

氏名(本籍)	ふか 深	さわ 澤	みちる 充
学位の種類	博士 (農学)		
学位記番号	農博第 696 号		
学位授与年月日	平成 14 年 3 月 25 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	東北大学大学院農学研究科資源生物科学専攻 (博士課程)		
学位論文題目	牛小型ピロプラズマ症に対する抗病性の遺伝的改良の検討		
論文審査委員	(主査)	教授	西田 朗
		教授	菅原 和夫
		教授	小原 嘉昭

論文内容要旨

第一章 結論

食生活の欧米化にともない我が国の牛肉需要は戦後右上がりの増加を続けてきた。しかし、飼養頭数とは逆に飼養農家数は減少を続けている。飼養農家の減少は、肉牛生産が産業として成立するために、ある程度の規模拡大が必要であり、そのために零細肉牛農家が脱落していったためと考えられている。また、若年農業労働者の流出や先行きへの不安などによる脱落も挙げられる。したがって、今後畜産が産業として成立するためには、多頭化をすすめて農業所得全体を増加する必要があるとともに、省力化による労働生産性の向上や低コスト生産による一定の利潤の確保が重要となってくる。

さらに社会的な要請として環境に対する配慮が求められている。海外に依存しきった畜産基盤は不安定であり、将来の穀類収量の減少と化石エネルギーの枯渇が危惧される現在、自給による安定した畜産基盤の確保は急務である。

このような状況の下、新たな展開方向の一つと

しては中山間地における労働生産性の高い放牧を核とした、日本型牧畜システムの確立の必要性が述べられている。かつて肉牛生産の主流であった中山間地での放牧による肉牛生産は国土保全等の面からも高い評価を受けている。しかし、生産者は放牧に対して消極的で、草地の利用率もいまだ横ばい状態である。

その原因の一つとして、小型ピロプラズマ症による子牛の発育停滞があげられる。本症は特に初放牧の育成牛に多発する原虫性貧血疾患であり、ここ数年わが国の放牧病の第1位を占め、予防や治療ために費やされる経費や労力は100億円に達するという試算もある。

本研究では、特に小型ピロプラズマ症に対する抵抗性を遺伝育種的方法によって改良を行うために必要な知見を得ることを目的とする。

第二章 小型ピロプラズマ症抵抗性の評価と生産形質との遺伝的關係

第二章では、現在利用するデータを用いて、小型ピロプラズマ症抵抗性をどのように評価するか検討した。さらに抵抗性と生産形質の遺伝的關係について推定し、選抜による改良の可能性について検討した。

第一節 小型ピロプラズマ症抵抗性の改良のための指標の評価

本節では、日本短角種子牛のデータを用いて、放牧期間中の日増体量(DG)および治療回数に対し、原虫感染および貧血の程度がどの程度影響を与えるか推定し、小型ピロプラズマ症抵抗性を評価するための指標について検討した。

放牧期間中の治療回数およびDGに対する最小二乗分散分析の結果、放牧期間中の平均原虫寄生率(AvePara)および平均血球容積(AvePCV)を各々

1標準偏差単位望ましい方向に変化させた場合に治療回数に与える影響を表1に示した。AveParaを1標準偏差小さくした場合、集団の治療回数は0.002回減少することが示された。また、AvePCVを1標準偏差大きくした場合、集団の治療回数は0.419回減少することが示された。またAveParaおよびAvePCVを1標準偏差望ましい方向に変化させた場合にDGに与える影響を表2に

示した。平均 Para を 1 標準偏差小さくした場合、集団の DG は 32.92 g/day 減少することが示された。また、AvePCV を 1 標準偏差大きくした場合、集団の DG は 22.35 g/day 増加することが示された。

Table 1. Relative effects of a change of one standard deviation (SD) in AvePara and AvePCV on number of theileria-cidal drug treatments required

	AvePara	AvePCV
Unit	%	%
Means	1.24	26.6
SD	0.64	2.3
Desirable direction of improvement	-	+
Regression coefficient on No. of treatments	0.003	-0.183
Effect of change for desirable direction of 1SD in measure	-0.002	-0.419

虫の増殖を制御する能力の改良に比べて、貧血を制御する能力の改良は、*T. orientalis sergenti* 原虫に対する抵抗性を効率よく改良しうることを示唆された。

Table 2 Relative effects of a change of one standard deviation (SD) in AvePara and AvePCV on dairy gain (DG)

	AvePara	AvePCV
Unit	%	%
Means	1.24	26.6
SD	0.64	2.3
Desirable direction of improvement	-	+
Regression coefficient on DG	51.37	9.76
Effect of change for desirable direction of 1SD in measure	-32.92	22.35

第二節 日本短角種における赤血球容積と日増体量の遺伝的關係

本節では、日本短角種子牛のデータを用いて、小型ピロプラズマ症抵抗性の選抜による改良の可能性および生産性との同時改良の可能性について検討した。

多形質アニマルモデルの制限付き最尤法を用いて、遺伝率および遺伝相関を推定した。推定した表型(共)分散および遺伝(共)分散を用いて、以下の4つの選抜目標に到達するのに必要な相対希望改良量を実現するための選抜指数の作成を行った。改良目標は以下の4つを想定した。各選抜指数式の詳細について表3にまとめた。

目標 1: DG のみの改良

目標 2: 他の形質の相関反応に制限を加えない条件下での最低血球容積(MinPCV)および DG の同時改良

目標 3: 放牧前血球容積(PrePCV)の相関反応を 0 とする条件下での MinPCV および DG の同時改良

目標 4: 選抜候補の子牛や血縁個体が自身の MinPCV の情報が無い条件下での MinPCV および DG の同時改良

推定した3形質の遺伝的パラメータを表3に示し、毎世代の選抜差が選抜指数で1標準偏差となる選抜を加えると仮定した場合の1世代あたり

Table 3 The characteristics of four selection indices

INDEX No.	Selection criteria			Desired gains		
	PrePCV	MinPCV	DG	PrePCV	MinPCV	DG
I	×	×	○	×	×	+0.12
II	○	○	○	×	+3.31	+0.12
III	○	○	○	0	+3.31	+0.12
IV	○	×	○	×	+3.31	+0.12

1) ○ represents "included in selection index as criterion"

× represents "not included in selection index" or "not set up desired gain"

の各形質の改良量と、希望改良量を達成するまでに必要な世代数を表4に示した。MinPCVの遺伝率は低く、直接的な選抜による改良は非効率的であると考えられた。目標1では、選抜による相関反応によって、MinPCVの減少が予測され、DGの改良のみを目的とした場合、集団の貧血抵抗性は減少することが示された。目標2では、MinPCVおよびDGの選抜による同時改良は、十分に可能であることが示唆されたが、PrePCVも相関反応

Table 4 The genetic and phenotypic parameters of three traits

	PrePCV	MinPCV	DG
PrePCV	0.48 ± 0.11	0.43 ± 0.27	0.81 ± 0.12
MinPCV	-0.10	0.11 ± 0.06	-0.18 ± 0.23
DG	0.02	0.24	0.66 ± 0.06

diagonal: heritability ± S.E.

upper diagonal: genetic correlation ± S.E.

lower diagonal: phenotypic correlation

第三章 貧血抵抗性の生理的指標の探索

第三章では、第二章で示された貧血抵抗性および生産性の同時改良に関する問題点を解決するため、利用可能な生理的指標の探索を行った。

第一節 複数の血漿成分が貧血の進行に与える影響の同時評価

本節では、(1)放牧期間中の子牛のいくつかの血漿成分の推移を調査し、(2)放牧中の貧血の進行に最も関連の深いと考えられる血漿成分について検討することを目的とした。

12頭の黒毛和種および、3頭の交雑種を供試した。放牧中のPCV、血漿中のリン脂質(PL)、ビタミンE(VE)、遊離脂肪酸(NEFA)および免疫グロブリンG(IgG)濃度について測定を行った。PCVが最低値を示した採血日までを減少期とし、その後を回復期とした。

各血漿成分の推移を図1に示し、各期間のPCVおよび各血漿成分間の相関係数を表6に示した。PLの推移はPCVと似通っていることが示

によって上昇することが予測された。目標3は実現が不可能であると予測された。目標4では、選抜候補の子牛や血縁個体が自身のMinPCVの情報無くとも、MinPCVとDGの選抜による同時改良は十分に可能であることが示唆された。小型ピロプラズマ症に感染・発症することのない子牛のデータを分析に加えることは、有用な選抜手段になりうると考えられた。

Table 5 The Predicted selection responses/generation in each trait and the number of generation to reach the selection goals by repeated selection based on the selection index

INDEX No.	PrePCV	Min PCV	DG	Number of generation
I	(1.82) ¹⁾	(-0.15)	0.09	1.31
II	(1.30)	0.56	0.02	5.95
III	0	5.4×10^{-4}	0.2×10^{-4}	6087.00
IV	(0.84)	0.36	0.01	9.14

1) Each figure in parenthesis represents correlated response.

された。また、PCVが減少している時期に、PLはPCVと最も緊密な相関関係を示し、PCVの回復期にも中程度の正の相関を示した。

今回の結果では、放牧期間中の*T. orientalis sergenti*感染した子牛におけるPCVの維持には

Table 6 The correlation coefficients between traits

	PCV	PL	NEFA	VE	IgG
PCV		0.69	0.00	-0.25	-0.29
PL	0.36		-0.02	0.06	-0.44
NEFA	0.00	0.15		-0.17	-0.03
VE	0.20	0.50	-0.05		0.10
IgG	-0.09	-0.19	-0.24	0.02	

above diagonal: Down Period (Day-8 to Day 56)

below diagonal: Recovery Period (Day 61 to Day 139)

Bold: significant correlation (P<0.05)

PL が最も重要な役割を果たしていることが示唆された。

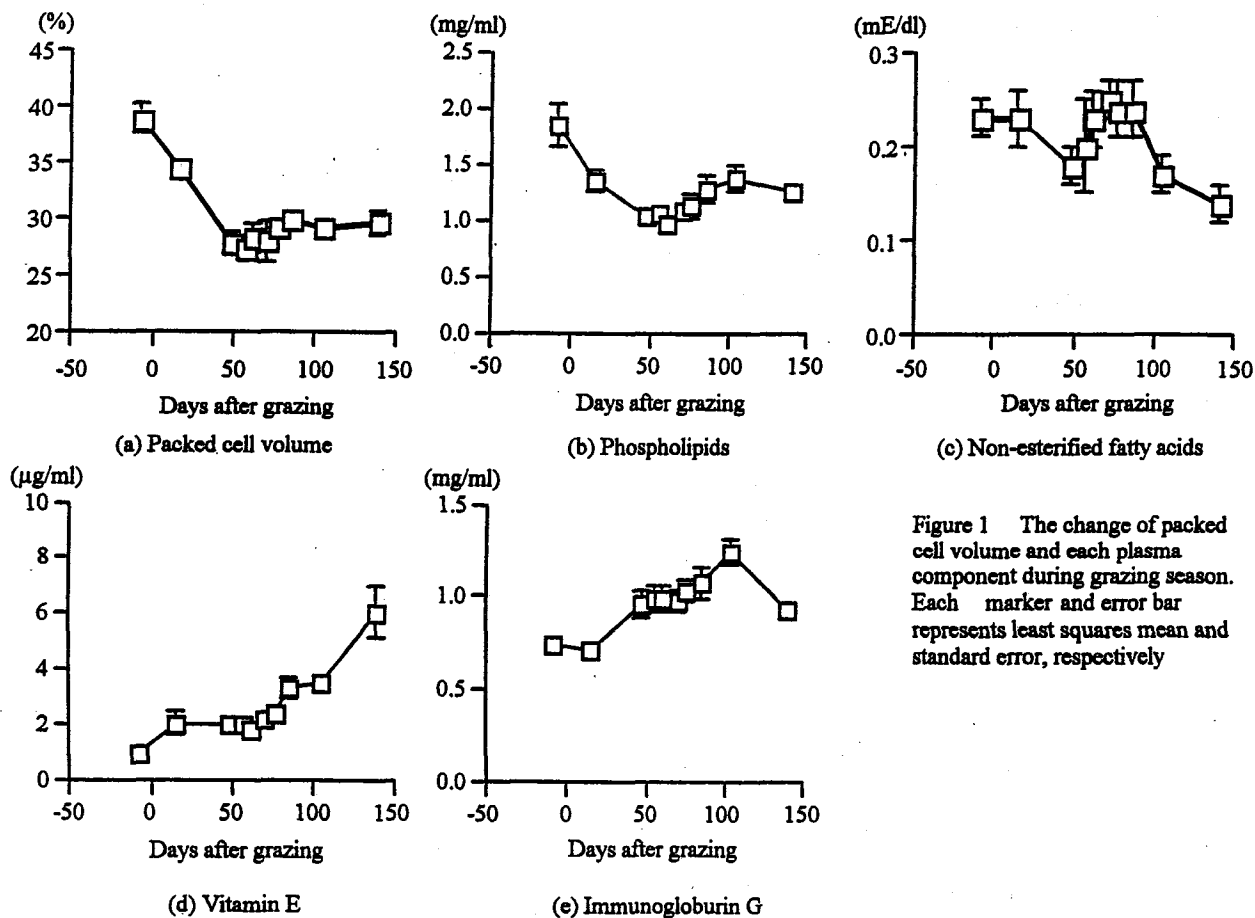


Figure 1 The change of packed cell volume and each plasma component during grazing season. Each marker and error bar represents least squares mean and standard error, respectively

第二節 複数の血漿脂質成分が貧血の進行に与える影響

本節では、第一節で貧血に関連が深いと考えられた血漿中脂質成分について(1) 貧血の進行、肝機能の低下および脂質代謝間の相互関係を明らかにし、(2)貧血抵抗性の遺伝的改良のための適切な生理指標について検討した。

13頭の黒毛和種子牛を供試した。PCV, 赤血球数(RBC), ヘモグロビン量(HGB), *T. orientalis sergenti* の末梢血中の寄生率(PARA)を測定した。血漿中脂質代謝成分としてトリグリセライド(TG), 総コレステロール(TC), HDL-コレステロール(HC), リン脂質(PL), コレステロール:リン脂質比(C/Pratio)を測定した。肝代謝能の指標として、血漿中のアルカリフォスファターゼ (ALP), GOT および GTP の濃度を測定した。貧血が極値

に達したと考えられた採血日までを減少期とし、その後を回復期とした。

血液性状と血漿中脂質成分濃度、血漿中肝酵素濃度との間の相関係数を表7から表9に示した。HDLに関連の深い脂質(TC, HC, PL)はPCVに対して両期間において同程度の正の相関を示した。また、肝関連酵素は減少期にGPTとHDLに関連の深い脂質との間に負の相関がみとめられ、PARAとの間に正の相関が認められた。また、GPTと血液性状との間に負の相関が認められた。しかし、減少期には全く逆の相関が認められた。HDLに関連の深い脂質は血液性状との間に常に正の相関が存在するのに対し、肝関連酵素では、一般に高い相関が存在するものの、減少期と回復期で

血液性状との相関の符号が逆転する。したがって、抗性の指標として適していることが考えられた。HDL に関連する TC, HC および PL が本病の抵

Table 7 Interrelationship among blood conditions and plasma lipid components

	Down Period				Recovery Period			
	PCV	RBC	HGB	PARA	PCV	RBC	HGB	PARA
PARA	-0.42	-0.50	-0.34		-0.22	-0.16	-0.27	
TG	0.06	0.08	0.04	-0.09	-0.05	-0.07	-0.06	0.68
TC	0.38	0.45	0.28	-0.20	0.27	0.32	0.32	-0.34
HC	0.22	0.27	0.17	-0.27	0.21	0.34	0.30	-0.11
PL	0.35	0.33	0.22	-0.06	0.22	0.32	0.33	-0.30
C/P ratio	0.20	0.13	0.11	-0.22	0.23	0.12	0.15	-0.17

Bold: significant correlation (P<0.05)

Table 8 Interrelationship among blood conditions and liver enzymes

	Down Period				Recovery Period			
	PCV	RBC	HGB	PARA	PCV	RBC	HGB	PARA
ALP	0.41	0.39	0.40	-0.16	-0.24	-0.08	-0.22	0.46
GOT	-0.10	-0.18	-0.05	0.45	0.29	0.35	0.47	-0.57
GPT	-0.37	-0.60	-0.29	0.52	0.28	0.19	0.42	-0.48

Bold: statistically significant correlation (P<0.05)

Table 9 Interrelationship among liver enzymes and plasma lipid components

	Down Period			Recovery Period		
	ALP	GOT	GPT	ALP	GOT	GPT
TG	0.37	0.09	-0.06	0.36	-0.31	-0.22
TC	0.05	-0.15	-0.21	0.03	0.30	0.15
HC	-0.13	-0.37	-0.34	-0.10	0.16	0.04
PL	-0.11	-0.28	-0.19	0.08	0.40	0.13
C/P ratio	0.17	0.14	-0.09	-0.13	-0.11	0.08

Bold: statistically significant correlation (P<0.05)

第四章 日本短角種子牛における貧血抵抗性改良のための生理的指標の遺伝的評価

本章では放牧期間中の PCV, 子牛の生産性および第三章で生理的指標としての有用性が示唆された PL および TC の遺伝的パラメータの推定を行い, 生理的指標の利用が貧血抵抗性の遺伝的改良に有用か検討した。多形質アニマルモデルの

制限付き最尤法を用いて(共)分散成分を推定した。推定した表型(共)分散および遺伝(共)分散を用いて, 以下の5つの選抜目標に基づいた希望改良量を実現するための選抜指数の作成を行った。

目標 1: DG のみの改良

Table 10 The characteristics of eight selection indices

INDEX No.	Selection criterion					Selection criterion				
	PrePCV	MinPCV	DG	PL	TC	PrePCV	MinPCV	DG	PL	TC
I	× ¹⁾	×	○	×	×	×	×	+0.12	×	×
II-A	○	○	○	×	×	×	+3.31	+0.12	×	×
II-B	○	○	○	○	○	×	+3.31	+0.12	×	×
III-A	○	○	○	×	×	0	+3.31	+0.12	×	×
III-B	○	○	○	○	○	0	+3.31	+0.12	×	×
IV-A	○	×	○	×	×	×	+3.31	+0.12	×	×
IV-B	○	×	○	○	○	×	+3.31	+0.12	×	×
V	○	×	×	○	○	0	+3.31	+0.12	×	×

1) ○ represents " included in selection index as criterion"

× represents " not included in selection index" or "not set up desired gain"

目標 2: 他の形質の相関反応に制限を加えない条件での最低血球容積(MinPCV)および DG の同時改良

目標 3: 放牧前血球容積(PrePCV)の相関反応を 0 とする条件下での MinPCV および DG の同時改良

目標 4: 選抜候補の子牛や血縁個体が自身の MinPCV の情報が無い条件下での MinPCV および DG の同時改良

目標 5: 放牧前に得られる情報のみでの MinPCV および DG の同時改良

選抜指標に(A) PrePCV, MinPCV および DG の 3 形質を用いた場合(B) (A)に加えて生理的指標を用いた場合, の 2 つについて検討した。各選抜指数式の詳細について表 10 にまとめた。

推定した 5 形質の遺伝的パラメータを表 11 に示し, 各選抜目標に従って作成した選抜指数式を

用いて, 毎世代の選抜差が選抜指数で 1 標準偏差となる選抜を加えると仮定した場合の 1 世代あたりの改良量と希望改良量を達成するまでに必要な世代数を表 12 に示した。

本研究で推定された PL および TC の遺伝率はそれぞれ中程度および低い値であった。選抜指数による選抜反応の予測から, PL および TC は PrePCV の上昇を抑えつつ, 効率的に貧血抵抗性と生産性を改良しうる有用な指標であることが示唆された(目標 2-A, 3-A および 4-A)。また, 生理的指標の利用によって, *T. orientalis sergenti* に感染する前もしくは感染することなしでの効率的な選抜が可能であることが示唆された(目標 5)。

Table 11 The genetic and phenotypic parameters of the five traits

	PrePCV	MinPCV	DG	PL	TC
PrePCV	0.52 ± 0.10	0.35 ± 0.21	0.77 ± 0.09	-0.17 ± 0.21	0.23 ± 0.35
MinPCV	-0.09	0.15 ± 0.07	-0.09 ± 0.17	0.87 ± 0.13	0.64 ± 0.23
DG	0.04	0.25	0.64 ± 0.06	0.23 ± 0.24	-0.33 ± 0.32
PL	0.07	-0.07	-0.09	0.31 ± 0.10	0.20 ± 0.39
TC	0.20	-0.14	-0.09	0.60	0.09 ± 0.05

diagonal: heritability ± S.E.

upper diagonal: genetic correlation ± S.E.

lower diagonal: phenotypic correlation

Table 12 The predicted selection response/ generation in each trait and the number of generation to reach the selection goal by repeated selection based on the selection index

Index No.	PrePCV	MinPCV	DG	PL	TC	Number of generation
I	(1.77) ¹⁾	(-0.09)	0.09	(2.53)	(-2.51)	1.34
II-A	(1.43)	0.65	0.02	(2.21)	(3.48)	5.09
II-B	(0.76)	0.92	0.03	(7.91)	(2.52)	3.61
III-A	0	0.13	0.00	(4.88)	(-0.24)	24.80
III-B	0	0.95	0.03	(9.16)	(-0.67)	3.48
IV-A	(0.99)	0.34	0.01	(-0.27)	(2.63)	9.88
IV-B	(-0.10)	0.67	0.02	(7.95)	(0.84)	4.96
V	0	0.66	0.02	(7.52)	(1.11)	4.98

1) Each figure in parenthesis represents correlated response.

第五章 品種間における小型ピロプラズマ症による貧血の進行の違い

本章では、日本短角種と黒毛和種の小型ピロプラズマ症感染後の血液性状および原虫寄生率の推移を調べ、肉用牛品種間における小型ピロプラズマ症抵抗性の品種間差について検討した。黒

毛和種3頭および日本短角種2頭、血液ドナー用の日本短角種1頭を供試した。感染血液接種により *T. orientalis sergenti* 感染を行い、その後の血液性状の変化を調べた。原虫感染にともなう PCV,

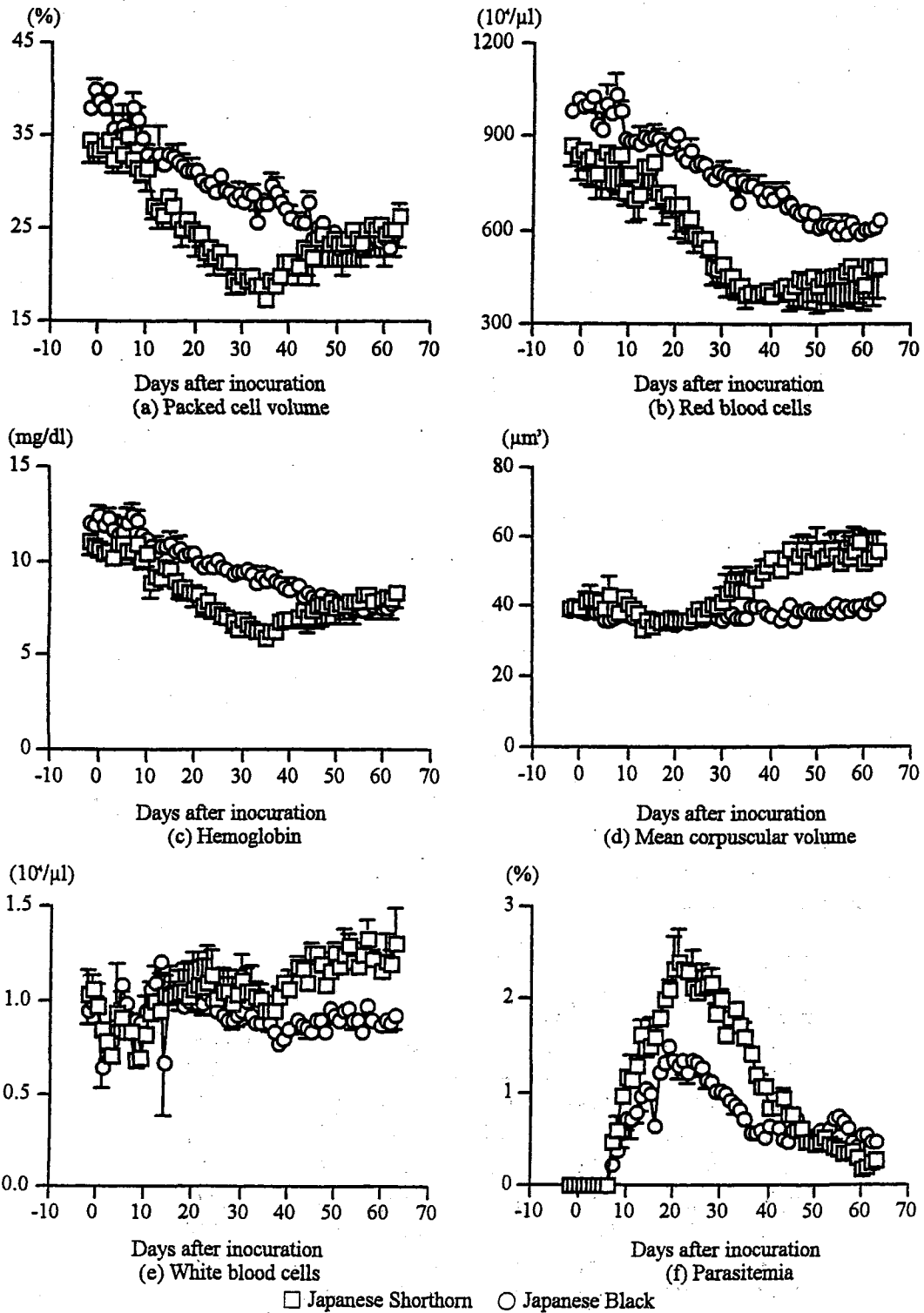


Figure 2 Changes in PCV, RVC, MCY, HGB, WBC, Para. Each marker and error bar represents mean and standard error, respectively

RBC, HGB, 平均血球容積(MCV), 白血球数(WBC) および PARA の推移を図2に示した。

日本短角種では一過的に貧血が黒毛和種よりも深刻になるものの、早く回復の兆しが見られた。

第六章 総合考察

これまで、「日本の草地に適した品種」の作出のために、交雑による抵抗性の向上に関する研究はあるが、選抜による貧血抵抗性の遺伝的改良については研究が全く行われておらず、本研究の成果は、貴重な試みであると考えられる。

本研究では第一に、放牧条件下での子牛の増体と小型ピロプラズマ症に対する治療回数に影響する要因についての推定を行ない、貧血を制御する能力が放牧地での子牛の増体に与える影響が大きいことを示した。次に、野外で測定される血球容積(PCV)のデータを用いて、放牧期間中の MinPCV と DG の同時改良が可能であることを示した。さらに効率的な改良のためには今後データを集積し、遺伝率および生産形質との遺伝的な関係をより正確に把握する必要があると考えられた。また、選抜による改良の問題点として(1)最低 PCV の遺伝率が低い、(2)放牧前 PCV の上昇による悪影響が懸念される、ことが挙げられた。

そこで第三章では、その問題点を克服しようとする貧血抵抗性の改良に有効な生理的指標の探索を行った。第一節では、測定した項目の中では PCV が減少している時期に、リン脂質濃度は PCV の推移に大きな影響を与えていることが示唆された。さらに第二節では、脂質代謝成分の中

しかし、黒毛和種では試験期間内に回復の兆しは認められず、両品種における発症および回復のパターンに違いがあることが示された。

でも総コレステロールやリン脂質濃度など高密度リポタンパク質(HDL)に関連する脂質が PCV の推移に影響し、貧血抵抗性の評価のための指標として適していることを示唆した。

第四章では、放牧前の血漿中リン脂質濃度およびコレステロール濃度を生理的指標として用いた場合に、遺伝的改良の効率がどの程度変化するかについて検討した。その結果、生理的指標の利用により選抜の効率は大幅に上昇し、改良にともなう望ましくない相関反応も抑制されることが示された。今後測定の時期や条件についての検討を行ない、より正確な遺伝的関連を調査する必要がある。さらに、この結果についても、今後データを集積し、より正確に形質間の遺伝的関係を推定する必要があると考えられた。

本研究で供試した頭数は、遺伝的パラメータを推定するには必ずしも十分な頭数とは言えないが、選抜による小型ピロプラズマ症抵抗性の改良の可能性について示すことができた点は重要である。さらに、生理的指標を用いることで、個体に小型ピロプラズマ症の感染が無くとも、遺伝的抵抗性をある程度の正確性を持って予測できる可能性を示したことは、管理面からも有用であると考えられる。

論文審査結果要旨

小型ピロプラズマ病は特に初放牧の子牛に多発する原虫性貧血疾患である。小型ピロプラズマ病発病の季節性は媒介ダニの発生活長によく一致し、多発時期は入牧後1～2ヶ月の6、7月に集中している。本病の発生率はここ数年わが国の放牧病のなかで第1位を占め、予防や治療のために費やされる経費や労力は莫大で、経済的損耗は100億円に達するという試算もあり、生産者が放牧をひかえる大きな原因となっている。本病による損耗を減らすには、短期的には投薬などの外的な方法が有効であるが、長期的には個体の持つ抵抗性を遺伝的に向上させる方法を組み合わせることで、より有効な予防が可能になると考えられる。

そこで、本研究では、特に小型ピロプラズマ病による貧血に焦点を当て、貧血に対する抵抗性を育種的方法によって高めるために必要な知見を得ることを目的とした。

まず、現在利用しうるデータを用いて、小型ピロプラズマ症抵抗性をどのように評価するか検討し、抗病性の評価には血球容積を用いることが適当であることを示した。さらに抵抗性と生産形質の遺伝的関係について推定して、選抜による改良の可能性について検討した結果、日増体量のみの改良では、集団の貧血抵抗性は低下することが示された。選抜指数式を用いることで、生産性と抗病性の同時改良は可能であるが、遺伝率が低いため選抜の効率が劣ること、不適切な相関反応が引き起こされること、といった問題点が示された。

その指標として、いくつかの血漿中の代謝成分を測定し、貧血に与える影響を評価した。その結果、血漿中のリン脂質濃度が小型ピロプラズマ症の貧血に対して最も大きな影響を与えていることが示唆された。さらに放牧飼養下での血漿中の脂質の動態に着目し、高密度リポタンパク質（HDL）に関連する脂質（総コレステロール、リン脂質濃度）の推移が貧血の進行に大きな影響を与えていることを明らかにした。

HDLに関連する血漿中の脂質濃度を遺伝的改良の指標として用いた場合の効率を検討した結果、それらの指標を用いた場合、抵抗性の改良効率は大幅に上昇する可能性が示唆された。選抜のシミュレーションの結果からもHDLに関連する血漿中の脂質濃度が選抜指標として有効であることが示唆された。

さらに、黒毛和種及び日本短角種を用いて、小型ピロプラズマ病感染の発病パターンの差を比較した。その結果、日本短角種は、一時的に貧血が極度に進行するものの、その後すみやかな回復を示した。一方黒毛和種は日本短角種よりも貧血の進行は緩やかなものの、病状は慢性化の傾向を示した。

以上のことから、選抜による小型ピロプラズマ病に対する抗病性改良の可能性について示すことができた点は重要である。さらに、生理的指標を用いることで個体に小型ピロプラズマ病の感染が無くとも、遺伝的抵抗性をある程度の正確度を持って予測できる可能性を示したことは、抵抗性の高い個体のみの放牧や、抵抗性の弱い個体に対する衛生管理の質を高めるなどの管理の面からも有用であると考えられる。よって審査員一同は、本論文は博士（農学）の学位を授与するに値すると判定した。