

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2013～2015

課題番号：25304038

研究課題名(和文) カザフスタンの在来家畜とその近縁野生種の遺伝資源学的研究および放射線影響評価

研究課題名(英文) Genetical studies on native animals and their wild relative animals in Kazakhstan

## 研究代表者

西堀 正英 (NISHIBORI, MASAHIDE)

広島大学・生物圏科学研究科・准教授

研究者番号：80237718

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、カザフスタンの在来家畜(ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ)、近縁野生種(サイガ)の遺伝学的位置、遺伝的類縁関係ならびに家畜伝播経路を、アジア全域を対象に在来家畜の一連の遺伝学的研究として解析するものである。本研究の目的は、ヨーロッパ、西アジアから東アジアへの交易(シルクロード)拠点である中央アジア・カザフスタンにおける在来家畜とその近縁野生種について遺伝資源学的に調査を行い、貴重な動物資源そのものの詳細を明らかにすることである。この研究成果を今後の生物資源の保存と保全策の策定ならびに利活用に有効に活かすことにも大きな意義がある。

研究成果の概要(英文)：In this research project, genetic studies were carried on about the analysis for native animals (cattle, horse, sheep and goat) and its wild relative animal (Saiga) to reveal the genetic positions, relationships and gene flow in Asia, especially in Central Asia and Kazakhstan which were a trade (on the silk road) to East Asia from Europe and West Asia, and were to reveal its own details. There was also important significance to utilize these results for future's preservation and utilization effectively of animal resources in Kazakhstan.

研究分野：動物遺伝学

キーワード：カザフスタン 在来家畜 遺伝資源 DNA 外部形態 サイガ 家畜の近縁野生種 保護・保全

1. 研究開始当初の背景

本研究は、カザフスタンの在来家畜および近縁野生種の遺伝学的位置付けならびに遺伝的類縁関係ならびに家畜伝播経路を、アジア全域を対象にこれまで約50年間実施してきた在来家畜研究の一連の流れの中で解析しようとするものである。現在、アジアの在来家畜・家禽を系統的かつ連続して研究しているグループは本申請メンバー全員が所属する在来家畜研究会以外にはない。在来家畜研究会は、これまで中国、ベトナム、モンゴル、ラオス、ミャンマー、カンボジア、ブータン、バングラデシュ等多くのアジアの国々の学術調査を行い、2009年9月にこれまでの集大成として【アジアの在来家畜「家畜の起源と系統史」名古屋大学出版会】を刊行した。

本研究はこれまで東南アジア、南アジアにおける在来家畜・家禽の学術調査・研究を中央アジアに拡大させたアジア全土の調査を実施するために企画、立案した。カザフスタン共和国は旧ソビエト連邦から1991年12月16日に独立し、100以上の民族を有し、世界第9位の面積を有する国家である。その26%はステップ地帯で、南東部は天山山脈などの山岳地帯、南西部は砂漠地帯の内陸国で、冷涼乾燥の気候である。このような条件等から、ヤギやヒツジの祖先種あるいは近縁野生種の生息の報告があり、調査結果が期待されているが調査研究は遅れているのが現状である。一方、カザフスタンを中心とする中央アジアはシルクロード(北路)にあたり、この経路における遺伝学的解析は家畜の伝播あるいは移動の解明に繋がる。

カザフスタンの在来家畜・家禽およびその近縁野生種に関する遺伝資源学的情報は極めて不足している。一方で、カザフスタンの近代化および都市化により、多くの在来家畜とその近縁野生種が絶滅の危機に瀕している。多くのアジア諸国において在来家畜・家禽と近縁野生種とが雑種化し、さらに野生種が絶滅の危機に瀕している状況とカザフスタンも同様であると考えられ、カザフスタンの在来家畜・家禽の遺伝資源学的学術調査研究の実施は急務であるといえる。そこで、本研究ではこれまで動物遺伝資源学や応用動物科学等を専門として海外学術調査の経験を豊富に有し、実績を培ってきた研究グループ(在来家畜研究会)によりカザフスタンにおける在来家畜・家禽および近縁野生種の遺伝資源学的研究を実施するとともに、それらの保全と活用の施策の基礎を構築することを目的として実施した。これらに関する学術研究は早急に実施する必要がある、急務である。

一方、2010年5月24日にカザフスタン農業省はウシ科ヤギ亜科のサイガ(Saiga antelope: 絶滅危惧種)約2000頭が突然死ぬ事故(事件)が起こったと報告した。こ

のため、カザフスタンを主たる生息地とする野生動物の保護が急務であり、サイガについてまず調査を開始しなければならない(2011年にカザフスタン農務省動物研究所と広島大学間で共同研究協定を結んだ)。また、カザフスタンでは「**セミパラチンスク核実験被害**」について、広島大学原爆放射線医科学研究所を中心にその影響調査が実施されている。この放射線の影響は、人のみならず家畜にも影響を及ぼしている可能性が考えられている。本研究を遂行する中で、**セミパラチンスク核実験の家畜・家禽への影響(負の遺産)**についての基礎的な調査の可能性を模索しながら取り組む。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ヨーロッパ、西アジアから東アジアへの交易(シルクロード)拠点である中央アジアの国カザフスタンにおける在来家畜・家禽および野生種について遺伝資源学的に調査を行い、貴重な動物資源そのものの詳細を明らかにし、遺伝的多様性やこれまでに調査した集団との遺伝的類縁関係を明らかにした。この研究成果を今後の生物資源の保存と保全策の策定ならびに利活用に有効に活かすことにも大きな意義がある。さらにカザフスタンでの環境問題となっている**セミパラチンスク核実験の家畜への影響の基礎的調査**について取り組むことも目的とした。

3. 研究の方法

調査研究対象国はカザフスタン共和国であり、特徴的な地形および農業形態を有する3地域について調査研究を行った。

- 1) **首都アスタナ近郊の草原地域**, ...2013年(Astana, North Kazakhstan)
- 2) **南部と旧首都アルマトィの山岳地域**, ...2014年(Almaty, Symkent etc)
- 3) **西部の高原地域及び首都アスタナ近郊**...2015年(Aktau, Atrau, West Kazakhstan)に分け、図1に示した地域で調査研究を実施した。

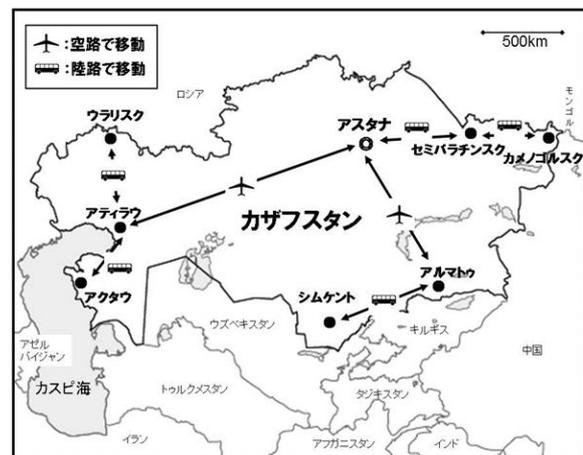


図1. カザフスタンの調査地

## 調査の概要

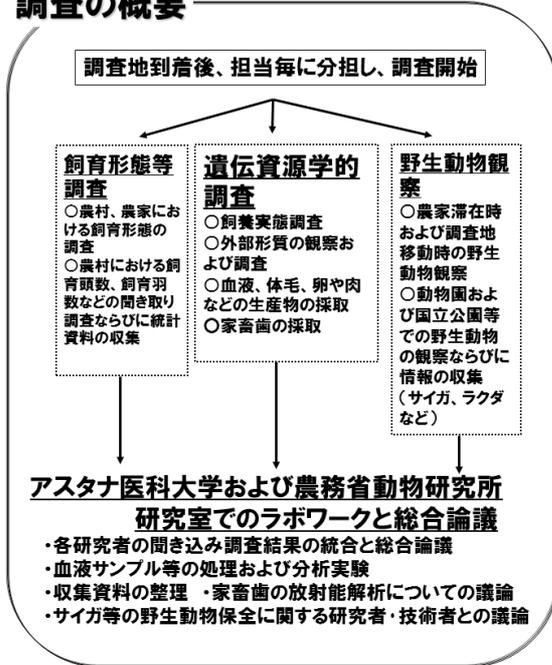


図2. 調査概要

調査は、家畜の飼育形態等の調査、遺伝資源学的調査ならびに野生動物観察調査の3部門からなり、主に家畜統計資料の収集、家畜の外部形態の観察および計測、血液サンプルなどの収集を行った。これらをこれまで在来家畜研究会で調査を行ってきた南アジア、東南アジアおよび東アジア諸国のデータと比較し、その違いあるいは相同なものを調べ、その違いあるいは同じものの原因を究明する。

### 平成25年度

#### 1) 旧首都近郊草原地域の調査を実施する。

調査期間は、気温が-40にもなる冬期を避け、また研究分担者の職務への影響をできるかぎり少なくするため、2013年9月の1ヶ月間とした。

#### 研究計画および調査方法

(1) 調査対象動物として、牛、綿羊、山羊、豚、鶏等の在来家畜に加えて、野生原種あるいは近縁野生種であるイノシシ、野生ウズラ、サイガについても対象とした。

(2) 調査は聞き取り調査、質的形質の観察記載、量的形質の測定、血液・組織等の試料採取、遺伝生化学・分子遺伝学的分析及び集団遺伝学的解析により実施した。

(3) 形態形質調査としては、毛色、羽装等の外貌上の特徴記載、写真撮影、体型測尺、体重測定を行った。

(4) 遺伝生化学的・分子遺伝学的調査としては、血液試料の分離、血中蛋白・酵素の電気泳動法(設備備品に電気泳動用電源及び電気泳動槽冷却のための水流ポンプを計上)による分析及びDNA粗抽出を行っ

た。各動物のDNA試料は帰国後各研究分担者の研究室にて詳細な分析を行う。

(5) 調査記録、実験データの統計的解析は帰国後に行う。

(6) 各研究分担者により分析、収集されたデータは総合的に評価され、カザフスタン動物資源の保全施策の策定に資する

### 平成26~27年度

平成26年度は、2)西部の高原地域及び首都(アスタナ)近郊、平成27年度は、3)東部および南部の山岳地域について調査を実施し、調査時期や期間については平成25年度の調査に準じ、図2に示したような計画で実施した。

#### - 1 調査研究実施国と調査国カウンターパート

カウンターパートはアスタナ医科大学のカズンベット教授(元学長)である。アスタナ医科大学と広島大学は2009年11月6日(金)に大学間国際交流協定を締結した。このため本研究の推進に広島大学平和科学研究センター・星正治教授を連携研究者として参画を得た。

#### - 2 地域及び旅行経路

調査地域および旅行経路は図1に示すとおりである。日本からは韓国(インチョン)を経由してアルマトゥからカザフスタンに入国し、首都アスタナに空路で向かった。

国内の移動は、面積が世界第9位(日本の7.5倍)もあることから空路を主として利用し、近隣地域は、車(自動車借上げ経費を申請)あるいは鉄道を利用した。

#### 研究体制

研究計画を遂行するための研究体制と具体的役割は図3のとおりである。

### 研究体制と担当(役割)

研究代表者	西堀正英 : カウンターパートとの交渉、調査の総括、サイガ等の野生動物遺伝資源学的調査・解析、家畜歯からの放射能解析
研究分担者	山本義雄 : 在来鶏、野生ウズラの血液採取、外観調査ならびに飼養実態調査、遺伝子解析。 万年英之 : 牛、山羊およびその近縁野生種の血液採取、外観調査ならびに飼養実態調査、遺伝子解析。 国枝哲夫 : 馬の血液採取、外観調査ならびに飼養実態調査、遺伝子解析。 黒澤弥悦 : 豚およびイノシシの血液採取、外観調査ならびに飼養実態調査。 野村こう : 牛、豚の血液採取、外観調査ならびに飼養実態調査、遺伝子解析。 高橋幸水 : 牛、山羊の血液採取、外観調査ならびに飼養実態調査、遺伝子解析。 角田健司 : 綿羊の血液採取、外観調査ならびに飼養実態調査。 山縣高宏 : 綿羊、野生マウス、スンクス等の血液採取、外観調査ならびに飼養あるいは分布実態調査
連携研究者	星 正治 : 家畜歯の放射線量解析の検討、カザフスタン調査の国内アドバイザー
海外共同研究者	Dr. Polat Kazymbet : カザフスタンにける調査のコーディネーター、家畜歯(アスタナ医科大学教授・元学長)における放射線量の検討の担当。 Dr. Aibyn A. Torekhanov : 在来家畜および野生原種の生息実態の情報(KazAgroナショナルホールディングス 収集、データベース作成、調査地技術革新センター・センター長)案内と調査交渉等担当。
研究協力者	大西諒貴(広島大学・大学院生物園科学研究科・博士課程前期課程1年)は研究協力者として平成25年度から平成26年度の調査期間中、主にアスタナ医科大学放射線生物学研究室および農務省動物研究所で遺伝子分析作業を行う。

図3. 研究体制と役割

研究分担者 8 名および連携研究者 1 名は本研究開始以前にすでにカザフスタンを訪問した経験を有し、海外共同研究者と研究推進会議を平成 22 年 8 月および平成 23 年 9 月に行った(広島大学大学院生物圏科学研究科・研究科長裁量経費・国際共同研究および在来家畜研究会調査研究費より助成)。このためカザフスタンの地理および風土についての経験を有し、この経験をすぐに本調査に活かして実施できた。

#### 4. 研究成果

Kazakhstan における現地在来家畜調査は、2013 年、2014 年および 2015 年に実施した。

2013 年は、9 月 5 日から 20 日に Kazakhstan, North Kazakhstan province, Kostanay province, および Akmola province の家畜およびその近縁野生種について飼育頭数、飼育状況、血液あるいは生体試料のサンプリングを、西堀・山本・大西(広島大学)、万年(神戸大学)、国枝(岡山大学)、野村・高橋(東京農業大学)、角田(昭和大学)およびアスタナ医科大学・Prof. Kazymbet, Dr. Meirat を中心とするスタッフを中心に実施した。2013 年度収集したサンプルは、ウシ 50 頭、ヤギ 26 頭、ヒツジ 62 頭、ウマ 58 頭分であった。カザフスタン在来鶏の外部形質(7 座位)の Petropavlovsk と Astana 近郊の結果から言えることは、「アスタナ周辺 (Zhalta 村) 在来鶏は野生型の羽色(e+)と黄脚の個体が Petropavlovsk に比べて多く認められた」。ウマは計 54 個体の血液を採取し、DNA として日本に持ち帰った。ウマの DNA サンプルには、22 個体のコスタナイ種、19 個体のジャベイ種のカザフスタン固有のウマのサンプルが含まれている。カザフスタン在来馬の DNA を用いてミトコンドリア DNA の D-loop 領域の塩基配列の解析を行った。その結果、コスタナイ種の集団には少なくとも 6 種の、ジャベイ種の集団には少なくとも 7 種のハプロタイプが存在することが明らかとなった。これらの中には、これまでにウマにおいて報告されているハプロタイプと異なるハプロタイプもあり、カザフスタン在来馬の遺伝的特性を考える上で重要なデータと考えられた。

ヒツジは 3 種類の地方羊種が確認され、そのうちの 2 種類のエディルバイ羊とアライスキ羊について、4 種の血液タンパク・非タンパク型座位をマーカーに遺伝的違いを検討した。タンパク型の判定はデンブングル電気泳動法、非タンパク型のカリウム輸送型はイオン測定法によった。その結果、エディルバイ羊、アライスキ羊および雑種において 4 種の血液タンパク・非タンパク型を判定、その遺伝子頻度を纏めたものである。ここでは特にアリルエステラーゼ、X-プロテインおよびカリウム輸送システムの座位においてエディルバイ羊とアライスキ羊の間で遺伝子頻度の差が目立ってみられた。したがって、形態学的には同じ脂髯羊系に属するが、両羊種は遺伝的

違いのあることが十分に示唆された。

2014 年は、9 月 8 日から 30 日に Kazakhstan, West Kazakhstan, Almaty, Taraz, Shymkent および Akmola province の家畜およびその近縁野生種について飼育頭数、飼育状況、血液あるいは生体試料のサンプリングを中心に実施した。2014 年度収集したサンプルはサイガ 15 頭、ウシ 25 頭、ヤギ 40 頭、ヒツジ 55 頭、ウマ 33 頭分であった。ニワトリは形態のみの観察を 13 羽について実施し、外部形質(7 座位)から「在来鶏は野生型の羽色(e+)と黄脚の個体が多く認められた」。とりわけ、サイガについて西カザフスタン(西カザフスタン大学)で 8 頭収集し、加えて農務省オタ研究所から 7 頭を入手した。サンプルの収集のみならず、サイガの飼育繁殖研究についても調査し、カザフスタンにおける絶滅危惧動物の保護保全の現状を明らかにできた。

2015 年 9 月 1 日から 27 日に Kazakhstan, Aktobe, Aktau および Astana province の家畜について得られたサンプルはウシ 36 頭、ヤギ 61 頭、ヒツジ 58 頭、ウマ 20 頭分であった。これらのうち血液サンプルから簡易 DNA 抽出法でゲノム DNA を全て抽出した。ゲノム DNA は日本への輸送許可を得、日本に輸入し 2016 年に研究分担者が解析を行う。一方、ヒツジについてはアスタナ医科大学で血液タンパク質のアイソザイム多型のタイピングを 58 頭について実施した。さらにカザフスタンにおける在来家畜の飼育頭数、使用状況等についても日本国内で解析し、それらを在来家畜研究会報告第 28 号に報告予定である。

サイガ 15 頭のミトゲノム解析を行った。これまで報告されているカザフスタンとモンゴルのサイガにはほとんど多型がなく多様性が低いことが報告されている。しかし今回解析した 15 頭は非常に多くの多型が認められ、これらの集団を今後のサイガ保全のための基礎集団に設定することは非常に望ましいものと考えられた。

2015 年は、9 月 1 日から 27 日に Kazakhstan, Aktobe, Aktau および Astana province の家畜について得られたサンプルはウシ 36 頭、ヤギ 61 頭、ヒツジ 58 頭、ウマ 20 頭分であった。これらのうち血液サンプルから簡易 DNA 抽出法でゲノム DNA を全て抽出した。ゲノム DNA は日本への輸送許可を得、日本に輸入し 2016 年に研究分担者が解析を行う。一方、ヒツジについてはアスタナ医科大学で血液タンパク質のアイソザイム多型のタイピングを 58 頭について実施した。さらにカザフスタンにおける在来家畜の飼育頭数、使用状況等についても日本国内で解析し、それらを在来家畜研究会報告第 28 号に報告予定である。

サイガ 15 頭のミトゲノム解析を行った。これまで報告されているカザフスタンとモンゴルのサイガにはほとんど多型がなく多様性が低いことが報告されている。しかし今回解析した 15 頭は非常に多くの多型が認められ、これらの集団を今後のサイガ保全のための基礎集団に設定するこ

とは非常に望ましいものと考えられた。

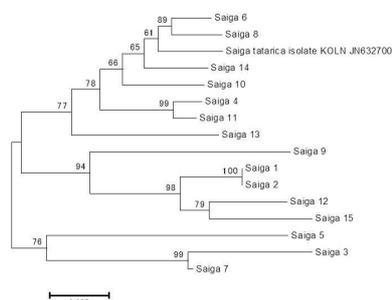


Fig. 4. Neighbor-joining (NJ) tree generated by MEGA 6 among 15 saiga animals in Kazakhstan Based on complete D-loop sequence. *Saiga tatarica* (accession No. JN632700) used as reference sequence. Bootstrap values from 1000 replicates are shown when they exceed 50%. All insertion deleted.

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計1件)

1. 西堀正英、「Kazakhstan 在来家畜とその近縁野生種の遺伝学的調査」. 2015 年度日本動物遺伝育種学会・在来家畜研究会合同シンポジウム, 2016 年 3 月 27 日, 日本獣医生命科学大学, 武蔵野市.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.rcas.hiroshima-u.ac.jp/index.html>

「日本型(発)畜産・酪農技術開発センター」(吉村幸則センター長(大学院生物圏科学研究科教授))では、「安全で高い生産機能を発揮する先進畜産技術開発の教育研究」を目的とし、国内外の研究ネットワークを形成しながら、最新の基礎研究を活かしたイノベーションにより畜産・酪農を新産業化し、食料増産を介して世界(特にアジア地域)に貢献することを目指しています。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

西堀 正英 (NISHIBORI Masahide)

広島大学大学院生物圏科学研究科・准教授

研究者番号：80237718

### (2) 研究分担者

万年 英之 (MANNEN Hideyuki)

神戸大学大学院農学研究科・教授

研究者番号：20263395

国枝 哲夫 (KUNIEDA Tetsuo)

岡山大学大学院環境生命科学研究科・教授  
研究者番号：80178011

山本 義雄 (YAMAMOTO Yoshio)

広島大学大学院生物圏科学研究科・名誉教授

研究者番号：10032103

黒澤 弥悦 (KUROSAWA Yaetsu)

東京農業大学教職・学術情報課程・教授

研究者番号：40600747

野村 こう (NOMURA Ko)

東京農業大学農学部・准教授

研究者番号：60277241

高橋 幸水 (TAKAHASHI Yukimizu)

東京農業大学農学部・助教

研究者番号：50408663

角田 健司 (TSUNODA Kenji)

昭和大学医学部・名誉教授

研究者番号：40095906

(平成27年度は連携研究者)

山縣 高宏 (YAMAGATA Takahiro)

名古屋大学大学院生命農学研究科・助教

研究者番号：50242847

### (3) 連携研究者

星 正治 (HOSHI Masaharu)

広島大学平和科学研究センター・名誉教授

研究者番号：50099090