

導入後の飼養形態が子牛のストレス状況に及ぼす影響

秋吉 珠 早¹⁾・茶 川 元 樹¹⁾・入 沢 綾 香²⁾
今野 幹 雄³⁾・福 森 理 加²⁾・及 川 伸²⁾
阿部 紀 次¹⁾・佐 藤 綾 乃¹⁾・加 藤 敏 英^{1)†}

Effects of post-introduction breeding conditions on indicators of calf stress

Misaki AKIYOSHI¹⁾, Genki CHAGAWA¹⁾, Ayaka IRISAWA²⁾,
Mikio KONNO³⁾, Rika FUKUMORI²⁾, Shin OIKAWA²⁾,
Noritugu ABE¹⁾, Ayano SATO¹⁾ and Toshihide KATO^{1)†}
(Accepted 14 July 2021)

はじめに

近年、国内でも牛を飼育する農場の大規模化が急速に進行している。牛の導入には、船舶やトラックによる輸送が不可欠だが、輸送は家畜にとってストレスになることが知られている。また、不特定多数の農場で飼養された導入牛は、導入後の群飼育による社会的ストレスが増大し、栄養状態の悪化が懸念される。したがって、輸送および導入後のストレス対策は、その後の生産性低下を防ぐ手段として極めて重要なことである。家畜のストレスの程度を知るうえで、血液や唾液、乳汁などを用いたコルチゾル測定の有用性が報告されている^[1-3]。

一方で、これらの検査成績は短期のストレス指標としては有用である^[4]が、日内変動や概日周期がある^[5]ため、中長期のストレスを反映するものではないと考えられている。そのため、近年は家畜に苦痛を与えず容易に採取することができ、長期保存も可能^[6]な被毛や糞便の検査が行われている。被毛中のコルチゾル含有量は、数週から数か月程度の長期的なストレス評価に有用であるという報告^[4,7-9]が多い中で、糞便中コルチゾル代謝物含有量も被毛中のそれと数週間相関した^[10]ことから、中長期的なストレス評価の材料として有用と考えられる。これ

まで、国内においては育成牛を対象とした輸送や飼養形態の変化に伴うストレスに関する報告は散見されるものの、哺乳子牛を対象とし、糞便中コルチゾル代謝物含有量を調べたという報告はない。

そこで、本研究では4週齢前後の子牛を毎週定期的に導入する肉用牛哺育育成農場を対象に、導入後1週間の個別飼育期間を設定した場合のストレス状況および栄養状態を糞便中コルチゾル代謝物含有量ならびに血液性状により評価した。本研究の目的は、大型農場における新規導入子牛に対する個別飼育期間設定のストレス軽減に対する有効性を調べることにした。

材料と方法

1) 調査農場：宮城県内で黒毛和種ならびにホルスタイン種と黒毛和種の交雑種(F1)を約1,500頭飼養する肉用牛哺育育成農場を調査農場とした。この農場では、約60km離れた山形県家畜市場から、F1オス子牛を毎週16頭導入していた。導入牛は家畜運搬用トラックで輸送され、導入後は16頭を哺乳ロボット牛舎(飼養面積11.1×6.8=75.5m², 4.7m²/頭)で一群管理していた。導入直後から2週間は代用乳(プレミアムワンミルク®; CP30%, TDN108%, Fat18%, フィードワ

¹⁾ 酪農学園大学獣医学群獣医学類, 生産動物医療学分野, 生産動物外科学ユニット, 北海道江別市文京台緑町 582
Farm Animal Clinical Science, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, 582 Midorimachi, Bunkyoudai, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

²⁾ 酪農学園大学獣医学群獣医学類, 予防獣医学分野, ハードヘルス学ユニット, 北海道江別市文京台緑町 582
Preventive Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, 582 Midorimachi, Bunkyoudai, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

³⁾ NOSAI 山形・中央家畜診療所, 山形県山形市大字七浦字北川原 286-1
Central Livestock Clinic, Yamagata PFAMAA, 286-1 Nanaura, Yamagata 990-2171, Japan

† 連絡責任者 加藤敏英(酪農学園大学)
(所属学会: 日本家畜臨床学会・家畜感染症学会・家畜衛生学会ほか)

ン(株)を7.2ℓ/日、3週目以降は週ごとに1日5.4ℓ、3.6ℓおよび1.8ℓ給与されていた。また、チモシー乾草と人工乳(プレミアムスタート®; CP22%, TDN75%, Fat2.0%, フィードワン(株))を自由採食させていた。敷料にはおが屑を用い、約2週間で交換されていた。また、呼吸器病予防を目的としたウイルス5種混合ワクチンを接種されていた。

- 2) 供試牛: 2019年2月に新規導入された、山形県内各地の酪農場で生産されたF1オス子牛、2週分、計32頭を供試した。先に導入された16頭(日齢 37.2 ± 1.6 、体重 81.6 ± 1.8 kg; 平均値 \pm 標準偏差)は従来通り群飼育でのロボット哺乳(対照群)とし、翌週導入の16頭(日齢 41.0 ± 1.6 、体重 89.5 ± 1.8 kg)は導入後1週間のみ、個別ハッチ(飼養面積 $0.9 \times 1.8 = 1.62$ m²)で朝夕2回哺乳瓶から哺乳した(試験群)。試験群の哺乳量は、対照群と同量とした。なお、市場上場時の平均体重は試験群が対照群よりも重く、群間に有意差が認められた($P < 0.01$)。
- 3) 検査材料および項目: 胸囲計測(黒毛和種用体重推定尺、富士平工業(株)、東京)と採血を導入日(D-0)、導入後7(D-7)および15日(D-15)に実施した。採血管はEDTA加、プレインおよびヘパリン真空採血管とした。また、直腸便を輸送前、導入後1日(D-1)、D-7、8日(D-8、群飼育移行日、試験群のみ)およびD-15に採取した。採取した血液および直腸便は直ちに遮光、10℃以下の冷蔵環境下に保存された状態で、血液はNOSAI山形検査室ならびに酪農学園大学、糞便は酪農学園大学へ搬入された。NOSAI山形では血液検査を当日に行い、酪農学園大学では血清および血漿を分離し、糞便とともに検査実施まで-30℃で冷凍保存された。検査項目は、NOSAI山形においては赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)とそれに占める好中球(Neu)およびリンパ球(Lym)の割合、ヘマトクリット(Ht)値(以上、ADVIA202i; Siemens AG, ドイツ)、血清中の総タンパク(TP)、血糖値(Glu)、遊離脂肪酸(NEFA)、ガストリン(Gast)、コルチゾル(Cort)(以上、AU 680; Beckman Coulter, 米国)、マロンジアルデヒド(MDA)(TBARS法、MDA測定キット、日研ザイル(株)日本老化制御研究所、東京)、酪農学園大学ではペプシノーゲン(Pep)活性値(Berghenら^[11]による方法)、血漿中グルカゴン様ペプチド(GLP)-1および2、インスリン(Ins)およびインスリン様成長因子(IGF)-1濃度(以上、

時間分解蛍光免疫測定法)を測定した。直腸便では、便中に含まれるコルチゾル代謝物含有量(f-Cort)を調べた。検査方法は、先ず糞便を恒温乾燥機で60℃、48時間乾燥した。その後、粉碎機(MS-100, TOMYSEIKO, 東京)を用いて、5,000 rpm、150 secで粉末状にし、0.04 gを2.0 mlチューブに入れた。粉碎後の処理は、メタノールを1.0 ml加えてローテーターで攪拌(15 rpm、室温、24時間)し遠心分離した(10,000×g、室温、10分間)。その後、上清を試験管に移し、ヒートブロックで38℃に加熱しながら、窒素ガスで乾固(30分)させたあと、PBS0.3 mlを加え溶解、室温で1時間振盪しコルチゾル抽出液とした。f-Cort測定は、サンプルを蒸留水で5倍に希釈し、ELISA測定キット(CORTISOL Enzyme Immunoassay Kit, ARBOR ASSAYS, 米国)を用い、マイクロプレートリーダー(I Mark マイクロプレートリーダー、バイオ・ラッド ラボラトリーズ(株)、東京)を用い、450 nmの波長で可視光濃度を測定した。

- 4) 統計解析: 各測定値は平均値 \pm 標準誤差で示し、JMP13.0(SAS Institute Japan, 東京)のフィットモデル、糞便中コルチゾル代謝物含有量についてはマン・ホイットニーのU検定を用い、群間ならびに群ごとに比較した。いずれも有意水準5%未満を有意差ありとした。

成 績

- 1) 胸囲測定値: D-0、D-7およびD-15の測定値は、試験群ではそれぞれ 106.1 ± 0.9 、 108.3 ± 0.9 および 109.1 ± 1.1 cm、対照群では 99.3 ± 0.8 、 104.5 ± 0.9 および 104.7 ± 1.0 cmであった。両群とも、D-0に比べD-15に有意に高値を示した(試験群 $P < 0.05$ 、対照群 $P < 0.01$)。D-0の値を100としてその後の増加率を調べたところ、D-7およびD-15の増加率は試験群と対照群、それぞれ2.1および2.8%、5.3および5.4%であり、どちらの時点でも試験群に比べ対照群が有意に高かった($P < 0.05$)。
- 2) 血液検査成績: RBC、WBCおよびHt値には、いずれの検査日においても群内および群間で有意差は認められなかった。一方、WBCに占める好中球の割合は試験群に比べ対照群が、リンパ球の割合は対照群に比べ試験群が、3時点とも有意に高かった($P < 0.01$ または0.05)(Table 1)。
- 3) 血清生化学的検査成績: TPは、両群とも5.5 mg/dℓ前後で推移した。試験群では増加傾向、

Table 1 Hematologic findings

Inspection item	Group	Sampling points		
		Day-0	Day-7	Day-15
RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	Test	996.0 \pm 22.9	1027.0 \pm 25.4	1060.0 \pm 19.0
	Control	976.4 \pm 38.0	1088.3 \pm 26.7	1086.3 \pm 28.2
Ht (%)	Test	36.0 \pm 1.3	34.9 \pm 1.0	35.0 \pm 1.0
	Control	34.4 \pm 1.5	37.7 \pm 1.3	36.4 \pm 1.2
Hb (g/dl)	Test	11.6 \pm 0.4	11.7 \pm 0.4	12.0 \pm 0.4
	Control	11.5 \pm 0.5	12.3 \pm 0.5	12.2 \pm 0.4
WBC ($\times 10^2/\mu\text{l}$)	Test	113.7 \pm 7.1	86.8 \pm 4.5	89.3 \pm 4.1
	Control	119.0 \pm 12.4	97.4 \pm 7.8	84.0 \pm 4.6
Ba (%)	Test	1.04 \pm 0.07	0.91 \pm 0.05*	1.35 \pm 0.08*
	Control	0.98 \pm 0.06	1.23 \pm 0.12	1.77 \pm 0.15
Eo (%)	Test	1.33 \pm 0.22*	4.16 \pm 0.57	0.54 \pm 0.25*
	Control	2.25 \pm 0.37	2.88 \pm 0.47	2.21 \pm 0.43
Neut (%)	Test	12.09 \pm 0.93**	25.56 \pm 1.98*	3.07 \pm 2.15**
	Control	46.61 \pm 3.23	36.58 \pm 2.69	29.34 \pm 2.58
Lym (%)	Test	83.93 \pm 0.88**	60.83 \pm 2.51*	93.68 \pm 3.11**
	Control	42.56 \pm 3.01	53.28 \pm 2.69	57.63 \pm 2.42
Mon (%)	Test	1.51 \pm 0.12**	6.48 \pm 0.82	0.85 \pm 0.50**
	Control	5.51 \pm 0.48	4.84 \pm 0.36	7.20 \pm 0.61
LUC (%)	Test	0.11 \pm 0.02*	1.04 \pm 0.44	0.53 \pm 0.39*
	Control	2.08 \pm 0.53	1.18 \pm 0.39	1.83 \pm 0.40

Data is Mean \pm SE, LUC: Large unstaining cells

Day-0: Arrival, Day-7: 7 days after arrival, Day-15: 15 days after arrival

Significant difference between groups in each sampling point *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

対照群では減少傾向がみられたものの、有意な差はなかった。Glu および NEFA は、両群ともほぼ同様の推移を示し、D-0 から D-15 にかけて段階的に減少した。MDA は、試験群が D-0 に対照群よりも有意に高値 ($P < 0.01$) を示した。D-7 はほとんど変化がなく、D-15 にやや低い値を示した。これに対し、対照群では D-7 の測定値が D-0 の約 4.3 倍に上昇し、試験群に比べ有意に高値を示した ($P < 0.01$) が、その後 D-15 には試験群と同程度まで低下した。測定値を変化率で見ると、D-7 および D-15 とも試験群に比べ対照群が有意に高かった ($P < 0.01$)。Pep 活性値は、試験群が D-0 に対照群に比べ有意に高値 ($P < 0.01$) を示し、その後はほぼ横ばいで推移した。これに対し、対照群は D-0 に比べると D-7 に約 1.3 倍、D-15 に 1.53 倍と段階的に上昇し、D-15 には試験群に比べ有意に高値を示した ($P < 0.01$) (Table 2)。

4) 血漿ホルモン濃度測定成績: Ins は、両群とも同様の推移を示し、D-0 から段階的に減少したが、D-15 の時点では試験群が対照群に比べ有意に高値を示した ($P < 0.05$)。GLP-2 は、試験群で段階的に上昇し、D-15 には対照群に比べ有意に高値を示した ($P < 0.05$)。また、IGF-1 は試験群

で D-0 および D-7 に比べ D-15 に大幅に下降したのに対し、対照群では D-7 に著しく下降し試験群よりも有意に低値だったものの、D-15 には上昇し試験群よりも有意に高値を示した (いずれも $P < 0.05$)。Gast は、試験群では D-0 の平均値 261.0 pg/ml に比べ、D-7 と D-15 はそれぞれ 232.0 および 244.0 pg/ml と低値を示したのに対し、対照群では D-0 の 228.0 pg/ml に比べその後は 252.0, 294.0 pg/ml と上昇していた。いずれの検査日においても、群内および群間において有意差は認められなかった。GLP-1 では特徴的な推移はみられず、群内および群間に有意差もみられなかった (Table 2)。

5) f-Cort: 両群とも導入前から D-7 にかけては、ほぼ同様の推移を示した。すなわち、導入前に比べ D-1 に著しく上昇し ($P < 0.01$ または 0.05)、その後 D-7 にかけて大幅に下降し、対照群では有意差 ($P < 0.01$) が認められた。しかし、D-15 の時点では、試験群で 21.5 pg/mg と導入前に比べ有意 ($P < 0.01$) に低値を示したのに対し、対照群は 37.2 pg/mg と D-7 よりも高値を示し、群間に有意差が認められた ($P < 0.05$) (Fig. 1)。

Table 2 Serum biochemical findings

Inspection item	Group	Sampling points		
		Day-0	Day-7	Day-15
TP (g/dl)	Test	5.49±0.08	5.53±0.06	5.56±0.06
	Control	5.63±0.10	5.58±0.08	5.49±0.09
NEFA (mEq/l)	Test	616.2±94.2	380.3±48.1	284.8±29.8
	Control	572.6±43.5	398.9±37.4	319.4±32.9
Glu (mg/d l)	Test	114.6±3.1	98.0±3.3	88.9±1.6
	Control	108.4±3.4	97.4±2.6	92.8±2.5
Ins (ng/m l)	Test	3.30±1.85	1.35±0.27	1.03±0.08*
	Control	5.00±1.85	0.90±0.29	0.72±0.08
Gast (pg/m l)	Test	260.6±42.4	231.5±22.4	243.9±30.3
	Control	227.8±47.0	252.2±24.8	294.1±30.3
GLP-1 (ng/m l)	Test	0.22±0.05	0.29±0.08	0.33±0.07
	Control	0.19±0.05	0.34±0.08	0.30±0.07
GLP-2 (ng/m l)	Test	0.22±0.05	1.53±0.35	1.92±0.04*
	Control	0.19±0.05	1.96±0.36	0.63±0.40
IGF-1 (ng/m l)	Test	161.0±16.0	132.0±10.2*	75.4±7.9*
	Control	178.0±16.0	90.0±10.2	111.0±7.9
Cort (μ g/d l)	Test	1.62±0.24	0.94±0.15*	0.85±0.15
	Control	1.64±0.20	1.55±0.25	0.64±0.11
MDA (mM)	Test	0.22±0.02**	0.22±0.01**	0.19±0.01
	Control	0.09±0.02	0.35±0.02	0.21±0.01
Pep (mU)	Test	804.0±38.4**	824.0±30.6	760.0±27.1**
	Control	592.0±45.1	740.0±62.2	905.0±39.4

Day-0: Arrival, Day-7: 7 days after arrival, Day-15: 15 days after arrival

Cort: Cortisol, MDA: Malondialdehyde, Pep: Pepsinogen activity value

Significant difference between groups in each sampling point *: P<0.05, **: P<0.01

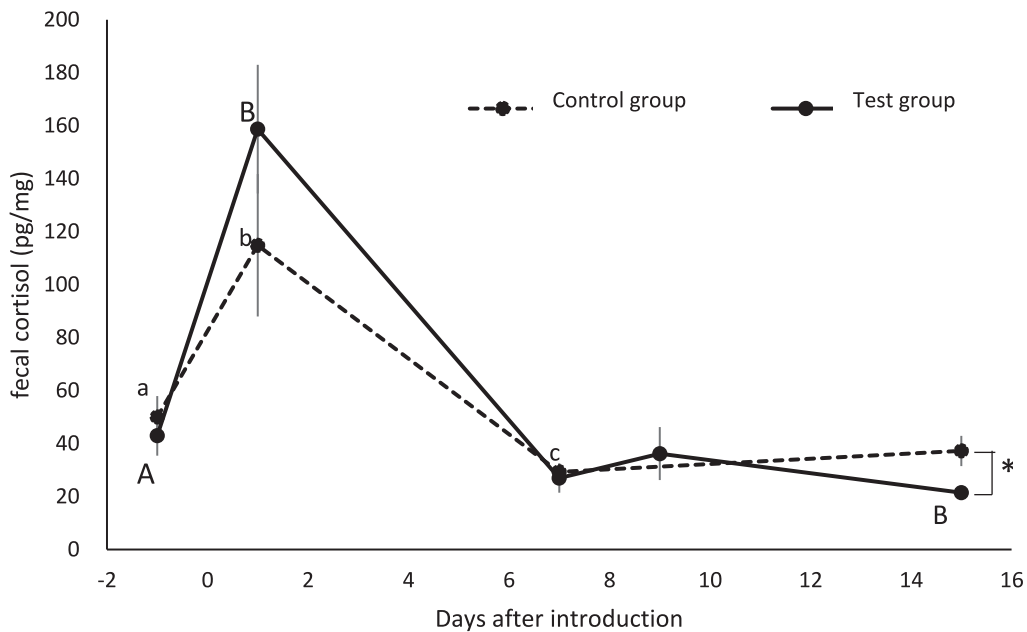


Fig. 1 Change in fecal cortisol metabolite concentrations before and after introduction of both groups

Significant difference between groups *: P<0.05,

Significant difference between different characters in each group AB: P<0.01, ab, ac: P<0.05, bc: P<0.01

考 察

国内においては、輸送や飼養環境、給与飼料の変化は、牛にとってストレスとなり、免疫能や栄養状態に悪影響を及ぼすことが報告されている^[12-15]。Ishizaki ら^[12]はホルスタイン種 6~10 カ月齢の去勢子牛 6 頭を用い、約 100 km 4 時間のトラック輸送後に気管支肺胞洗浄液細胞(主にマクロファージ)を検査したところ、それらの化学発光能は輸送前に比べ輸送後 4 時間および 3 日後に有意に低下したと報告した。また、Adachi ら^[14]は導入牛の血中ビタミン A 濃度が、導入後の飼養環境や給与飼料の変化の影響で導入 7 日後に低下したことを報告している。いずれの報告も、体重が 200 kg を超える牛を研究対象としており、国内においては子牛を対象としたストレス評価研究は見当たらない。そこで、本研究では 40 日齢前後の哺乳子牛を導入後に群飼育する哺育育成農場において、導入後 1 週間の個別飼育期間を設定し、ストレス軽減に対する有用性を評価するために、f-Cort と血液成分を調べた。その結果、個別飼育した子牛の導入後 15 日の f-Cort は導入前よりも有意に低く、さらに群飼育との比較でも有意に低値であった。この成績より、導入後 1 週間の個別飼育期間を設定することが、導入直後から群飼育するのに比べ、導入後少なくとも 2 週間のストレス軽減に有効であることが示唆された。f-Cort については、4 週間 8 回の採材で得られた平均値が、25 日間発育した被毛中のコルチゾル含有量と有意な正の相関が認められた^[10]ことから、数週間にわたるストレス状態を反映する可能性がある。

一方、群飼育では導入後の血清中 MDA 濃度が導入日に比べ著しく増加し、酸化ストレスがより高まったことが示唆された。また、群飼育では個別飼育に比べ末梢白血球に占める好中球の割合が高く、リンパ球の割合が低く推移したほか、血清中の Pep 活性値が導入後 7 日と 15 日に段階的に上昇していたことから、ストレスにより第四胃粘膜に炎症が惹起された可能性も考えられた^[16]。

Abdelfattah ら^[17]は、平均 44 日齢のホルスタイン種オス子牛 168 頭を用い、1 つのペンで 2、4 または 8 頭飼育し、急性期サイトカインやツール様受容体などを調べたが、8 頭飼育群は他の 2 群に比べ、末梢白血球におけるインターロイキン-1 やタキキニン-1 mRNA がより多く発現していた。また、好中球とリンパ球の比率 (N/L 比) が高く、最初の 2 カ月間に発咳に対する治療が有意に多かったと報告した。この成績は、より大きなグループで飼育する

と、呼吸器病やストレスに対する感受性が高まる可能性があることを示唆している。このことから類推すれば、調査農場においては導入直後から 16 頭で群飼育するよりも、1 週間の個別飼育期間を設定した方が、子牛の受ける輸送や飼育環境変化によるストレスは軽減される可能性が高いと考えられた。

IGF-1 濃度は、個別飼育で導入後 15 日 (群飼育開始後 1 週間)、群飼育では導入後 7 日に著しく減少していた。IGF-1 は栄養やストレス状態により変動するホルモンであり^[18,19]、両群とも群飼育開始後 1 週間のタイミングで大幅に減少したことから、群飼育直後には一時的に栄養状態が悪化する可能性が示唆された。群飼育において、IGF-1 濃度が導入後 15 日に増加していたことは、その後徐々に群飼育形態に馴致したためと推察された。また、個別飼育で導入後 15 日の血漿中 GLP-2 濃度が有意に高値を示したことは、小腸粘膜バリアの維持や消化吸収能が亢進したためと推察され^[20]、結果的にインスリン濃度も有意な高値を示したものと考えられた。Vieira ら^[21]の報告では、哺乳期の子牛では個別飼育よりも 2 頭飼育の方がスターターの摂食量が多く、8 週齢で離乳した後の群飼育にもスムーズに順応したことから、必ずしも個別飼育が優れているとは限らない。今後、この飼養形態が導入 2 週間以降の子牛の栄養状態に及ぼす影響についても詳しく検討する必要がある。

導入時、試験群の平均体重が有意に大きかったことについては、出荷前哺乳量が 10~12 l/日の酪農場で生産された個体が含まれるなど、導入前の栄養摂取状況が対照群に比べ良好な個体が多かったためと推察され、導入後の胸囲の増加率が対照群よりも低かった理由として、個体によっては導入後の設定哺乳量が導入前に比べ大幅に少なかったためと考えられた。

本研究により、導入後 1 週間の個別飼育期間設定のストレス軽減に対する有効性が示唆された。また、この期間は一般に、導入個体の病気の有無や健康観察を確認する期間とされている^[22]ことから、ストレス軽減のみならず、伝染病予防策としても有用性の高い飼育形態であると考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、各種コルチゾルの測定にご協力をいただいた、酪農学園大学獣医保健看護学類の林 英明教授に深謝いたします。

引用文献

1. Veissier I, Le Neindre P (1988) Cortisol responses to physical and pharmacological stimuli in heifers, *Reproduction Nutrition Development*, 28, 553-562.
2. Negrão JA, Porcionato MA, de Passillé AM, Rushen J. (2004) Cortisol in saliva and plasma of cattle after ACTH administration and milking, *J Dairy Sci*, 87, 1713-1718.
3. Hernandez CE, Thierfelder T, Svennersten-Sjaunja K, Berg C, Orihuela A, Lidfors L. (2014) Time lag between peak concentrations of plasma and salivary cortisol following a stressful procedure in dairy cattle, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56, 61. doi:10.1186/s13028-014-0061-3
4. Comin A, Peric T, Corazzin M, Veronesi MC, Meloni T, Zufferli V, Cornacchia G, Prandi A. (2013) Hair cortisol as a marker of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in Friesian dairy cows clinically or physiologically compromised. *Livestock Sci*, 152, 36-41.
5. Lefcourt AM, Bitman J, Kahl S and Wood DL. (1993) Circadian and ultradian rhythms of peripheral cortisol concentrations in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 76, 2607-2612.
6. Russell E, Koren G, Rieder M and Van Uum S. (2012) Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: current status, future directions and unanswered questions, *Psychoneuroendocrinology*, 37, 589-601.
7. González-de-la-Vara MR, Valdez RA, Lemus-Ramirez V, Vázquez-Chagoyán JC, Villa-Godoy A and Romano MC. (2011) Effects of adrenocorticotrophic hormone challenge and age on hair cortisol concentrations in dairy cattle. *Can J Vet Res*, 75, 216-221.
8. Burnett TA, Madureira AM, Silper BF, Tahmasbi A, Nadalin A, Veira DM, Cerri RL. (2015) Relationship of concentrations of cortisol in hair with health, biomarkers in blood, and reproductive status in dairy cows, *J Dairy Sci*, 98, 4414-4426.
9. Endo N, Kitamura T, Okubo M, Tanaka T. (2019) Hair cortisol concentration in pre- and postpartum dairy cows, and its association with body condition, hock health, and reproductive status, *Anim Sci J*, 90, 924-931.
10. Tallo-Parra O, Manteca X, Sabes-Alsina M, Carbajal A and Lopez-Bejar M. (2015) Hair cortisol detection in dairy cattle by using EIA: protocol validation and correlation with faecal cortisol metabolites, *Animal*, 9, 1059-1064.
11. Berghen P, Dorny P, Vercruyse J. (1987) Evaluation of a simplified blood pepsinogen assay, *Am J Vet Res*, 48, 664-669.
12. Ishizaki H, Hanafusa Y, Kariya Y. (2005) Influence of truck-transportation on the function of bronchoalveolar lavage fluid cells in cattle. *Vet Immunol Immunopathol*, 105, 67-74.
13. Yagi Y, Shiono H, Chikayama Y, Ohnuma A, Nakamura I, Yayou K. (2004) Transport stress increases somatic cell counts in milk and enhances the migration capacity of peripheral blood neutrophils of dairy cows. *J Vet Med Sci*, 66, 381-387.
14. Adachi K, Fukumoto K, Nomura Y, Katsura N, Arikawa A, Tsuji A and Onimaru T. (1998) Significant decrease of serum vitamin A level in Japanese Black beef steers after introduction to a farm. *Journal of Veterinary Medical Science* 60, 101-102.
15. 秋吉珠早, 迫田智汎, 野内 南, 阿部紀次, 佐藤綾乃, 加藤敏英 (2021) 輸送距離の違いが黒毛和種肥育素牛の被毛と糞便中コルチゾル含有量および血液成分に及ぼす影響, *産業動物臨床医誌*, 12, 1-7
16. 野口正人, 中嶋言子, 吉井正雄, 光野重根, 青木悦雄, 田中孝二, 安達秀樹, 鳥塚莞爾 (1983) 血清ペプシノーゲン I 測定 of 臨床的意義, *日消誌*, 80, 131-139.
17. Abdelfattah EM, Karousa MM, Schutz MM, Lay Jr. DC, Marchant-Forde JN, Eicher SD. (2015) Acute phase cytokines, TAC1, and toll-like receptor4 mRNA expression and health associated with group size in veal calves, *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 164, 118-126. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2015.01.008>
18. 石橋瑞穂, 牛之浜寛治, 上村俊一, 浜名克己 (1999) 黒毛和種発育不良子牛の血中成長ホルモン, IGF-1, 甲状腺ホルモンおよびビタミン A 濃度, *日獣会誌*, 52, 427-430.
19. Hoshino S, Wakita M, Kobayashi Y, Nishiguchi

- Y, Ozawa A, Hodate K, Kakegawa T, Suzuki M. (1991) Changes in serum concentrations of insulin-like growth factor-1, growth hormone and thyroid hormones in growing and fattening steers, *J Anim Physiol Anim Nutr*, 65, 36-44.
20. Drucker DJ, Erlich P, Asa SL, Brubaker PL. (1996) Induction of intestinal epithelial proliferation by glucagon-like peptide 2, *Proc Natl Acad Sci USA*, 93, 7911-7916. doi:10.1073/pnas.93.15.7911
21. De Paula Vieira A, von Keyserlingk MAG, Weary DM. (2010) Effects of pair versus single housing on performance and behavior of dairy calves before and after weaning from milk, *J Dairy Sci*, 93, 3079-3085. doi:10.3168/jds.2009-2516
22. 高橋圭二 (2021) 子牛の牛舎施設, 新しい子牛の科学 (家畜感染症学会編), 331-339, 緑書房, 東京.

要 約

大型農場における新規導入子牛に対する個別飼育期間設定が, ストレス軽減に有効か否かを調べるこ

とを目的に, 糞便中コルチゾル代謝物含有量ならびに血液性状を調べた。4週齢前後の交雑種子牛を毎週導入する肉用牛哺育育成農場を対象に, 導入後1週間の個別飼育期間を設定した16頭(試験群, 飼養面積 $0.9 \times 1.8 = 1.62 \text{ m}^2/\text{頭}$)と, 従来通り群飼育した16頭(対照群, 飼養面積 $11.1 \times 6.8 = 75.5 \text{ m}^2$)と比較した。その結果, 糞便中コルチゾル代謝物含有量は両群とも導入前(D-0)に比べ導入後1日(D-1)に著しく上昇し, 導入後7日(D-7)にかけて下降した。しかし, 導入後15日(D-15)では, 試験群ではD-0に比べ有意に低値だったのに対し, 対照群ではD-7よりも高値であり, 群間に有意差が認められた。血液生化学的所見では, マロンジアルデヒド濃度が対照群のD-7の値がD-0の4.3倍に増加し, 試験群よりも有意に高値となった。ペプシノーゲン活性値はD-15で対照群が試験群よりも有意に高く, インスリンおよびグルカゴン様ペプチド-2濃度はD-15で試験群が対照群よりも有意に高かった。また, 血液検査所見では, 白血球数に占める好中球の割合は対照群で高く, リンパ球の割合は試験群が高く推移した。以上の成績より, 導入子牛に対する導入後1週間の個別飼育期間は, 導入後2週間のストレス軽減に有効であることが示唆された。

Abstract

To investigate whether an individual rearing period condition for newly introduced calves in large farms is effective for stress reduction, fecal cortisol metabolite concentration and blood components were examined. For beef farm that introduce crossbred calves at approx. 4 weeks of age, 16 animals (test group, $0.9 \times 1.8 \text{ m}^2/\text{head}$) with an individual breeding period of 1 week post-introduction were compared with 16 animals (control group, $11.1 \times 6.8 \text{ m}^2$) without the individual breeding period. As the results, fecal cortisol metabolite concentrations increased significantly one day after introduction (D-1) compared to before introduction (D-0) in both groups, and decreased at 7 days after introduction (D-7). However, on 15 days after introduction (D-15), the test group was significantly lower than D-0, while the control group was higher than D-7, and there was a significant difference between the groups. Biochemical findings showed that malondialdehyde levels in the control group at D-7 increased 4.3-fold compared to D-1, and were significantly higher than in the test group. At D-15, pepsinogen activity of the control group was significantly higher than that of the test group, while insulin and glucagon-like peptide-2 concentrations of the test group were significantly higher than those of the control group. Also, the proportion of neutrophils and lymphocytes (N/L ratio) was higher in the control group than in the test group. These results suggest that the 1-week individual breeding period is effective for reducing stress in calves 2 weeks after introduction.