

肉用牛における早期能力推定技術の確立に関する研究

川田智弘、堀井美那、半田真明¹

¹栃木県農務部畜産振興課

要約

BLUP法による産肉能力育種価は遺伝的能力の評価方法として非常に有用であるが、育種価算出までに長い期間を必要とする。本研究では、黒毛和種の育種改良において、育種価評価の問題点を補完し改良の効率化を図るための技術として超音波診断技術や遺伝子分析技術の有効性について検討した。

- (1) 後代肥育牛の生体超音波診断において、診断画像をコンピューターにより解析するシステムを構築し産肉形質を正確に測定する技術を確立した。また、このシステムによる画像解析値に基づき客観的にBMS No.の推定を行う技術を確立した。
- (2) 超音波肉質診断により黒毛和種去勢肥育牛を経時的に測定し枝肉成績を比較することにより、22ヶ月齢において格付値が推定できることが判った。しかし、脂肪交雑は28ヶ月齢の肥育末期まで発達する可能性も示唆された。
- (3) 繁殖雌牛に対する超音波肉質診断では、胸最長筋内の画像反応が肥育牛に比較して少なく、脂肪交雑の能力を推定することは困難であった。なお、寛部周辺の皮下脂肪が過剰に厚い個体は受精卵の採卵成績も低い傾向が見られた。
- (4) 当场繁養の県外から導入した牛群におけるミトコンドリアDNAのD-loop領域(600bp)解析により9タイプのハプロタイプが得られ、母系生産地域とハプロタイプとの間に関係が見られた。これによりmtDNAのハプロタイプは系統の成立過程を示唆するものであることが判った。
- (5) 繁殖雌牛群について成長ホルモン(GH)の127番アミノ酸に対する遺伝子型を分析したところ、産肉能力に関する推定育種価と遺伝子型の間に関係が見られたことから、GH遺伝子型と産肉形質の遺伝的能力との関連が示唆された。

緒言

肉用牛の産肉能力を合理的に改良するためには、後代牛の産肉データに基づく遺伝的能力評価により交配選抜を行うことが有効である。黒毛和種では、従来、種牛の直接検定や後代牛のステーション方式の間接検定などに基づく能力評価を行ってきた。しかし、10年ほど前より、各県単位の改良集団によって、枝肉格付けデータを基にBLUPアニマルモデルを用いた産肉能力育種価(以下産肉能力育種価)の解析が進められている。このBLUP法は、飼養環境や年次などの母数効果を取り除き、血統情報を取り込むことにより遺伝的改良効果を正確かつ偏り無く評価できる方法であるとされている¹⁾。そこで、肉質や肉量改良のための選抜や計画交配への活用が進められている。

ところで、この産肉能力育種価を算出するためには、現状では1頭以上の後代牛の産肉情報が必要である。育種価評価による選抜や計画交配の効率化を図るためには、種牛としての供用月齢の出来るだけ早い段階で産肉能力を評価することが望まれる。しかし、産肉能力の育種価評価には、最短でも初産後代牛の肥育が終了するまでの4~5年の期間を要するため、これが、育種価評価を効率的に利用するうえで障害となっている。さらに、育種価の正確度は得られた産肉データ

の頭数により左右され、十分な正確度が得られない場合はメンデルアンサンプリングによる能力評価値と実際の能力との間に大きな乖離が生じる可能性がある。このような問題は、種雄牛に比較し産子の生産頭数が圧倒的に少ない繁殖雌牛における育種価評価データの活用において大きな課題となると考えられる。本県は、県有種雄牛を所有せず、肉用牛の改良の主体を繁殖雌牛側から進めていくことが求められている。そこで、繁殖雌牛における産肉能力育種価を効率的に活用するためには、この産肉能力育種価評価の問題点を補う技術の開発が必要である。この方法の1つとして、後代牛の屠畜前に枝肉成績を推定することにより、枝肉情報取得までの期間を短縮し、産肉情報を収集する効率を向上させることが考えられる。これには、超音波を用いた非破壊的測定により家畜生体内の筋肉や脂肪の状態を診断し、屠畜前に枝肉成績を推定する技術(以下超音波肉質診断技術)が有効であると考えられる。この超音波肉質診断の基本技術はすでに1980年代前半には実用化されていた²⁾。しかし、実際の診断では目視によって診断画像を判定していたことから、技術者の経験や熟練度合いにより診断精度にばらつきが生じるため、改良分野への積極的な利用はあまり進んでいない。そこで、この超音波肉質診

断技術を産肉能力の改良に利用するために、診断精度の向上および客観的な診断技術の開発が求められている。

一方、後代牛の産肉能力育種価は枝肉格付値などの表現形質から統計的に遺伝的能力を推定したものである。しかし、産肉性に関与する遺伝子を直接分析することにより、実際に肥育し産肉成績を得なくても、種畜の持つ遺伝子型により肉量や肉質についての遺伝的能力を推定することが可能であると考えられる。近年では、技術開発により肉用牛の遺伝子情報を比較的容易に把握することが可能となっていることから、このような遺伝子情報利用に関する技術開発も求められている。また、黒毛和種では、系統の成立過程の差異が各産地の牛群の形質的特徴に影響を与えていることから、特に母系系統の遺伝的分類を行うことが計画的な交配や選抜を行う上で重要である。

本研究では、黒毛和種において、産肉能力育種価を効率的に活用するうえで障害となっている評価期間の問題について、この短縮技術として超音波肉質診断による枝肉成績早期推定技術を開発するとともに、育種価評価利用を補完するために遺伝子解析情報を利用した選抜・計画交配に関する技術開発を目的として実施した。

なお、本研究は宇都宮大学との共同研究により実施しており、本報告は研究概要とし、実際のデータ等については別途論文を作成予定であり、詳細についてはそれを参照願いたい。

研究方法

1 超音波肉質診断技術に関する研究

(1) 超音波肉質診断画像の客観的評価に関する研究

超音波診断画像をコンピューター画像処理するシステムを構築し(図1)、診断精度の向上を検討した。

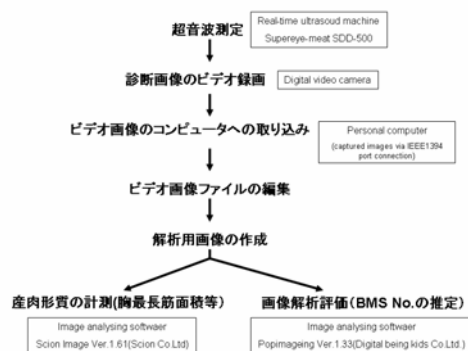


図1 超音波肉質診断システムの概要

まず、出荷直前の黒毛和種去勢牛について、枝肉第6~7 胸椎切開面に相当する位置での超音波診断を行い(スーパーアイミート SDD-500: 富士平工業製)、断層画像をデジタルビデオカメラに録画した。次に、診断画像をコンピューターに読み込み、胸最長筋面積や背脂肪厚などの産肉形質計測精度を検討するため、

モニター上で画像解析ソフト「Scion image Ver1.61」(米 Scion 社)を用いて各形質を計測し、枝肉実測値との比較を行った。一方、脂肪交雑の客観的推定方法を検討するため、超音波診断画像をデジタル化し、診断画像上の胸最長筋や僧帽筋部位における画像特性を画像処理・解析ソフト「Popimaging Ver1.33」((有)デジタル・ビーイング・キッズ社)のテクスチャー解析機能により評価した。そして、この値と格付成績における BMS No. と比較検討を行った。

(2) 脂肪交雑形質の早期推定および血統構成との関係について

超音波診断画像の客観的解析技術を用いることにより、枝肉成績について生体での早期推定の可否を検討した。栃木県畜産試験場繋養の黒毛和種去勢肥育牛に対し、13ヶ月齢~出荷の期間において毎月超音波測定を実施した。これを(1)で構築したシステムを用いて分析し、胸最長筋面積、背脂肪厚等の計測および脂肪交雑の推定を行った。そして、この推定結果と枝肉格付値との関係を分析した。なお、肥育牛は当場生産牛とし、飼養管理は当場の常法の通りとした。また、各肥育牛の血統構成と超音波測定値の経時的変化との比較をあわせて行った。

一方、黒毛和種繁殖雌牛に超音波測定を実施し、直接繁殖雌牛の産肉能力等を推定することの可否を検討した。黒毛和種の受精卵ドナー牛に対して、採卵の際に第7 胸椎部周辺及び臀部を超音波測定し、(1)のシステムにより胸最長筋面積、皮下脂肪厚、脂肪交雑等について診断を行い、測定値の分析をした。

2 産肉能力等の早期推定における遺伝子情報利用技術の研究

(1) ミトコンドリアDNA多型を用いた繁殖雌牛集団の遺伝的特性解析

繁殖雌牛側から和牛牛群の改良を考える上で、母系系統を体系的に分類するための遺伝子情報利用を検討した。当場繋養の県外から導入した黒毛和種繁殖雌牛およびその産子について、母系遺伝を伴うミトコンドリア DNA (mtDNA) (図2)のアミノ酸コード領域である D-loop 領域の多型分析を行った。

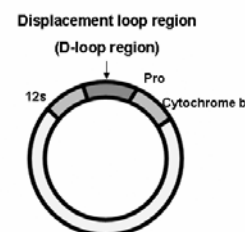


図2 ウシミトコンドリアDNAの構造概略

遺伝子解析はまず血液からDNA抽出を行い、次に

PCRによりD-loop領域 600bpを増幅し(AndresonらによるmtDNA塩基番号 15,792 番~16,392 番³⁾、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。なお、遺伝子の解析方法についてはMannenらの方法⁴⁾に従った。これにより得られた各遺伝子型データと導入県、血統構成等を比較検討した。

(2) 成長ホルモン (GH) 遺伝子多型と産肉能力の関係
繁殖雌牛における成長等に関するGH遺伝子の多型解析を行い、産肉形質に関する遺伝的能力(育種価)との関連性を検討した。GH遺伝子は、黒毛和種内において多型性が報告されており^{5), 6)} (図3)、肥育成績との関係も報告されている^{7), 8), 9), 10), 11)}。

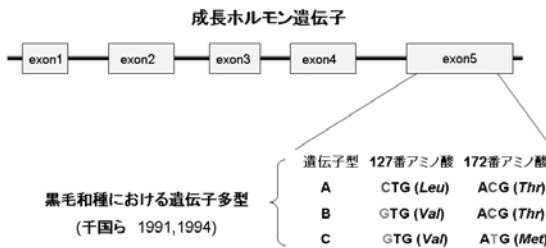


図3 成長ホルモン遺伝子の構造と変異

本研究では、栃木県畜産試験場に繋養されている県外から導入した繁殖雌牛について、血液からDNA抽出を行い、PCR-RFLPにより遺伝子型を判別した。遺伝子解析方法は千国らの方法⁵⁾に従い、千国らの報告による127番アミノ酸変異についてLeu (L) 型とVal (V) 型を判別し、産肉能力育種価および発育成績と比較を行った。

結果

1 超音波肉質診断技術に関する研究

(1) 超音波肉質診断画像の客観的評価に関する研究

第7胸椎付近の断層像について、コンピューターモニター上で僧帽筋の形状及び胸最長筋、菱形筋、腸筋間相互の位置関係を測定位置の指標とし各産肉形質を計測したところ、枝肉実測値と超音波測定値間における各産肉形質について 0.98~0.88(p<0.01)の高い相関係数が得られた。次に、任意領域における画像特徴量とBMS No.との関係を比較したところ、胸最長筋における特徴量とBMS No.との間に非線形的な関係が見られた。また、胸最長筋面積および胸最長筋と僧帽筋との画像特徴量の差分を説明変数、BMS No.を目的変数とする重回帰分析により相関が得られ、この回帰式を用いて超音波診断による生体での脂肪交雑の客観的推定が可能であった。

(2) 脂肪交雑形質の早期推定についての研究

①脂肪交雑の早期推定および背脂肪厚、胸最長筋面積の変化について

各肥育牛の月齢毎の超音波診断画像を解析して

BMS No.を推定し、この値と枝肉格付における格付等級および脂肪交雑等級との比較を行った。その結果、格付がA3, 4, 5に評価された各肥育牛の22ヶ月齢における超音波診断による脂肪交雑推定値に、各格付間において有意差が得られたことから、22ヶ月齢における超音波肉質診断により格付値がほぼ推定できることが判った。しかし、脂肪交雑の発達は、肥育末期まで持続する個体も見られた。また、背脂肪厚は、一律に増加するのではなく、個体の状態により増減することが判明した。

なお、脂肪交雑の発達と系統との関係について、血統構成に田尻系を含むものは、他の血統構成に比較し、晩熟型の傾向が見られた。しかし、背脂肪厚の変化は個体によるばらつきが大きく、血統構成との明確な関連性はみられなかった。

胸最長筋面積の変化は、肥育前期に顕著な発達を示しその後横ばいを示すグループと、肥育前期から後期まで漸次増加するグループとに大きく分かれ、前者は藤良系・気高系の系統を含むものに多くみられ、後者は血統構成に田尻系を含むものに多くみられた。

なお、産肉能力育種価と各産肉形質の発達との間に関係が見られ、特にロース芯面積の育種価が高い牛は、肥育前期における発達が顕著である傾向が見られた。

②繁殖雌牛の超音波診断結果と産肉能力との関係

産肉能力育種価が判明しているドナー牛について、受精卵採取時に第7胸椎部周辺及び臀部を超音波測定した。繁殖牛の胸部断層像は、肥育牛に比較しロース芯面積などの各産肉形質が未発達であり、今回の分析では産肉能力育種価との明確な関係は確認できなかった。特に脂肪交雑については、正常な栄養状態にある繁殖牛においては、肥育牛と比較し、ロース芯内部における画像変化の個体間差がほとんど見られなかった。一方で、臀部の断層診断により測定した皮下脂肪厚と採卵成績との間に関係が見られ、脂肪厚が1cmを越える過肥の牛では採卵成績や繁殖成績の低下が見られた。

2 産肉能力等の早期推定における遺伝子情報利用技術の研究

(1) ミトコンドリアDNA多型を用いた繁殖雌牛集団の遺伝的特性解析

繁殖雌牛およびその産子について、母性遺伝を伴うミトコンドリアDNA (mtDNA) の多型解析を行い9タイプの変異型(ハプロタイプ)を検出した。また、この分析により、mtDNAのタイプは親子間ですべて同じタイプを示したこと、および各タイプの出現頻度は各繁殖雌牛の母方祖先が生産された地域により特徴が見られたことから、mtDNAの分析により各繁殖牛の母系系統の体系的分類が可能であることが判明した。また、mtDNAのタイプごとに発育成績を比較

したところ、生時体重は各タイプ間で有意差は見られなかったが、日増体重においてタイプ間に有意差が見られた。

(2) GH遺伝子多型と産肉能力

当時繁養の県外から導入した繁殖雌牛について、遺伝子型を判別したところLL型・LV型・VV型の3タイプが検出された。各タイプの頻度は導入県により特徴が見られた。また、各供試牛の産肉能力推定育種価と遺伝子型とを比較したところ、枝肉重量・バラ厚・皮下脂肪等の推定育種価について遺伝子型間に有意差があり、VV型が低い傾向がみられた。また、産子では生時体重、300日齢時体高について遺伝子型間に差が見られた。このことから、全体的にL型を含む遺伝子型のもが肉量や発育が良好な傾向が見られた。以上のことから、GH遺伝子の127番アミノ酸変異は産肉形質や増体能力の遺伝的能力と関連することが示唆された。

まとめ

本研究は、黒毛和種における産肉能力評価の効率的技術として、従来の育種価評価方法を補うための技術開発を目的として実施した。これについて、我々の第1の課題は、産肉情報を早期の段階で獲得するための技術開発であり、その手段として超音波診断による生体肉質診断技術に着目した。超音波診断技術は診断精度および脂肪交雑判定の客観性という点において問題点があったが、今回、コンピューター画像解析技術を応用した診断システムを構築し診断精度に関する検討を行ったところ、超音波測定で得られた測定値と枝肉実測値との間で非常に高い相関を得られたことから、本診断システムは生体における産肉形質を正確に推定するための技術として有効であることが判った。また、脂肪交雑の推定についても、画像解析値に基づく回帰分析により、客観的に推定する技術を確立することが出来た。また、育種改良に超音波肉質診断技術を用いる場合、精度向上とともに術者による診断データのばらつきが少ないことが重要であり、本診断システムでは、コンピューターを利用することにより客観的な診断結果が得られたことから、本技術が改良分野でも有用であると考えられる。

次の段階として超音波肉質診断を用いた後代肥育牛の枝肉成績の早期推定について検討を行った。今回の我々の研究では、肥育中期である22ヶ月齢時点で格付け値の推定が可能であることが判明した。この格付け値の早期推定に関しては徳丸¹²⁾や宮島¹³⁾も本研究と同様に22ヶ月齢程度で推定可能であると報告している。このことから、通常のと畜よりも約1年早い期間で格付結果を予測でき、能力評価の効率化を図ることが可能となると考えられる。しかし、今回の研究において脂肪交雑等級推定値の変化を見ると、27

ヶ月から30ヶ月齢の肥育後期においても脂肪交雑の発達が見られたことから、最終的な脂肪交雑の程度については、肥育末期にならないと正確な予測は困難であると考えられる。なお、胸最長筋面積についても発達パターンと産肉能力育種価との間に関連性が示唆されたことから、肥育早期においてある程度の能力推定が可能であることが判明した。ただし、背脂肪厚については、一定の傾向は見られず肥育末期に減少する個体も見られたことから、遺伝的な影響よりも飼料摂取量などの飼養環境による影響が大きいと考えられる。

一方、従来より、一般的に黒毛和種の系統によっては早熟型や晩熟型などの傾向があるといわれていたが、今回、各産肉形質の変化パターンと血統構成との間に関連性が見られたことから、各産肉形質の発達速度についても遺伝的な影響があると考えられる。ただし、本研究で超音波診断を行った供試牛は、主に畜産試験場繁養牛であることから、技術的普及を考える上では、今後、県内農家繁養牛についても超音波測定を実施し、一層のデータの集積を進める必要があると考えられる。

次に、第2の課題としては、産肉能力推定に対する遺伝子情報の活用技術開発である。栃木県は、繁殖雌牛を主体に改良を進めているため、母系系統を体系的に分類する方法が必要であり、また、改良資源を有効に確保するために、遺伝的多様性を把握する技術が求められている。核外遺伝子であるmtDNAのD-loop領域は、母性遺伝を伴い、またアミノ酸非コード領域であることから高い変異性を持つことが特徴であり、この多型解析は母系遺伝集団の解析方法として広く用いられている。今回、この領域の9つのハプロタイプと各個体の母系生産地域および発育成績等に関係が見られたことから、各母系系統の特性や遺伝的多様性を把握するためには、このmtDNAのD-loop領域の多型解析を利用することが有効であり、今後、県内牛群に対して大規模な解析が可能となれば、これらのハプロタイプを一つの目安として牛群の整備を進めていくことも考えられる。

一方、今回の研究では、核内遺伝子のうちGH遺伝子の多型解析も実施したが、このGH遺伝子のハプロタイプと発育や産肉量との間に関係が見られたことから、このハプロタイプを一種のDNAマーカーとし、計画交配や選抜の目安として利用することが考えられる。ただし、産肉成績は肉量だけでなく脂肪交雑の発達や脂肪の品質といった多数の要素があり、これらに関与する遺伝子も非常に多数存在すると思われる。これまでもSCD遺伝子と脂肪酸組成との関係¹⁴⁾やEDG-1遺伝子と脂肪交雑との関係¹⁵⁾などの報告があり、今後、より多くの候補遺伝子と産肉性との関係解析を実施していく必要があると思われる。

以上のことから、特に繁殖雌牛の改良を進めていく

上で、今回の研究で開発した超音波診断による早期での産肉能力推定技術や遺伝子情報利用技術を活用することにより、産肉能力育種価評価を補完し、改良を効率的に実施することが可能であると考えられる。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、御指導頂いた宇都宮大学農学部動物生産学科 吉澤緑教授ならびに福井えみ子助教授に感謝いたします。

文 献

- 1)佐々木義之. 動物の遺伝と育種. 朝倉出版. 117-118. 1994
- 2)原田宏. 肉用牛における屠肉形質の超音波推定法に関する研究 : 宮大農報 . 29. 1-65 .1982
- 3)Anderson S・M. H. L. Deburijn・ A. R. Coulson・ I. C. Eperson・ F. Sanger. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA :J. Mol. Biol.. 156. 683-717. 1982
- 4)Mannen H・ Tsuji S・ Loftus RT・ Bradley DG. Mitochondrial DNA variation and evolution of Japanese black cattle (Bos taurus) : Genetics. 150. 3. 1169-75. 1998
- 5)千国幸一・寺田文典・陰山聡一・小石川常石・加藤貞雄・小堤恭平. PCR法を用いた牛成長ホルモン遺伝子 127 番アミノ酸部位塩基配列の多型検出 : 日本畜産学会報. 62. 7. 660-666. 1991
- 6)千国幸一・長妻常人・田畑利幸・門間美千子・斉藤昌義・小沢忍・小堤恭平 : 和牛において見いだされた成長ホルモン遺伝子の多型 : 日本畜産学会報. 65.4.340-346. 1994
- 7)安田康明・遠藤治・森脇秀俊・板垣勝正. 島根県における牛成長ホルモン遺伝子の多型について(第1報). 島根県立畜産試験場研究報告. 33. 17-19. 2000
- 8)安田康明・佐々木恵美・山田彰司・長谷川清寿・安部茂樹. 島根県における牛成長ホルモン遺伝子の多型について(第2報). 島根県立畜産試験場研究報告. 35. 5-8. 2002
- 9)河野幸雄. 系統及び成長ホルモン遺伝子型が異なる黒毛和種肥育牛の成長特性: 栄養生理研究会報: 49. 2. 1-18 . 2005
- 10)岡 章生・龍田 健・岩本英治. 但馬牛種雄牛の成長ホルモン遺伝子多型と枝肉形質育種価の関係 : 兵庫県立農林水産技術総合センター研究報告. 14. 6-9. 2005
- 11)片岡博行・馬場誠・石川和人・塚本章夫. 岡山県の黒毛和種における牛成長ホルモン遺伝子の多型と産肉性 : 岡山県総合畜産センター研究報告. 11. 1-4. 2000
- 12)徳丸元幸・久徳輝幸・山元隆志・川久保耕三・横山喜世志. 超音波測定による去勢肥育牛の枝肉形質の発育様相ならびに脂肪交雑等級の早期予測 : 鹿児島県肉用牛改良研究所研究報告. 6.9-14.2001
- 13)宮島恒晴. 黒毛和種における超音波を用いた肉質の早期判定法 : 西日本畜産学会報. 44. 35-42. 2001
- 14)Taniguchi M・ Utsugi T・ Oyama K・ Mannen H・ Kobayashi M・Tanabe Y・Ogino A・Tsuji S. Genotype of stearoyl-coA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle: Mamm.Genome.152.142-148.2004
- 15)西村翔太・藤田達男・志賀一穂・三宅武・谷口幸雄・山田宣永・佐々木義之. EDG-1 の SNP とウシ脂肪交雑との相関解析 : 日本畜産学会第 106 回大会講演要旨. 2006

