

プロジェクト名：熊本系褐毛和種の特性評価

松本 大和<sup>1</sup>、樫村 敦<sup>1</sup>、今井 早希<sup>1</sup>、服部 法文<sup>2</sup>、神鷹 孝至<sup>2</sup>

1) 農学部応用動物科学科、2) 農学教育実習センター

## I. 緒言

牛枝肉は牛枝肉取引規格に基づく格付けにより歩留等級と肉質等級から評価され、その市場価格が決定される。歩留等級は枝肉から得られる可食部を示す基準であり、胸最長筋面積、ばらの厚さ、枝肉重量、皮下脂肪の厚さから評価される。一方、肉質等級は脂肪交雑 (Beef Marbling Standard: BMS)、肉の色沢、肉の締まりおよびきめ、脂肪の色沢と質の4項目から評価される。枝肉価格はこれら評価基準の統合的な評価により決定されるが、中でも BMS ナンバーは市場価格に強く影響することが知られている。そのため、その脂肪交雑能力の高さで国内外に知られる黒毛和種が我が国では最大の飼養頭数を誇り、飼料および飼育方法の改良や育種選抜による BMS ナンバーの向上を目指した取り組みが盛んに行われている。

一方、東海大学農学部の位置する熊本県では褐毛和種の生産が盛んであり、阿蘇キャンパスでは放牧を主体とした生産を行っている。褐毛和種は和牛品種の一つであり、高知県と熊本県で多く飼養されているが、黒毛和種とはその性質が大きく異なるとされている。これらの牛肉は霜降りが少なく、健康志向が進む現代社会のニーズに合った高い資質を備えると共に、地域資源を活用した持続型の動物生産の要として期待されている。しかし、褐毛和種独自の品質に対する科学的検証はほとんど行われておらず、BMS ナンバーの低い本品種の評価は低迷しているため、その生産基盤の衰退が問題となっている。褐毛和種の特性とそれを生み出す分子機構を明らかにすることにより、熊本系褐毛和種における評価基準の確立、ブランド力の強化を通じた地域再生への波及効果が期待できる。

今年度は熊本系褐毛和種の特性を科学的に評価するため、生理学、行動学および遺伝学的手法を用いた多面的解析を行う体制の整備を行った (Fig. 1)。熊本系褐毛和種の運動量や行動特性に対する評価システムを確立するとともに、熊本系褐毛和種の遺伝的特徴を一部の遺伝子について明らかにしたため、これらの結果を報告する。

# 持続的畜産と放牧による赤身肉生産

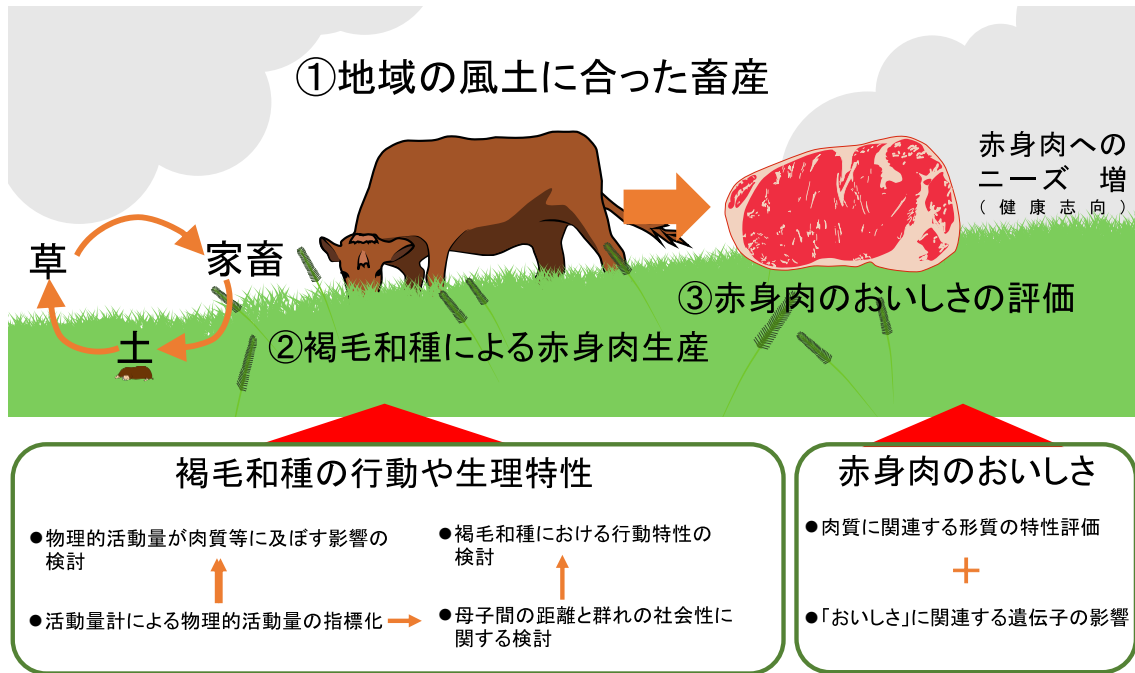


Fig. 1. 本プログラムの目標とその達成に向けた各課題の実施体制。

褐毛和種の放牧による飼養管理は服部、神鷹が担当し、このウシに対する生理学的解析は櫻村が、行動学的解析は今井が、遺伝学的解析は松本がそれぞれ担当する。

## II. 生理的および行動的解析

赤身肉は霜降り肉と比べて旨味が強く、高いリノレイン酸含有率などからヒトの健康にも良いとされており、近年では放牧による赤身肉生産が注目されている。放牧による運動がこれら肉質に係わる肉の物性や脂肪酸組成などに関連すると考えられているが、未解明な部分が多く褐毛和種においては検討もされていない。また、ウシの扱いやすさは管理者にとって重要なファクターであり、畜産業の高齢化や新規就農者の増加を促す要因でもある。褐毛和種は、黒毛和種と比べて気質が穏やかで管理がしやすく、放牧に適していると言われているが、これらの特性における科学的根拠は乏しい。そこで、今年度は赤身肉に関連があるとされる活動量について、放牧される褐毛和種の物理的活動量の指標化を試み、気質に関連する基礎情報の集積のために、個体間距離の測定方法について検討した。

### 1. 測定機器の装着部位の検討

東海大学農学部農学教育実習センター放牧地において、褐毛和種メス 3 頭に GPS ロガーを右前肢に装着した (Fig. 2)。しかし、7 日後に観察した際には全ての GPS ロガーが固定装具ごと脱落していた。この結果を踏まえて、活動量計の装着試験の際には供試牛メス 1 個体の頸部にベルトを着け、その下垂部に小型のバッグを装着し、その中に活動量計を入れて活動量の記録を行った (Fig. 2)。

この活動量計は脱落することがなく、連続 6 日間での記録が可能だった。このことから、本研究の測定機器については GPS ロガーを供試牛の背部に、活動量計を頸部側にそれぞれ固定することに決定した。この固定方法であれば、いずれの測定機器も脱落することなく長期間のパラメータ測定が可能となる。また、これら測定機器はヒト用に開発されたものであり、ウシ用のものより安価に購入できる。従って、本測定システムでは多くの個体を対象とした解析が比較的安価に実施可能である。

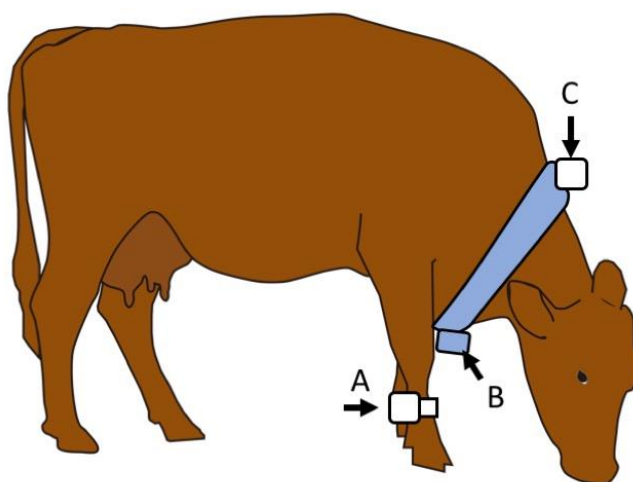


Fig. 2. GPS ロガーおよび活動量計の装着部位。

放牧した供試牛の右前肢 (A) に GPS ロガーを装着したが全て脱落したため、ベルトを頸部に巻き B の部分に下げたバック内に活動量計を入れて記録した。今後は C の部分に GPS ロガーを装着して実施する予定である。

## 2. 活動量の解析結果および考察

連続 5 日間の測定結果のうち、活動量計を装着した 1 日目と 6 日目のデータを除いた 3 日間について解析を行った。記録できた歩数については、連続 3 日間の 132 時間のうち 42 時間で、最小 7 歩/h から最大 2021 歩/h まで大きな差が確認された。また、歩数による活動のピークについては、いずれも 6:00 から 9:00 までの朝に活動し、14:00 から 18:00 までの夕方にもピークが確認された (Fig. 3)。4 日目の 0:00 から 2:00 にかけても夜間の活動ピークが観察された (Fig. 3)。活動量計のデータについて、歩数を説明変数、移動距離 (km) および活動による活動カロリー (kcal) をそれぞれの目的変数として、これら形質の相関を確認した。歩数と移動距離については正の相関 (距離 =  $-0.0020 + 0.001 \times$  歩数、 $R^2 = 0.99$ ) が確認され、その相関係数は  $r = 0.99$  と非常に高い数値を示した (Fig. 4)。一方、歩数と活動カロリーについても正の相関 (活動カロリー =  $30.1978 + 0.0415 \times$  歩数、 $R^2 = 0.19$ ) が確認されたが (Fig. 5)、その相関係数は  $r = 0.44$  であり、それほど強い相関ではなかった。この結果は、活動カロリーについては歩数が 0 から 100 と少ない場合であ

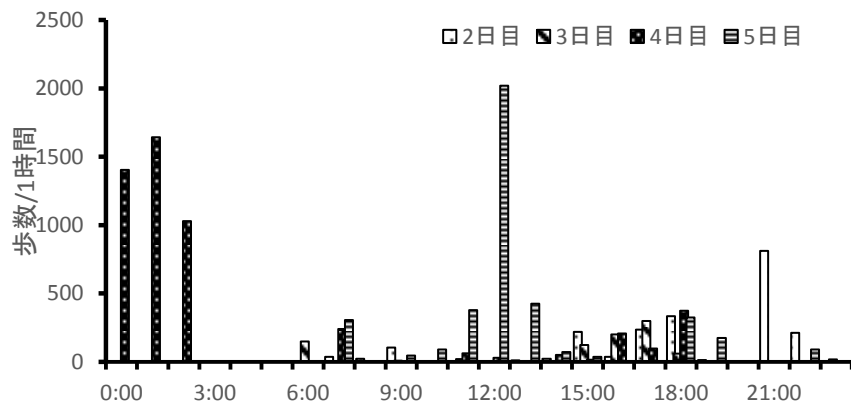


Fig. 3. 供試牛の4日間における一時間あたりの歩数.

活動量計を装着した連続6日間のうち、装着時と脱着時の1日目および6日目を除いた各時間あたりの歩数について示した。歩数による活動は6:00から9:00および14:00から18:00にピークが確認された。4日目の0:00から2:00にかけても活動ピークが観察された。

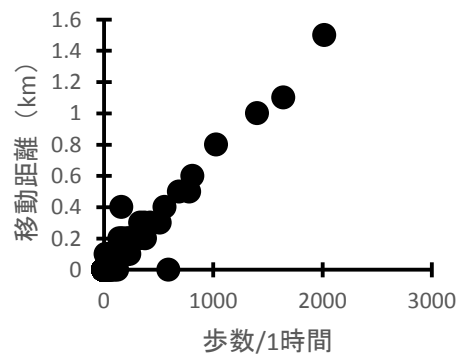


Fig. 4. 活動量データロガーにより記録した歩数と移動距離の関係.

活動量計を装着した連続6日間のうち、装着時と脱着時の1日目および6日目を除いた1時間あたりの歩数は移動距離 (km) の関係について示した。これら形質の間には相関係数  $r = 0.99$  の非常に強い正の相関が確認された。

っても消費カロリーが加算される活動として記録されたことが原因であると考えられる (Fig. 5)。

これらの結果から、供試牛の属する牛群の移動を伴う活動においては、朝および夕方に活動ピークを迎えるパターンを示すことが推測された (Fig. 3)。調査実施期間である12月は野草等の餌資源量が少なく、農学教育実習センターでは冬季用貯蔵飼料のサイレージを給餌場で朝夕一度ずつ全個体を集めて給与するシステムで管理されていた。この冬季の給餌方法により、朝夕に活動ピークを迎えるパターンが生じたと考えられた。また、活動量計の歩数と活動カロリーが移動距離よりも弱い正の相関であったことから (Fig. 4、5)、佇立や横臥といった水平方向の移動を伴わない垂直方向のみでの活動が含まれていた可能性が示唆された。しかしながら、首を下げて採餌している状態での供試牛の歩行な

どは装着部位の上下の移動が一般的な歩行よりも小さく、ヒト用の活動量計では歩行とカウントされていない可能性も考えられた。

今年度の研究によって確立した測定システムを用いた活動量計と GPS ロガーによる同時記録から、今後は活動量という生理的検討と個体間の親和性に関連する母子間あるいは牛群の個体間から社会的距離といった行動的検討についても検討していくことが可能になる。他方で、歩数と移動距離の精度について検証するとともに、供試牛の歩行や起立といった活動をビデオ撮影することにより、ウシの行動をヒト用活動量計で記録することの妥当性を検証する必要がある。更に、放牧が活発に行われる夏季と冬季における活動パターンの違いについても調査することにより、飼養管理方法や品種による活動特性の違いが解明されると期待される。

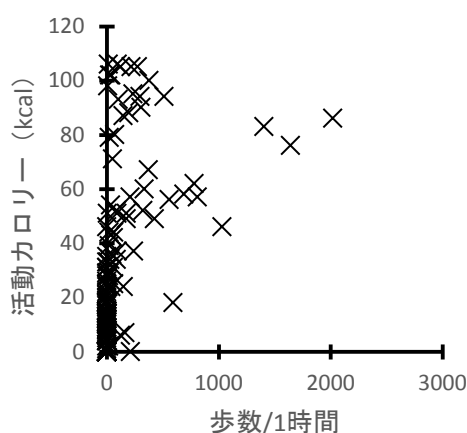


Fig. 5. 活動量データロガーにより記録した歩数と活動カロリーの関係。

活動量計を装着した連続 6 日間のうち、装着時と脱着時の 1 日目および 6 日目を除いた 1 時間あたりの歩数と活動カロリー (kcal) の関係について示した。これら形質間にも正の相関が確認されたが、その相関係数は  $r = 0.44$  だった。

### III. 遺伝学的解析

肉用牛の改良では BMS ナンバーが重視されてきたが、近年では新しいおいしさの指標として脂肪の質を表す脂肪酸組成も注目されている。そのため、今年度は BMS ナンバーおよび脂肪酸組成に影響することが知られる *SCD*、*SREBP-1*、*EDG-1* 遺伝子の熊本系褐毛和種における優良アリル頻度を調査した。また、本品種はその外貌から褐毛和種と命名されているが、その毛色決定機構は不明である。そこで、多くの動物種の毛色決定機構で重要な役割を持つ *MC1R* 遺伝子の熊本系褐毛和種における遺伝子型を調査し、本遺伝子の CDS 領域における新規 DNA 多型の探索も行った。

#### 1. 熊本系褐毛和種における経済形質関連遺伝子の遺伝子構造

熊本系褐毛和種 190 頭を対象に遺伝子型判定を行った結果、本品種における *SCD* 遺伝子の遺伝子型は V/V 型が 0.235、V/A 型が 0.601、A/A 型が 0.164 であり、対立遺伝子頻度は V アリルが 0.536、A アリルが 0.464 だった。本遺伝

子では A アリルが優良アリルであり、食肉中のオレイン酸含有率に効果があると言われているが、熊本系褐毛和種では中程度の遺伝子頻度を示した。また、*SREBP-1* 遺伝子の遺伝子型は L/L 型が 0.968、L/S 型が 0.032 であり、S/S 型の個体は確認されなかった。従って、対立遺伝子頻度は L アリルが 0.984、S アリルが 0.016 と算出された。本遺伝子も脂肪酸組成に影響し、S アリルが優良アリルであるとされているが、熊本系褐毛和種ではほぼ L アリルに固定されていた。BMS ナンバーに効果を持つ *EDG-1* 遺伝子の遺伝子型は A/A 型が 0.926、A/G 型が 0.074 であり、G/G 型の個体は確認されなかった。対立遺伝子頻度は A アリルが 0.963、G アリルが 0.037 であり、優良アリル頻度は極めて低かった (Fig. 6)。これら遺伝子の優良アリル頻度を高めることにより熊本系褐毛和種の肉質が向上することが期待されるが、DNA マーカーの効果はしばしば品種や集団により異なるため、遺伝子型と形質との相関を調査するなど更なる検証が必要である。

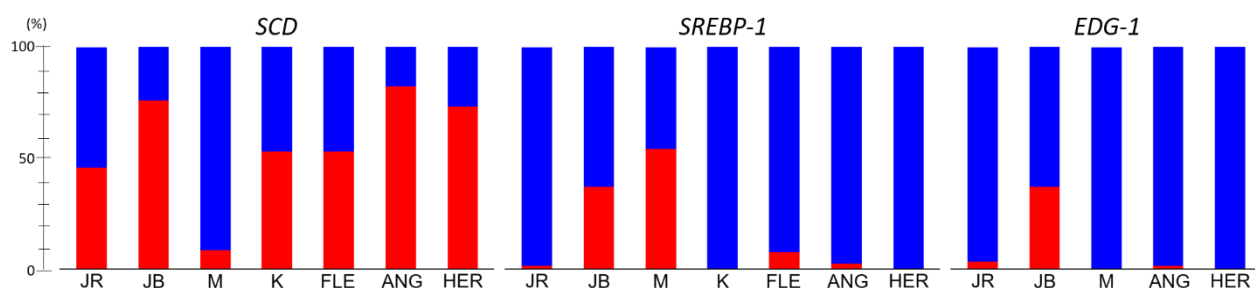


Fig. 6. 各ウシ品種における *SCD*、*SREBP-1*、*EDG-1* 遺伝子の構造。

枝肉形質に関わる各遺伝子の優良アリル頻度を赤で示した。なお、褐毛和種以外のウシ品種のデータは Yoneda *et al.* 2010、Kaneda *et al.* 2011、Barton *et al.* 2014、Siqintuya *et al.* 2014、Nishimaki *et al.* 2016 より引用した。JR: 褐毛和種、JB: 黒毛和種、M: 見島牛、K: 口之島牛、FLE: フレックフィー種、ANG: アンガス種、HER: ヘレフォード種

## 2. 熊本系褐毛和種の毛色決定機構の解明

ウシ *MC1R* 遺伝子では 3 個の対立遺伝子が報告されており、野生型で黒褐色を呈する *E<sup>v</sup>* 型に対し、ミスセンス突然変異による *E<sup>p</sup>* 型では毛色が黒色に、フレームシフト突然変異による *e* 型では褐色になることが知られている。熊本系褐毛和種 73 頭を対象に遺伝子型判定を行った結果、そのほとんどは *de* 型だったが、*E<sup>p</sup>le* 型の個体が 6 頭確認された。遺伝子型からはこれらの個体は黒い毛色となることが予測されるため、遺伝子型と表現型の間には矛盾が生じ、既知の *MC1R* 遺伝子の DNA 多型では熊本系褐毛和種の毛色決定機構は説明できないことが強く示唆された。毛色の褐色化を導く新規原因多型の存在が示唆されたため、表現型と矛盾する遺伝子型を示したこれら 6 個体を対象として *MC1R* 遺伝子の CDS 領域に対する塩基配列決定を行った。その結果、*MC1R* 遺伝子の CDS 領域において新規ミスセンス突然変異を同定した。この突然変異はアミノ酸の性質を大きく変更するものであり、タンパク質の機能ドメイン内に位置することから、*MC1R* 遺伝子の機能や構造に大きく影響する可能性が示唆された (Fig. 7)。今後の研究では熊本系褐毛和種や本品種を造成する際に導入された韓

牛、シンメンタール種、デボン種を対象として新規ミスセンス突然変異の遺伝子型判定を行い、本 DNA 多型と毛色との関連を明確にする必要がある。

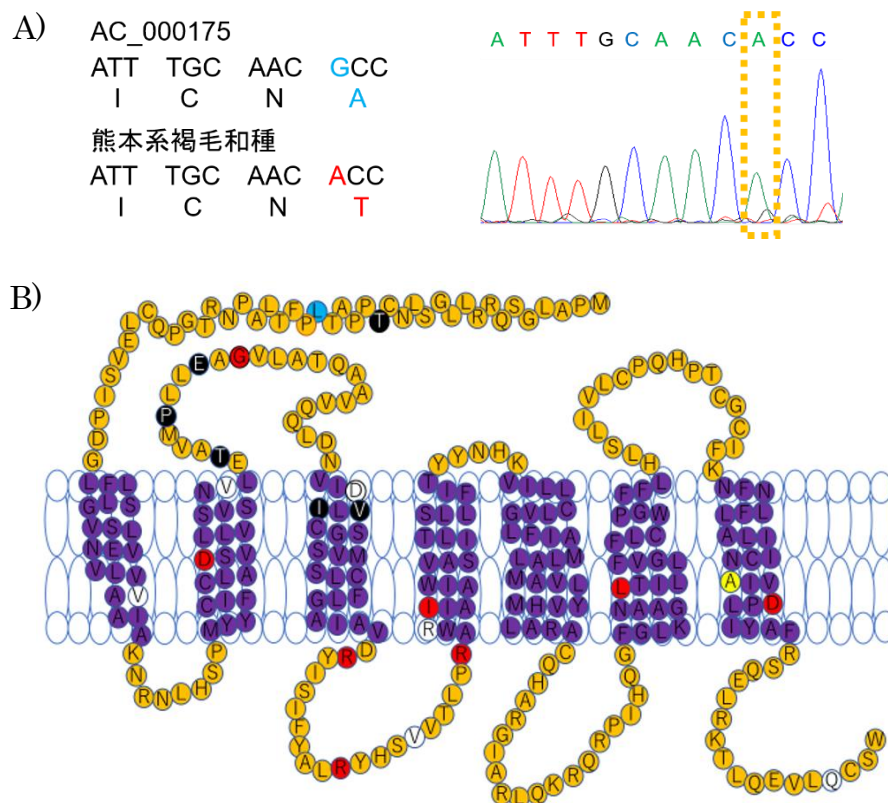


Fig. 7. 熊本系褐毛和種における新規 *MC1R* 遺伝子多型の同定.

(A) データベースでは G で登録されている塩基が、熊本系褐毛和種では A だった。これはミスセンス突然変異であり、コードするアミノ酸をアラニンからスレオニンに変更することが予測された。(B) *MC1R* タンパク質の構造を模式的に示した。赤色で示したアミノ酸では赤色化に関する多型が報告されており、黒色は黒色化に関わる。青色は黒色の斑点の形成に関与する。一方、白色は毛色に影響しない多型である。新規ミスセンス突然変異 (黄色) は膜貫通ドメイン内で同定された。

#### IV. 総括

今年度は、熊本系褐毛和種の放牧時における活動量や行動特性としての個体間距離を測定するための機器を装着し、長期記録するための測定システムが確立された。本システムの精度の検証を行う必要はあるが、これまでのウシ用活動量計よりも安価に用いることができる、ヒト用活動量計による活動量の指標化の可能性が示された。これにより、今後は飼養体系の違いにより生じる活動量の違いがいかに肉質に影響するのかを品種間で比較できる。GPS ロガーによる位置情報と活動量の関係から、仔牛の母子放牧における社会的行動の詳細な形成過程や離乳後の新規環境下における反応性、ヒトへの親和性行動を対象とした行動解析も可能となる。また、遺伝学的解析として、枝肉形質に関わる遺伝子と毛色決定に関与する遺伝子を解析した。その結果、褐毛和種と黒毛和種

の違いが遺伝子レベルで明らかになるとともに、熊本系褐毛和種の毛色決定への関与が示唆される新規 DNA 多型の同定に成功した。以上のように、今年度の成果は試行的段階であり、それぞれの成果から総合的に褐毛和種の特性を解明するには至っていないものの、今後の肉質や脂肪酸組成などの生産物から得られるパラメータに対して、遺伝学的、生理学的あるいは行動学的視点から総合的に検証するための基盤が構築できた。