ酸のほとんどに鎮静作用、催眠作用あるいは両作用が報告されている<sup>3)</sup>。LED や群飼平飼いによる遊離アミノ酸の低下はストレス反応の緩和にそれらが関わった可能性がある。卵黄のアミノ酸総量が低下することに対し、飼料タンパク質やアミノ酸の補足が必要となろう。その結果、遊離アミノ酸低下により品質が低下した食卓卵の品質を改善できる可能性が示唆される。

## 2) 高温環境に対する飼育形状による制御

試験後半の数日間、台風のため気温は低下したが、それまでは日平均気温は上臨界温度を超えていた。産卵数・産卵総重量ともに、C 区が F 区を上回っていた。一方、飼料摂取量については、F 区の方が多く飼料効率が F 区で悪いことが示された。

行動型については、いずれの試験区、観察日共に維持行動（摂食・飲水）に大きな違いはなかった。試験開始時では C 区より F 区で「佇立」の割合が若干多かったものの、各行動の割合に大きな違いは示されなかった。しかし、試験最終日では、「腹臥」において両区間で違いが示された。これについて詳細な記録はとっていないものの、数羽の上位個体が最劣位個体を頻繁に攻撃していることが見られ、それに伴って、歩行が増加したことが原因と考えられた。開始日は昼間の高温により行動の主な目的が生命維持に注がれたため行動割合に両区間で大きな違いはなかったが、最終日の比較的過ごしやすい気温では、自己よりも他に注意が払われた結果と推察される。

試験開始前と試験終了時に採取した卵から卵黄抽出物を得て、卵黄中のコルチコステロン濃度を測定した。試験開始前には、C 区と F 区でコルチコステロン濃度に差は見られなかったが、暑熱暴露後の試験終了時には、C 区よりも F 区のコルチコステロン濃度が約 1.5 倍高くなった。血液中の IgY 濃度は、試験前と試験後の何れにおいても、C 区と F 区で差は見られなかった。

卵黄の遊離アミノ酸濃度の変化において、C 区と F 区の間にて全ての遊離アミノ酸濃度に変化はなく飼育形状による影響はないものと判断した。それは、飼育形状の違いよりも暑熱環境の影響が強すぎるためと考えられる。事実、両飼育形状共に暑熱ストレス負荷により遊離アミノ酸濃度は減少し、アミノ酸が暑熱により消費することが明らかとなった。表 1 には有意差が認められなかった両飼育形状で得られた値をプールして計算した変化を示す。大きく遊離アミノ酸が減少した一つの要因は暑熱によって飼料摂取量が低下したことによる。もう一つの要因として考えられるのは特定のアミノ酸が暑熱ストレスの軽減に使用されたためであろう。事実、-2.3%から-90.9%までとアミノ酸によって減少割合が大きく異なる。暑熱ストレスに対応するために夏季には飼料タンパク質あるいは減少割合の高いアミノ酸の給与量を高める必要性が示唆された。一方、タンパク質には食事誘発性熱産生作用があるため給与法についてさらなる検討が必要である。

## 3) ケージ環境と飼育形状による制御

表 1. 卵黄遊離アミノ酸の処理後の変化 (%)

アミノ酸	暑熱暴露後
Ala	-87.8
Arg	-62.9
Asn	-44.4
Asp	-33.8
Cys+Cys-Cys	-2.3
Gln	-53.2
Glu	-35.5
Gly	-59.0
Ile	-51.5
Leu	-42.6
Lys	-45.4
Met	-74.2
Orn	-90.9
Phe	-39.7
Pro	-76.5
Ser	-45.6
Trp	-70.0
Tyr	-56.7
Val	-54.8

赤字は有意(P<0.05)な変化を示す。

盲腸内細菌叢の解析結果から、乳酸菌群およびビフィズス菌群の値が CE 区において他の 2 区よりも高いことが示された。一方、大腸菌群やクロストリジウム菌群については、F 区で高いことが認められた。サルモネラ菌群およびカンピロバクター菌群に関しては、区間に差は示されなかった。

試験開始前には、3 区間に血液と卵黄のコルチコステロン濃度に差は見られなかった。試験終了時には、CE 区の血液と卵黄コルチコステロン濃度が増加傾向にあったものの、3 区間で統計的な差は見られなかった。血液中の IgY 濃度は、試験前と試験後の何れにおいても 3 区間で差は見られなかった。また、腸管免疫機能の指標として、回腸におけるムチン遺伝子の発現量を測定したが、3 区間に差は見られなかった。よって、C 区に比べて、CE 区や F 区で採卵鶏のストレスが軽減されることの証拠は得られなかった。また、2 週間程度の飼育環境の変化では免疫機能への影響はないと考えられた。

さらに、卵黄の遊離アミノ酸の濃度変化(表 2)において、C 区では測定した 21 種類全てのアミノ酸において実験開始時と終了時に有意な差は認められなかった。CE 区と F 区では終了時に共通して Asn, Asp, Glu, Leu, Ser および Tyr 濃度が有意に減少した。さらに、CE 区では Gln と Gly が、F 区では Arg, Ile, Lys, Phe, Pro, Trp, Val も有意に減少した。C 区に比して、CE 区と F 区では飼料タンパク質の要求量が高まる可能性が示唆された。F 区において Thr は処理後に検出限界以下となった。本実験から言えることは、用いた単飼ケージレベルの面積であれば、エンリッチメントを使用する意味はないかも知れない。また、群飼平飼いにおける遊離アミノ酸の減少は、1) 光と飼育形状による制御において得られた結果よりも顕著であり、群飼平飼いでは飼料タンパク質の補足の必要性が確認された。

本課題を遂行中の令和 4 年度中に発生した鳥インフルエンザによる採卵鶏の大量殺処分は卵価の高騰をもたらした。この事実は、採卵鶏の飼養羽数の確保が国民の生活水準を維持するために非常に重要であることを明確にした。今回の一連の研究において、群飼平飼いにおける 1 羽当たりの飼育面積は、単飼ケージに比べ 1.7 倍程度広いにも関わらず利点は認められず、むしろマイナスの効果が確認された。一方的に単飼バタリーケージの使用がニワトリに不利に働くという概念を再考する必要性が示唆された。また、卵は体内のストレス関連指標の変化を反映することが判明したことから、非侵襲的に長期にわたる産卵鶏ストレス状態を評価するのに卵黄成分の分析が有効であると判断された。

しかし、今回の結果はあくまでも実験室レベルでの結果であり、そのまま農場の産卵鶏に当てはまるとは限らない。白色卵を産む白色レグホーン系の産卵鶏のみではなく、褐色卵を産む系統でも確認する必要があるばかりでなく、産卵初期や後期など週齢などに関する詳細な検討も必要になろう。また、今回得られた卵黄の遊離アミノ酸の変動を考慮し、飼育環境に適した飼料配合設計や飼養標準に新たな数値設定を求める必要性が示唆される。その結果、生産者にとっては産卵鶏を健康的に飼育でき、消費者にとっては遊離アミノ酸を十分に含む栄養価の高い鶏卵の購入に繋がるものと考えられる。いずれにせよ、農場の飼育環境に近い条件のニワトリで今後解析を行う必要がある。

#### 引用文献

- 1) Dawkins MS et al., Nature 424:342-344, 2004.
- 2) 押尾全悦ら、畜産の研究、48:501-502, 1994.
- 3) Furuse M, Eur. J. Pharmacol., 762:382-393, 2015.

表 2. 卵黄遊離アミノ酸の処理後の変化(%)

アミノ酸	C区	CE区	F区
Ala	0.3	-20.9	-23.3
Arg	-3.0	-37.3	-29.7
Asn	0.9	-28.4	-25.2
Asp	-0.3	-23.8	-37.0
Gln	4.0	-26.2	-14.1
Glu	-1.9	-21.4	-32.2
Gly	-1.5	-25.7	-24.1
His	-34.2	-29.6	-16.9
Ile	-5.2	-29.5	-30.6
Leu	-4.5	-25.3	-31.5
Lys	3.9	-44.2	-34.5
Met	-10.7	7.2	-26.7
Phe	0.2	-31.4	-33.8
Pro	-5.3	-24.5	-32.1
Ser	-2.3	-27.5	-30.3
Tau	23.3	-17.9	1.6
Thr	0.5	-40.5	-100
Trp	-2.5	-18.6	-31.7
Tyr	-10.8	-18.4	-34.9
Val	-7.3	-15.3	-33.3

赤字は有意(P<0.05)な変化を示す。

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 豊後貴嗣・村井篤嗣・古瀬充宏	4. 巻 61
2. 論文標題 ケージと平飼いで飼育した採卵鶏への青色LEDの照射はストレスを軽減し得るか？	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 養鶏の友	6. 最初と最後の頁 18-20
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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 豊後貴嗣・大内義光・村井篤嗣・古瀬充宏
2. 発表標題 ケージと平飼いで飼育した採卵鶏の行動及び卵生産に及ぼす青色LED照明の影響
3. 学会等名 日本家禽学会 2022年度秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村井篤嗣・吉田真弥・Phuong TV・後藤達彦・井尻大地・大内義光・豊後貴嗣・古瀬充宏
2. 発表標題 ケージと平飼いで飼育した採卵鶏への青色LEDの照射は体内ストレスを軽減し得るか？ 卵を用いたストレス指標の解析
3. 学会等名 日本家禽学会 2022年度秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古瀬充宏・松尾涼平・青木一生・篠塚まりな・谷口楓果・洲崎礼紀・安尾しのぶ・種戸亮介・村井篤嗣・高橋由美・檜垣邦昭・横路愛奈・大内義光・豊後貴嗣
2. 発表標題 飼育環境及び暑熱ストレスが卵黄遊離アミノ酸濃度に及ぼす影響について
3. 学会等名 日本畜産学会第131回大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	村井 篤嗣  (Murai Atsushi)  (10313975)	名古屋大学・生命農学研究科・教授   (13901)	
研究分担者	安尾 しのぶ  (Yasuo Shinobu)  (30574719)	九州大学・農学研究院・教授   (17102)	
研究分担者	豊後 貴嗣  (Bungo Takashi)  (40325361)	岡山理科大学・獣医学部・教授   (35302)	

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
---------	---------