

氏 名(本籍)	こ 小 はり 針 だい 大 すけ 助
学位の種類	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 7 9 0 号
学位授与年月日	平 成 16 年 9 月 9 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	農学研究科環境修復生物学専攻 (博士課程)
学位論文題目	肉用繁殖牛における母性行動の行動学的解析ならびに Maternal Grooming の機能
論文審査委員	(主 査) 教 授 菅 原 和 夫 (副 査) 教 授 西 田 朗 教 授 松 田 一 寛 佐 藤 衆 介

論文内容要旨

肉用牛の繁殖、子牛育成の現場では、哺乳子牛の発育促進と母牛の繁殖性向上を意図した早期離乳法・親子分離哺育法が確立されつつあるが、一方で環境に配慮し、コストや労働力削減が可能な放牧による肉牛生産方式も注目されてきている。放牧のような子牛の哺育に人為的補助が入りにくい管理システム下では、子牛の発育は母牛の世話能力に全面的に依存することとなる。そのため母性的世話行動、すなわち母性行動に差が生じる場合、子牛の発育に大きな影響を及ぼすことが予測される。

そこで本研究では、牛の主要な母性行動である Maternal grooming (以下 MG) と哺乳行動に着目し、初めにその実態を品種および個体レベルで明らかにした。次にそれら母性行動に関連する母牛の特徴を明らかにし、さらに母性行動の違いが子牛に及ぼす影響についてその機能解析を行った。

1. 放牧下における肉用繁殖牛の母性行動の実態

(1) Maternal grooming 及び哺乳行動の品種差と個体差

放牧管理下における肉用繁殖牛の母性行動の品種差および個体差の実態を明らかにするため、放牧地において自然分娩が行われている肉用繁殖牛 2 品種の母子（黒毛和種 17 組；日本短角種 16 組）について調査を行った。分娩から 1 カ月間の各母牛の MG と哺乳行動の持続時間と発現頻度について比較した。その結果、両品種でこれら母性行動の持続時間、発現頻度ともに有意な差は認められなかった (Fig. 1)。一方、黒毛和種の MG の持続時間と日本短角種の哺乳行動の持続時間に有意な個体差が見られ (Fig. 2)、黒毛和種の MG と哺乳行動の発現頻度、日本短角種の哺乳行動の発現頻度にも有意な個体差が見られた (Fig. 3)。

母性行動発現の最多個体と最少個体の変

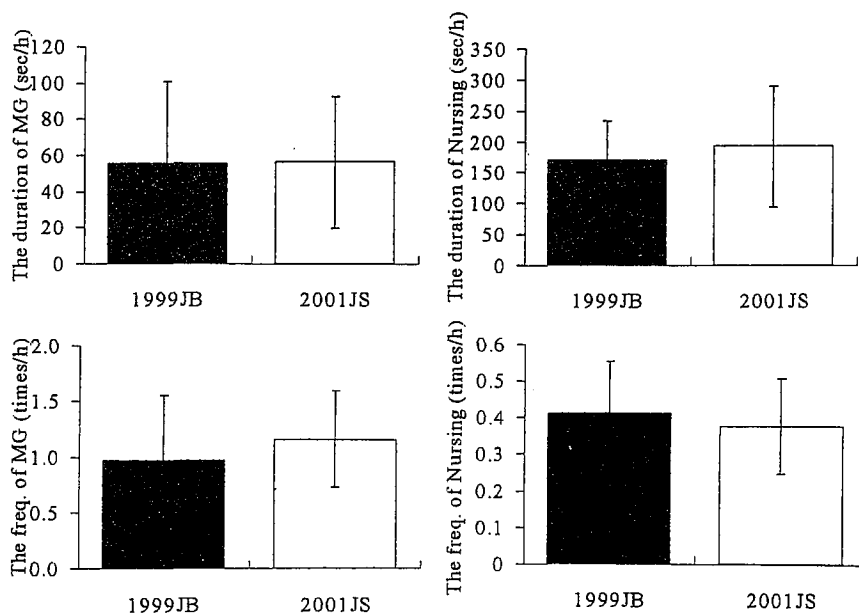


Fig. 1 The difference of the mean duration and the frequency of maternal behaviour between the Japanese Black cattle (JB) and the Japanese Short horn cattle (JS). Black bar indicates the JB, White bars indicates the JS. MG: Maternal Grooming.

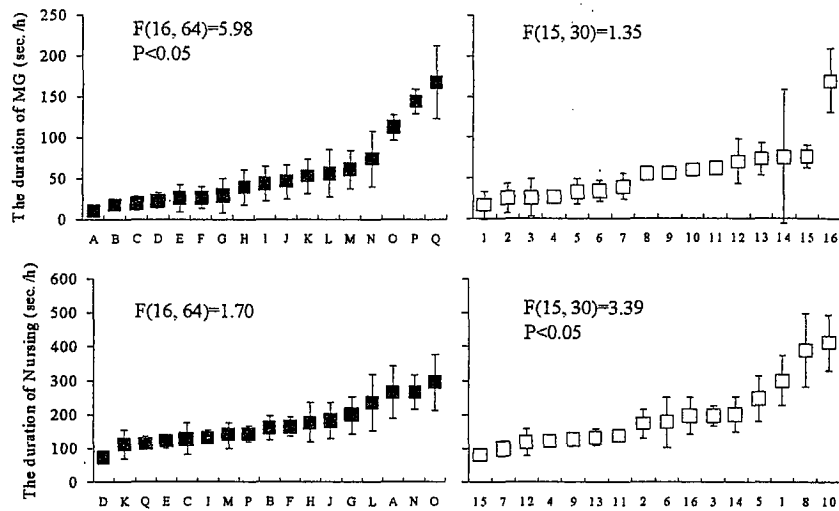


Fig.2 Individual difference of the duration of maternal behaviour in the Japanese Black cattle and the Japanese Shorthorn cattle. Black square : Japanese Black cattle, White square : Japanese Shorthorn cattle. These data were analyzed by Repeated-ANOVA.

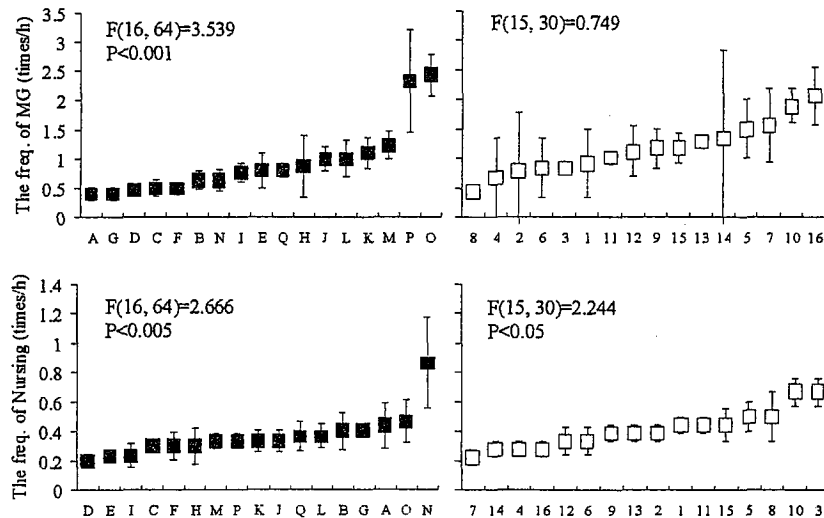


Fig.3 Individual difference of the frequency of maternal behaviour in the Japanese Black cattle and the Japanese Shorthorn cattle.(see Fig.2)

動幅は黒毛和種のMGにおいて最大約16倍、日本短角種の哺乳行動でも約4倍であり、放牧下で子牛に投資される母性行動は母牛により著しい違いが存在することが明らかとなった。

(2) 母性行動の発現と持続性に及ぼす母子関係ならびに母性行動の行動連鎖

黒毛和種と日本短角種の母子のMGと哺乳行動、母性行動発現前5分間(IB5)と直前(LIB)の母子行動(接触行動、接近行動、発声)、さらにそれら行動の連鎖関係から、肉用繁殖牛の母性行動の発現と持続性に及

Table 1 The numbers of the cow's and the calf's IB5 before maternal grooming (MG) and nursing (NS) in each pair.

Variants	dam		offspring		Significance
	n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	
Japanese Black					
The number of IB5 before MG in each pair(times/MG) ¹	13	0.6 ± 0.8	-	1.5 ± 1.1	P < 0.05
The number of IB5 before NS in each pair(times/NS) ¹	13	0.4 ± 0.8	-	1.7 ± 1.1	P < 0.05
Japanese Shorthorn					
The number of IB5 before MG in each pair(times/MG) ¹	5	1.4 ± 0.6	-	1.5 ± 0.7	ns
The number of IB5 before NS in each pair(times/NS) ¹	5	1.1 ± 0.5	-	2.0 ± 0.6	P < 0.05

¹Analyzed by Wilcoxon signed rank test.

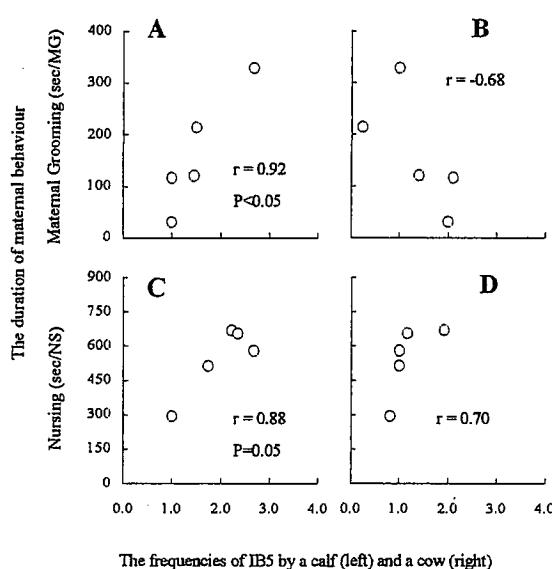
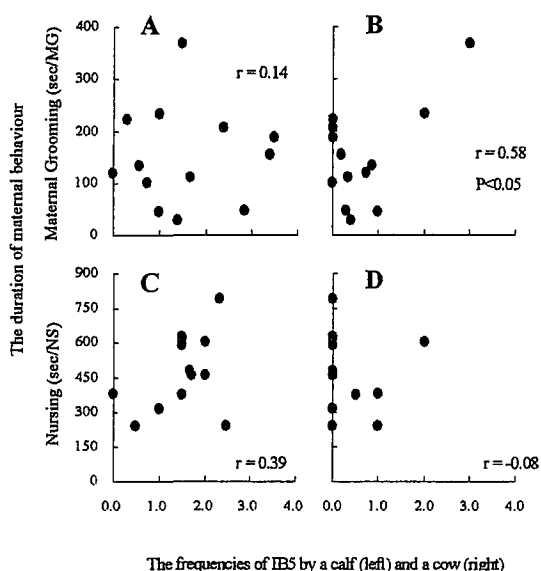


Fig.4 The correlations between the duration of maternal behaviour and the frequency of IB5 in the Japanese Black cattle. A : MG vs offspring's IB5, B : MG vs dam's IB5, C : Nursing vs offspring's IB5, D : Nursing vs dam's IB5. Each dot represents the mean duration and the mean frequency of IB5 of the MG and the NS in each pair of a cow and a calf.

Fig.5 The correlations between the duration of maternal behaviour and the frequency of IB5 in the Japanese Shorthorn cattle.

See Fig.4.

Fig.5)。

ぼす母子関係について調査を行った。

黒毛和種のMG前には子牛のIB5数が母牛のそれより多かったが(P<0.05; Table 1)、持続時間は母牛のIB5数と有意な正の相関が見られた(r=0.58, P<0.05; Fig. 4)。日本短角種では子牛のIB5数とMG持続時間に有意な正の相関が見られた(r=0.92, P<0.05;

また、哺乳行動前の子牛のIB5数と子牛のLIBに伴う哺乳行動数は、両品種ともそれぞれ母牛のそれらより多かった(黒毛和種:P<0.01, P<0.05; 日本短角種:P=0.06, P<0.05; Table 2)。哺乳行動の持続時間は両品種で母牛のIB5数と有意な相関は見られなかったが、日本短角種では子牛のIB5数と正の相関を示す傾向が見られた(r=0.88, P=0.05)。母子行動と母性行動の主な行動連鎖は両品種とも「母牛の接近 → MG → 子牛

Table 2 The durations and the numbers of maternal grooming (MG) and nursing (NS) with the cow's initiative and the calf's LIB.

Variants	dam		offspring		Significance
	n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	
Japanese Black					
The duration of MG following the LIB(sec/MG) ¹	24	119.2 ± 102.5	37	122.9 ± 93.0	ns
The duration of NS following the LIB(sec/NS) ¹	4	284.0 ± 260.3	25	489.8 ± 153.4	ns
The number of MG following the LIB in each pair(times/8h) ²	13	1.8 ± 1.3	-	2.9 ± 1.4	ns
The number of NS following the LIB in each pair(times/8h) ²	13	0.3 ± 0.5	-	1.9 ± 1.1	P < 0.01
Japanese Shorthorn					
The duration of MG following the LIB(sec/MG) ¹	24	105.2 ± 88.5	22	179.1 ± 172	ns
The duration of NS following the LIB(sec/NS) ¹	7	530.7 ± 323	30	495.8 ± 170	ns
The number of MG following the LIB in each pair(times/8h) ²	5	5 ± 5.6	-	4.2 ± 1.8	ns
The number of NS following the LIB in each pair(times/8h) ²	5	1.4 ± 0.9	-	6.0 ± 4.2	P=0.06

¹ Analyzed by Mann-Whitney test.

² Analyzed by Wilcoxon signed rank test.

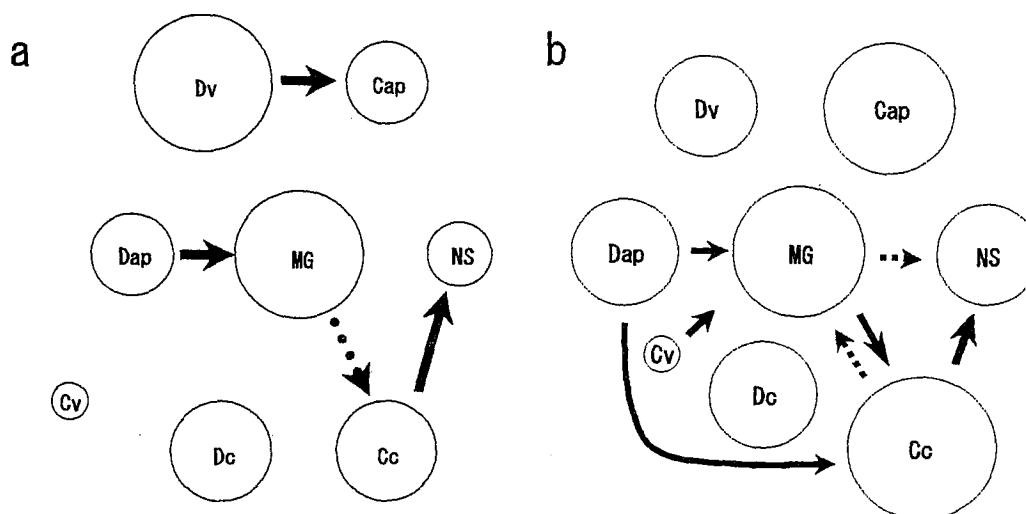


Fig.6 The behavioural sequence around maternal behaviour. Analyzed by the cell-by-cell chi-square test (Kasuya and Fujita.1984). Size of the circle shows the number of the IBs during 5min before maternal behaviour. Arrows of solid lines mean that the transitions occurred significantly more than at random (P<0.05) and arrows of broken lines mean the tendency of the transition (P=0.10). a:Japanese Black cattle ; b:Japanese Shorthorn cattle. D: dam's IB; C: calf's IB; MG: maternal grooming; NS: nursing; ap: approach behaviour; c:contact behaviour; v:vocalization.

の接触→ 哺乳行動」の順で観察された (Fig. 6)。特に子牛の哺乳欲求が強く現れていた日本短角種においては子牛の行動との連鎖が多くみられ、母牛の接近から MG を介さず哺乳へ至る経路や子牛の接触を介さず哺乳へ至る経路など、基本的な行動連鎖に対してショートカットが認められた。

以上の結果から、MG の発現は両品種とも

母牛、子牛双方の活動により誘導され、その持続は黒毛和種では母牛、日本短角種では子牛の活動性により促進されたと考えられた。また、哺乳行動の発現は主に子牛により誘導され、特に日本短角種ではその持続が子牛の活動性により促進されるものと考えられた。

2. 母性行動の個体差と維持・社会行動との関係

実態調査の結果から、特に黒毛和種の MG は母牛の違いによる差が大きいことが明らかとなった。そこでこの MG の個体差が母牛のどのような特徴と関係するのかを明らかにするため維持行動や社会行動との関連を調査した。

黒毛和種経産牛 13 頭を用い、維持行動は摂食、休息、移動、探査、身繕い、その他の

6 項目、社会行動は実子、他の子牛、他の母牛に対する社会行動の供与と受容の頻度を記録した。MG は前述の調査データを採用し、維持行動や社会行動と MG のデータ間で相関検定を行った。

MG に対し維持行動では、探査行動で正の相関が見られた (Table 3)。社会行動では実子からの社会行動の受容と正の相関、他子牛からの社会行動の受容と負の相関が見られた (Table 4)。探査行動は個体の積極性を反映する行動とされていることから、母牛

Table 3 Correlation matrix between Maternal Grooming and maintenance behaviour in the Japanese Black

Variants	Correlation coefficient	
	The durations of MG	The freq. of MG
Grazing	-0.280	-0.291
Resting	-0.055	0.184
Moving	0.212	0.367
Investigating	0.439	0.817
Self-grooming	-0.083	0.178
others	<u>0.484</u>	-0.053
The freq. of MG	1.000	0.597
The durations of MG		1.000

Bold: $P < 0.05$, Bold with underline: $0.05 < P < 0.1$

Table 4 Correlation matrix between Maternal Grooming and social behaviour (SB) in the Japanese Black

Variants	Correlation coefficient	
	The durations of MG	The freq. of MG
providing SB (own calf)	0.136	0.213
receiving SB (own calf)	0.332	0.753
providing SB (alien calf)	0.227	-0.161
receiving SB (alien calf)	-0.427	-0.619
providing SB (other cow)	0.290	0.312
receiving SB (other cow)	0.353	-0.008
care-soliciting behaviour	-0.017	0.402
The freq. of MG	1.000	0.597
The durations of MG		1.000

Bold: $P < 0.05$

の積極的性質が MG に影響した可能性が考えられた。しかし社会行動から見ると逆に受容行動という消極性との関連も見られ、特に実子に対する受容性の高さが伺えた。

3. 情動反応からみた母牛の特徴

前述の結果より、維持行動との関係からは母牛の積極的性質、社会行動との関係からは母牛の消極的性質と MG に関連がみられたため、母牛の性質を明確に特徴づけることができなかつた。積極性や消極性という個体の性質は情動性といった非特異的動機づけレベルを反映するとされている。そこで実験動物などの情動性判定に多用されるオープンフィールド(以下 OF)を用い、個体の MG 特徴と母牛の性質との関連性について OF 導入時および新規子牛提示時の反応から実験的検証を行った。

OF 導入試験では MG は同一因子を壁探査行動と正で構成し、中央滞在時間、区画横断数、発声回数が負で構成した (Fig. 7)。また、発声回数、区画横断数と負の相関関係を示した (Table 5)。したがって、この因子は個体の「落ち着き」や「冷静さ」を反映したものと考えられた。一方、新規子牛提示試験においては MG は戸や壁、床に対する探査行動、区画横断数、排泄回数、子牛覗き回数と同一因子を構成し (Fig. 8)、特に床や戸への探査行動、排泄回数とは正の相関関係を示した (Table 6)。したがってこの因子は個体の「積極性」を意味するものと考えられた。以上の結果から、母牛の「冷静」かつ「積極的」な性質は MG の違いに関連する重要な特徴であることが明らかとなった。

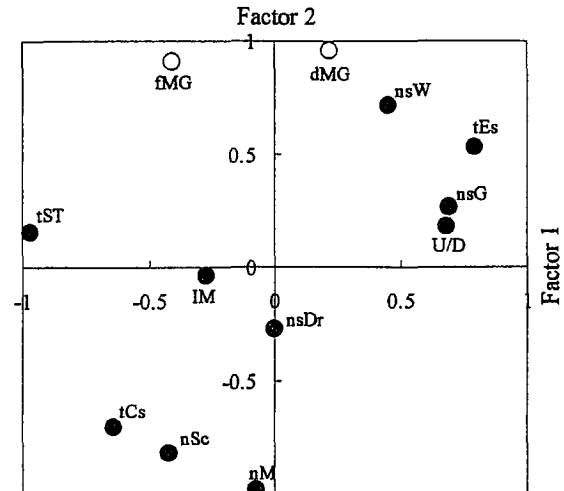


Fig.7 Loading for 2 main factor of MG and responses in the new enclosure test. fMG: the frequency of MG, dMG: the duration of MG, tST: time in starting box, tCs: time in center square (No.5), tEs: time in entrance square (No.9), IM: immobility time, nsW, nsG, nsDr: No. of sniffs at wall, ground, door, nSc: No. of squares crossed, U/D: No. of urinations and defecations, nM: No. of moos

Table 5 Correlation matrix between responses in the new enclosure test and maternal grooming.

Variants	Correlation coefficient	
	The duration of MG	The freq of MG
Time in starting box	0.516	-0.107
Time in center square (No.5)	-0.362	-0.757
Time in entrance square (No.9)	0.183	0.740
Immobility time	0.010	-0.275
No. of sniffs at wall	0.504	0.884
ground	0.010	0.535
door	-0.315	-0.438
No. of squares crossed	-0.601	<u>-0.949</u>
No. of urinations and defecations	-0.063	0.458
No. of moos	-0.878	<u>-0.989</u>
The duration of MG	1.000	0.795
The frequencies of MG		1.000

Bold: $P < 0.05$

Bold with underline: $0.05 < P < 0.1$

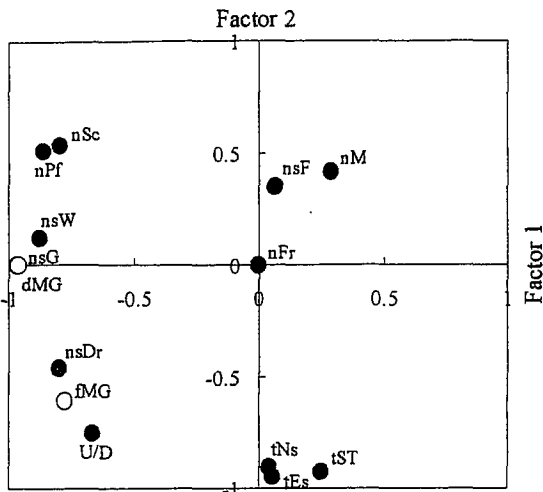


Fig.8 Loading for 2 main factor of MG and responses in the confrontation test. fMG: the frequency of MG, dMG: the duration of MG, tST: time in starting box, tNs: time in neighboring squares (No.1,5,7), tEs: time in entrance square (No.9), nsW, nsG, nsDr, nsF: No. of sniffs at wall, ground, door, fence, nSc: No. of squares crossed, U/D: No. of urinations and defecations, nM: No. of moos, nFr: No. of rubbing with fence, nPf: No. of prying about a calf over the fence.

4. Maternal grooming の機能

(1) 子牛の増体及び下痢症に及ぼす Maternal grooming の影響

母性行動は子の身体的・精神的発達に重大な影響を及ぼすことが知られている。したがって本試験において確認された肉用繁殖牛における母性行動の個体差の家畜生産に対する影響についての考慮も必要と考えられる。そこで子牛1カ月齢までの日増体量(DG)と子牛の下痢症を子牛の初期発育の指標とし、母牛により大きな個体差が確認されたMGとの関連性について検討した。また子牛の増体に関しては栄養摂取との関わり

Table 6 Correlation matrix between responses in the confrontation test and maternal grooming.

Variants	Correlation coefficient	
	The durations of MG	The freq of MG
Time in starting box	-0.165	0.418
Time in neighboring squares (No.1,5,7)	0.073	0.594
Time in entrance square (No.9)	0.032	0.590
No. of sniffs at wall	0.719	0.519
ground	0.999	0.793
door	0.875	0.968
fence	-0.315	-0.438
No. of squares crossed	0.688	0.236
No. of urinations and defecations	0.638	0.965
No. of moos	-0.511	-0.637
No. of rubbing with fence	0.000	0.000
No. of prying about a calf over the fence	0.838	0.364
The duration of MG (sec/h)	1.000	0.795
The frequencies of MG(freq./h)		1.000

Bold: P<0.05

も大きいことから、哺乳行動のデータも行動調査に加えた。

その結果、MGと子牛生後1カ月の日増体量に有意な正の相関関係、子牛の下痢の持続日数に有意な負の相関関係が見られた。しかし、哺乳時間とそれらには関連性は見られなかった(Fig. 9)。

また、子牛増体量に関しては種雄牛の影響も受けることが予想されるが、父牛の遺伝的特徴として採用した直接検定、間接検定のDGとも相関関係は見られず、初期生育に関しては母牛による母性行動の影響が大きいと考えられた。

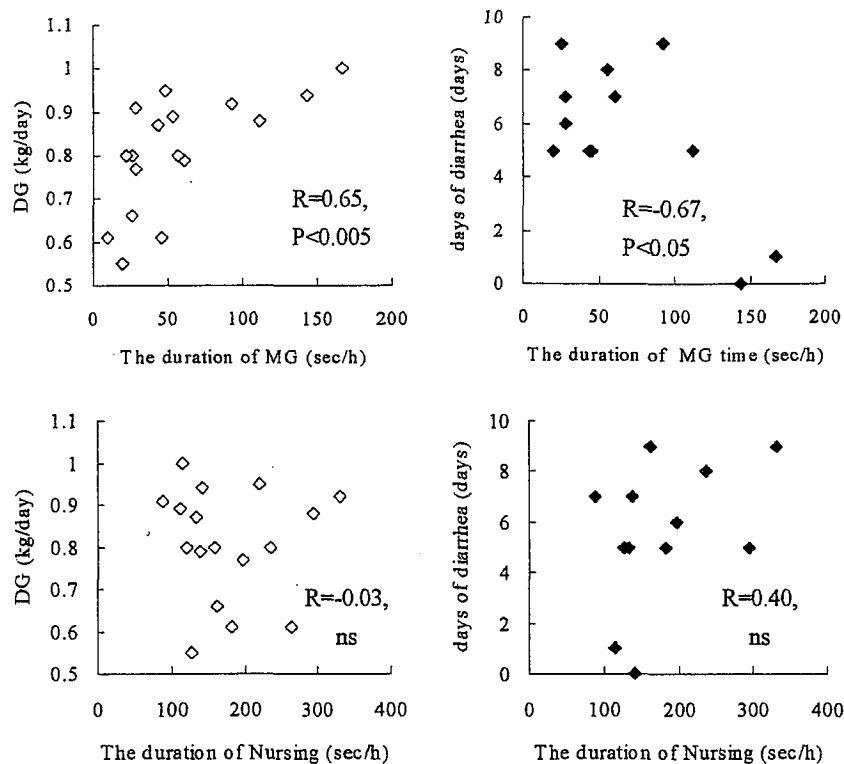


Fig.9 Relationships between maternal behaviour and calves' growth indices. Top left: MG and calf's DG, Bottom left: Nursing and calf's DG, Top right: MG and days of diarrhea, Bottom right: Nursing and days of diarrhea.

(2) Maternal grooming の衛生的機能

MG が哺育期の下痢症を抑え、増体に貢献していたことが考えられた。そこで子牛牛体上の細菌数を牛体汚染度の指標として、MG の衛生的効果を検討した。

黒毛和種、日本短角種各 3 組の母子牛を供試した。調査は分娩 3~4 週目に 3 日間行った。1 日目に母子を分離し、24h 後(2 日目)、母子接触前に MG 前の被毛付着細菌を採取した。その後、子牛と母牛を同居させ、さらに 24h 後(3 日目)、MG 後の細菌採取を行った。各母牛の MG は試験 2-3 日目に 8 時間調査した。対照群の子牛は 3 日間母牛から分離した。細菌採取はふき取り法により、子牛の左右の大腿部、 $10 \times 10 \text{cm}$ の面積

について行った。試料の希釈液を一般細菌用の LB 培地と腸内細菌用の DHL 培地に播き、 37°C 、18-24h 培養後、コロニー数を計測した。細菌数は 100cm^2 あたりで算出し、単位は CFU で示した。

MG 前後で全子牛の被毛上一般細菌数は有意に減少し(MG 前： $3.0 \sim 12.0 \times 10^5 \text{CFU}/100 \text{cm}^2$; MG 後： $2.4 \sim 10.0 \times 10^4 \text{CFU}/100 \text{cm}^2$; $t=5.19$, $df=11$, $P<0.001$, Table 7)、その減少率は 65-95%に達した。腸内細菌の付着も 2 頭で検出されたが、MG 後には完全になくなった(MG 前： $0 \sim 9.0 \times 10^2 \text{CFU}/100 \text{cm}^2$; MG 後： $0 \sim 3.0 \times 10^2 \text{CFU}/100 \text{cm}^2$; $t=4.00$, $df=2$, $P=0.06$, Table 8)。両培地において

Table 7 Change of the number of bacteria from the before-MG samples to the after-MG samples in LB agar.

agar	calf No.	The number of bacteria (CFU/100cm ²)				decrement (%)
		side	before-MG	side	after-MG	
LB	N418	R	6.60 × 10 ⁵	R	0.36 × 10 ⁵	94.5
		L	5.20 × 10 ⁵	L	0.57 × 10 ⁵	89.0
	N421	R	3.30 × 10 ⁵	R	0.30 × 10 ⁵	90.9
		L	4.20 × 10 ⁵	L	0.39 × 10 ⁵	90.7
	N911	R	11.70 × 10 ⁵	R	0.60 × 10 ⁵	94.9
		L	6.90 × 10 ⁵	L	0.78 × 10 ⁵	88.7
	B417	R	5.40 × 10 ⁵	R	0.24 × 10 ⁵	95.6
		L	5.10 × 10 ⁵	L	0.48 × 10 ⁵	90.6
	B418	R	0.00	R	0.48 × 10 ⁵	-
		L	3.03 × 10 ⁵	L	0.69 × 10 ⁵	77.2
	B419	R	3.75 × 10 ⁵	R	0.84 × 10 ⁵	77.6
		L	3.03 × 10 ⁵	L	1.02 × 10 ⁵	66.3

※ R : right side, L : left side

Table 8 Change of the number of bacteria from the before-MG samples to the after-MG samples in DHL agar.

agar	calf No.	The number of bacteria (CFU/100cm ²)				decrement (%)
		side	before-MG	side	after-MG	
DHL	N418	R	0	R	0	0
		L	0	L	0	0
	N421	R	0	R	0	0
		L	0	L	0	0
	N911	R	0	R	0	0
		L	0	L	0	0
	B417	R	3.0 × 10 ²	R	0	100.0
		L	0	L	0	0
	B418	R	0	R	0	0
		L	0	L	0	0
	B419	R	3.0 × 10 ²	R	0	100.0
		L	9.0 × 10 ²	L	3.0 × 10 ²	66.7

※ R : right side, L : left side

検出された細菌についてグラム染色を行い、顕鏡観察を行った結果、LB 培地において観察された細菌には、グラム陰性菌・グラム陽性菌両方の球菌が多く見られ、DHL 培地に

おいて観察された細菌は、主にグラム陰性の桿菌であった (Fig. 10)。MG の個体差は細菌の減少率に対応しなかったが、これはサンプリング部位と MG 部位が必ずしも一致

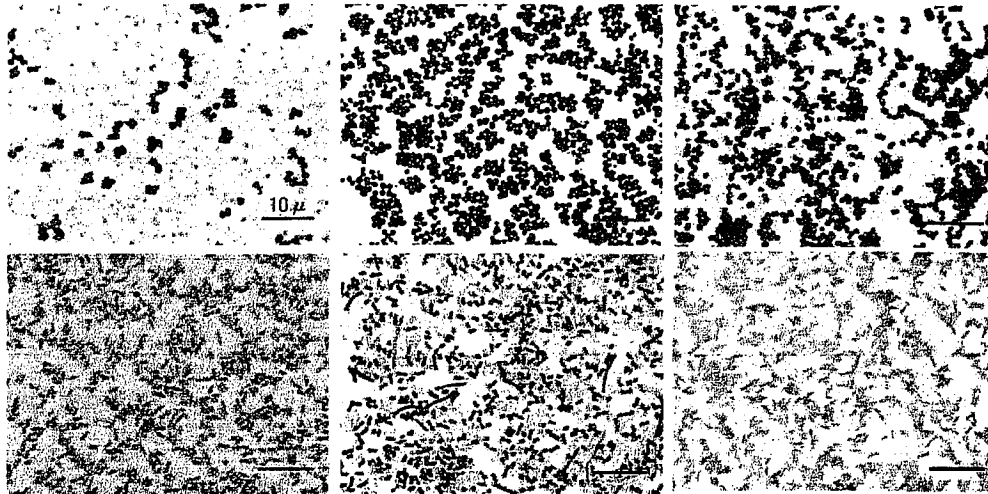


Fig.10 micrograph of bacteria on the body surface of calves. Upper 3 micrographs were taken in LB agar and lower 3 micrographs were taken in DHL agar. The bacteria stained with red indicate Gram negative bacteria and stained with purple indicate Gram positive bacteria.

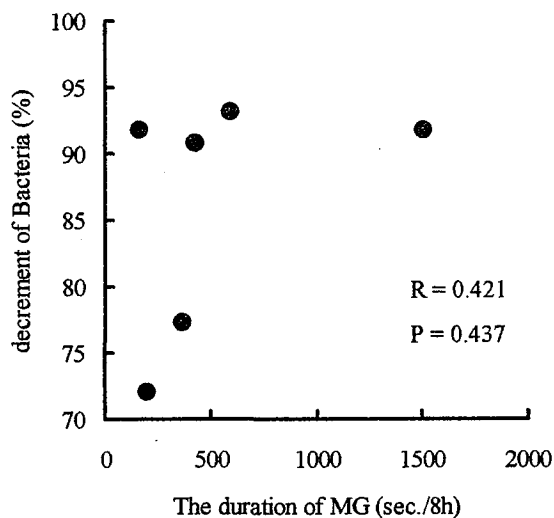


Fig.11 The relationship between the rates of decrease bacteria and the total duration of MG in each calf.

しなかったことによるものと考えられた (Fig. 11)。以上の結果から母牛の MG は子牛牛体の衛生保護上重要な役割を担っているものと考えられた。

5. まとめ

本研究から、肉用繁殖牛の母性行動には品種間で差はないものの、同一品種内においては、個体間で有意に異なることが明らかとなり、特に黒毛和種の MG は母牛の違いによる差が大きいことが明らかとなった。またその MG の違いは母牛の落ち着きや積極性と関連することが明らかとなった。このような個体の性質は遺伝的特徴としても報告されており、母性行動の選抜の可能性も示唆された。さらに MG には子牛に対する有効な衛生機能が確認され、放牧地における母牛の MG の違いは子牛の発育に影響することが示された。

論文審査結果要旨

近年肉用牛の繁殖経営においても集約化が意図され、購入飼料による舎飼方式が進行しつつある。しかし一方で、省力で自給資源の利用性が高く、また家畜福祉度も高いと考えられる、放牧による子牛生産・育成も重要視されてきている。放牧方式では人為的補助が入りにくく、子牛の哺育は全面的に母牛の世話能力に依存することとなり、それらの母性行動の差が子の発育に大きく影響を及ぼすことが予測される。本研究は牛の主要な母性行動である Maternal grooming (MG) と哺乳行動の行動学的解析と特に MG について、その機能解析を行ったものである。

はじめにわが国の代表的肉用牛である黒毛和種と日本短角種について放牧下における母性行動の品種間差および品種内の個体差についての比較を行った。その結果、MG と哺乳行動の持続時間、発現の頻度には両品種間で有意な品詞間差は認められなかった。しかし黒毛和種の MG の持続時間と日本短角種の哺乳行動の持続時間に有意な個体差が見られ、黒毛和種の MG と哺乳行動の発現頻度、日本短角種の哺乳行動の発現頻度にも有意な個体差がみられた。母性行動発現の最多個体と最少個体の変動幅は黒毛和種の MG において最大 16 倍、日本短角種の哺乳行動でも 4 倍であり、放牧下で子牛に投資される母性行動は母牛により著しい違いが存在することが明らかとなった。つづいて行われた母性行動の発現と持続性におよぼす母子関係と母性行動の行動連鎖に関する調査から、MG の発現は両品種とも母牛、子牛双方の活動により誘導され、その持続は黒毛和種では母牛、日本短角種では子牛の活動性により促進されること。また哺乳行動の発現は主に子牛により誘導され、特に日本短角種ではその持続が子牛の活動性により促進されることが判明した。つぎに最も大きな個体差のみられた黒毛和種の MG について、その個体差が母牛のどのような特徴と関係するかを明らかとすべく、維持行動や社会行動との関連性が調べられた。その結果 MG には維持行動からみると母牛の積極性との関連が強かったが、社会性から見ると受容行動すなわち消極性も伺われた。したがってこれらをさらに明確にすべく、オープンフィールドテストにより母牛の情動反応から特徴づけが行われた。その結果、個体の「冷静」かつ「積極的」性質が MG と強い相関を示すことが示された。最後に MG の機能に関する研究が実施された。まず子牛の増体、下痢症発生と MG の関係が検討された。その結果、MG と子牛増体とは正の相関が、子牛下痢症の持続日数とは負の相関が認められた。ひきつづき MG 実施個体と非実施個体とで体表細菌数が比較された、その結果、MG は子牛にたいし衛生機能を持つことが内外ではじめて実証された。

以上から本研究は家畜の母性行動解析を通じ、その特性を生かした家畜生産の可能性を示しただけでなく、動物行動研究や家畜福祉にたいして重要な多くの知見をもたらした。よって審査委員一同は、本論文提出者にたいして博士（農学）の学位を授与するに値するものと判定した。