

マイクロサテライト DNA 多型情報にもとづく 日本鶏, 特に地鶏, 小国およびその近縁品種の 遺伝的多様性と集団構造

岡 孝夫*・高橋幸水**・野村こう**・花田博文**・天野 卓***・秋篠宮文仁****

(平成 22 年 8 月 5 日受付/平成 22 年 10 月 22 日受理)

要約: 地鶏や小国およびその近縁品種において, 品種内に生じた遺伝的差異に関する研究は少ない。本研究はマイクロサテライト DNA 多型情報を用いて地鶏, 小国およびその近縁品種の遺伝的多様性および集団構造につき分析を行なった。供試鶏として 7 品種 (会津地鶏, 岐阜地鶏, 土佐地鶏, 小国, 尾長鶏, 東天紅, 唐丸) 136 羽を用い, マイクロサテライト 28 座位の分析を行なった。その結果, 小国系品種 (小国, 尾長鶏, 東天紅) は地鶏や唐丸と比べて高い遺伝的多様性を示した。また, 同じ長鳴鶏でも東天紅の遺伝的多様性は高く, 唐丸は低い多様性を示した。地鶏は会津地鶏を除き, 小国系品種よりも低い多様性を示した。一方, 小国系品種はヘテロ接合体率の観察値と期待値の差が大きく, 有意な正の F_{IS} 値が得られた。これは, 各品種の採取地間で近親交配による遺伝的差異が生じているためと考えられた。各品種間のペアワイズ F_{ST} は有意な値を示した。 D_A および D_{AS} 系統樹において, 小国, 尾長鶏, 東天紅の 3 品種は 1 つのクラスターを形成した。一方, 地鶏 3 品種および唐丸は両系統樹で各品種が明確に分かれる結果となった。Structure 解析も D_{AS} 系統樹の樹形を支持するものであり, 小国, 尾長鶏, 東天紅は採取地間で遺伝的差異が生じていることが明らかとなった。

キーワード: 遺伝資源, 遺伝的多様性, 地鶏, 小国, マイクロサテライト DNA 多型

1. はじめに

現在, 日本鶏の多くは地鶏, 小国, 軍鶏の 3 品種から成立たとされている¹⁾。軍鶏は闘鶏用のみならず, 肉用品種や観賞用品種など, 多岐にわたる品種の作出に用いられている。岡ら²⁾はそれらの品種について遺伝的多様性およびその集団構造の解析を行ない, 品種内における内種や採取地間の遺伝的差異を示した。一方, 地鶏はその品種名に地名を冠するものが多く (岐阜地鶏, 土佐地鶏, 三重地鶏など), 地域の銘柄鶏の作出に用いられているが, 軍鶏のような全国規模の飼育は行なわれていない。小国は長尾性と長鳴性を合わせ持つ品種であり, その派生品種も羽色などに厳密な基準が設けられている観賞用品種が多い。それらのことから地鶏, 小国およびその近縁品種は, 軍鶏やその近縁品種と比較して遺伝的多様性が低下しやすくなると考えられ, その保全を行なうためには多様性の現状や集団構造を明らかにする必要がある。

日本鶏, 特に地鶏, 小国およびその近縁品種の遺伝的多様性や類縁関係についてはこれまでも血液タンパク多型やミトコンドリア (mt) DNA 多型, マイクロサテライト

DNA 多型を用いた研究が行なわれている。田名部・水谷³⁾は血液型と血液タンパク多型から小国およびその派生品種である尾長鶏と東天紅の遺伝的類縁関係について, 尾長鶏は東天紅と近縁である一方, 小国とは遠縁であることを示した。KOMIYAMA *et al.*⁴⁾は長鳴鶏を含む日本鶏の mtDNA D-loop 領域の解析を行ない, 小国や長鳴鶏 3 品種が沖縄の軍鶏に次ぐ古い系統であり, 多くの日本鶏品種と遺伝的背景を共有しているとした。一方, これらの説は古文献や尾羽の形状にもとづく従来説¹⁾とは大きく異なるものである。このようなことから, 小国とその近縁品種間および他の日本鶏品種間の遺伝的類縁関係は今後精査する必要がある。OSMAN *et al.*⁵⁾はマイクロサテライト 20 座位を, TADANO *et al.*⁶⁾は 40 座位を用いて主に小国やその派生品種を含む日本鶏の遺伝的多様性と類縁関係について分析を行なった。しかしながら, これらの研究は主に品種間の遺伝的類縁関係に言及するものであり, 品種内に生じた遺伝的差異については TADANO *et al.*^{7,8)}が名古屋種と尾長鶏について報告しているのみである。そこで本研究ではマイクロサテライト DNA 多型情報から地鶏, 小国およびその近縁品種を中心とした日本鶏品種間の遺伝的類縁関係および品種内

* 元東京農業大学農学部バイオセラピー学科

** 東京農業大学農学部畜産学科

*** 東京農業大学名誉教授

**** 東京農業大学客員教授

に生じた遺伝的差異を明らかにすることを目的とした。

2. 材料および方法

(1) 供試鶏

会津地鶏 20 羽, 岐阜地鶏 32 羽, 土佐地鶏 14 羽, 小国 15 羽, 尾長鶏 12 羽, 東天紅 13 羽, 唐丸 30 羽, 計 7 品種 136 羽を用いた (表 1)。各採取地からの供試羽数が少ないため, 小国, 尾長鶏, 東天紅はそれぞれ 3 地域集団を同一集団として解析を行なった。マイクロサテライトマーカーは ISAG/FAO が推奨する 30 座位²⁾を用いた。DNA 抽出, PCR およびフラグメント解析は岡ら²⁾と同様に行なった。

(2) データ解析

遺伝的多様性を評価するため, 各集団で総対立遺伝子数 (TNA), 平均対立遺伝子数 (MNA), 対立遺伝子数をサンプル数で補正した Allelic Richness (AR), ヘテロ接合体率の観察値 (H_O) と期待値 (H_E) および近交係数 F_{IS} を算出した。集団内および集団間の近親交配の程度は WEIR and COCKERHAM の F 統計量¹⁰⁾ にて求めた。TNA, MNA, H_O および H_E は Microsatellite Toolkit¹¹⁾ にて, AR, 近交係数 F_{IS} および F 統計量は FSTAT 2.9.3 プログラム¹²⁾ にて算出した。集団間の遺伝的分化の程度はペアワイズ F_{ST} , 集団間および個体間の遺伝的距離は D_A ¹³⁾ と D_{AS} ¹⁴⁾ を求め, 近隣結合法¹⁵⁾ にて系統樹を作成した。ペアワイズ F_{ST} の算出には FSTAT 2.9.3 プログラム, 遺伝距離 D_A の算出は DISPAN プログラム¹⁶⁾, 遺伝距離 D_{AS} の算出は Microsatellite Toolkit¹¹⁾, 系統樹の作成には PHYLIP 3.5 パッケージ¹⁷⁾ の NEIGHBOR プログラムを用いた。

さらに分集団数 K を仮定したベイジアンクラスタリング解析¹⁸⁾ を行ない, 各個体の遺伝子型から最適な分集団数と個体が各分集団に属する確率を求めた。本研究では $K=2\sim 7$ を仮定し, 各 K について 40000 回の burnin の後, 60000 回のマルコフ連鎖モンテカルロシミュレーションを独立に 20 回試行し, 分集団数 K を仮定した時の個体の遺伝子型が生じる対数尤度 $\ln Pr(X|K)$ を算出した。次に連続する K 間の対数尤度の変化率 ΔK ¹⁹⁾ を求めた。解析には Structure 2.3 プログラム¹⁸⁾ を用い, 祖先モデルは admixture model, 対立遺伝子頻度モデルは correlated allele

表 1 本研究で用いた供試鶏 7 品種

品種	略号	羽数	採取地(内数)
会津地鶏	AIZ	20	福島県
岐阜地鶏	GIF	32	東京農業大学家畜繁殖学研究室
土佐地鶏	TSJ	14	高知県
小国	SHO	15	茨城県(5), 進化研(6), 富士農場(4)
尾長鶏	ONA	12	高知県(3), 茨城県(5), 富士農場(4)
東天紅	TTK	13	高知県(3), 茨城県(5), 富士農場(5)
唐丸	TOM	30	新潟県

福島県: 福島県農業総合センター畜産研究所, 高知県: 高知県畜産試験場, 茨城県: 茨城県畜産センター養鶏研究室, 進化研: 進化生物学研究所, 富士農場: 東京農業大学富士農場, 新潟県: 新潟県農業総合研究所畜産研究センター。

frequencies model を用いた。また, 独立試行間の結果の類似性は CLUMPP 1.1.2 プログラム²⁰⁾ を用いて算出し, 解析結果の図示には Distruct 1.1 プログラム²¹⁾ を用いた。

3. 結 果

(1) 日本鶏品種間の遺伝的多様性の比較

多くの個体で増幅が認められなかった *MCW0284* 座位と非特異的増幅が多く認められた *LEI0192* 座位を除く 28 座位のデータを用い, 解析を行なった。28 座位で 134 個の対立遺伝子が認められたものの, 岐阜地鶏と土佐地鶏は 6 座位で, *MCW0098* 座位は全 7 品種で多型が認められなかった。各品種で算出した対立遺伝子レベルの遺伝的多様性の尺度を表 2 に示した。TNA, MNA, AR いずれの値も小国系 3 品種 (小国, 尾長鶏, 東天紅) は地鶏 3 品種 (会津地鶏, 岐阜地鶏, 土佐地鶏) や唐丸よりも高い値を示す傾向がみられた。特に東天紅は AR において土佐地鶏, 岐阜地鶏, 唐丸の 3 品種より有意に高い値を示した ($P < 0.01$, Kruskal-Wallis 検定)。

遺伝子頻度から算出した各品種の H_O , H_E および F_{IS} を表 3 に示した。 H_O の比較において, 会津地鶏と東天紅が高い値を示す傾向がみられたが, 品種間に有意な差異は認められなかった ($P \geq 0.05$, Kruskal-Wallis 検定)。一方, H_E の比較では小国系 3 品種は会津地鶏を除く地鶏 2 品種や唐丸よりも高い値を示す傾向がみられた。 H_E は地鶏 3 品種

表 2 7 品種における対立遺伝子レベルの遺伝的多様性

品種	TNA	MNA (S. D.)	AR (S. D.)
会津地鶏	73	2.61 (1.07)	2.48 (0.96) ^{ab}
岐阜地鶏	65	2.32 (0.94)	2.21 (0.87) ^b
土佐地鶏	62	2.21 (0.99)	2.16 (0.93) ^b
小国	77	2.75 (1.17)	2.69 (1.12) ^{ab}
尾長鶏	75	2.68 (1.09)	2.68 (1.09) ^{ab}
東天紅	86	3.07 (1.09)	3.05 (1.08) ^a
唐丸	65	2.32 (0.86)	2.09 (0.70) ^b

TNA: 総対立遺伝子数, MNA: 平均対立遺伝子数, AR: アレリックリッチネス ($n=12$ で補正), S. D.: 標準偏差, AR において異文字間に有意差あり ($P < 0.01$, Kruskal-Wallis 検定)。

表 3 7 品種におけるヘテロ接合体率および近交係数

品種	H_O (S. D.)	H_E (S. D.)	F_{IS}
会津地鶏	0.373 (0.020)	0.401 (0.039) ^{ab}	0.072 [*]
岐阜地鶏	0.271 (0.015)	0.298 (0.043) ^b	0.092 ^{**}
土佐地鶏	0.271 (0.023)	0.259 (0.043) ^b	-0.048 ^{ns}
小国	0.231 (0.021)	0.431 (0.047) ^{ab}	0.473 ^{**}
尾長鶏	0.238 (0.023)	0.397 (0.042) ^{ab}	0.410 ^{**}
東天紅	0.367 (0.025)	0.522 (0.031) ^a	0.304 ^{**}
唐丸	0.297 (0.016)	0.310 (0.042) ^b	0.045 ^{ns}

H_O/H_E : 平均ヘテロ接合体率の観察値/期待値, S. D.: 標準偏差, F_{IS} : 近交係数 (^{ns}: $P \geq 0.05$, ^{*}: $P < 0.05$, ^{**}: $P < 0.01$), H_E において異文字間に有意差あり ($P < 0.01$, Kruskal-Wallis 検定)。

では会津地鶏が高く (0.401), 尾長鶏 (0.397) よりも高い値を示した。特に東天紅は土佐地鶏, 岐阜地鶏, 唐丸の3品種より有意に高い値を示した ($P < 0.01$, Kruskal-Wallis 検定)。また, 小国や尾長鶏, 東天紅は H_O と H_E の差が大きく, 近交係数 F_{IS} も有意な値を示した ($P < 0.01$)。全集団における個体間の近交係数 F_{IT} は 0.543 ± 0.021 , 集団間の分化の程度を示す F_{ST} は 0.443 ± 0.021 , 分集団内における個体間の近交係数 F_{IS} は 0.180 ± 0.034 であり, いずれも有意な値であった ($P < 0.01$)。

(2) 日本鶏品種間の遺伝的類縁関係

各品種間の遺伝的分化の程度を示すペアワイス F_{ST} および品種間の遺伝距離 D_A を算出し表 4 に示した。品種間のペアワイス F_{ST} はいずれも有意 ($P < 0.01$) な値であった。地鶏3品種間のペアワイス F_{ST} は $0.488 \sim 0.539$ と高い値を示した。一方, 小国系3品種間のペアワイス F_{ST} は $0.144 \sim 0.239$ であり, 地鶏3品種間と比べると低い値を示した。遺伝距離 D_A もペアワイス F_{ST} と同様の傾向が認められ, 地鶏3品種間では高く ($0.391 \sim 0.477$), 小国系3品種間では低い値 ($0.164 \sim 0.180$) を示した。

品種間の遺伝的類縁関係を明らかにするため, 遺伝距離 D_A をもとに無根系統樹を作成した (図 1)。本研究で用いた7品種は明確なクラスターを形成せず, 低いブートストラップ確率 (44~64%) にて星型の樹形を示した。小国系品種は低い遺伝距離にてまとまる傾向がみられた (ブートストラップ確率 64%)。一方, 地鶏3品種や唐丸の間の遺伝距離は小国系品種間のものより大きく, 系統樹においてもクラスターを形成しなかった。

本研究で用いた全 136 個体について, 28 座位の遺伝子型から遺伝距離 D_{AS} を算出し, 系統樹を作成した (図 2)。系統樹において, 地鶏3品種と唐丸はそれぞれがクラスターを形成する結果となった。一方, 小国, 尾長鶏, 東天紅は1つのクラスターに混在する結果となった。しかしながら, 各品種は尾長鶏 (高知) の1個体を除き, 採取地ごとにサブクラスターを形成した。

(3) 日本鶏品種内の遺伝的集団構造

Structure プログラムによる解析結果 ($K=2 \sim 7$) を図 3 に示した。各 K における 20 回の試行間の類似度は $K=5$ (0.956), 3 (0.847), 6 (0.838) の順に高い値を示した。 $K=$

2 と 4 において, 各試行間で地鶏3品種のクラスタリングが異なる結果が得られ, 類似度が低下する結果となった。しかしながら, 各試行においては各品種に属する個体は 90% 以上の確率で同じクラスターに含まれ, 高い F_{ST} 値を

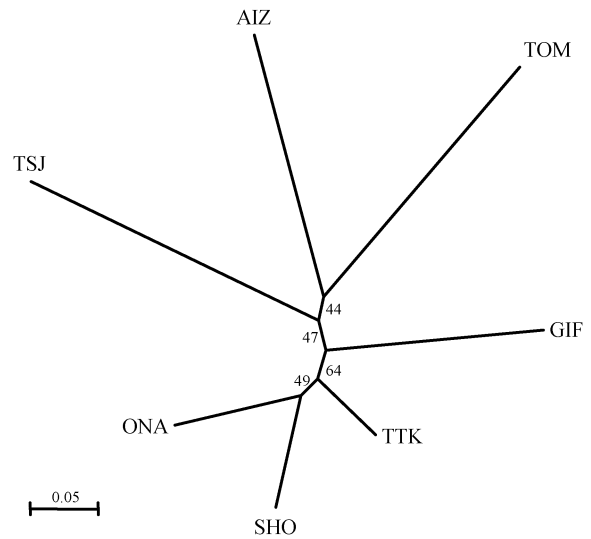


図 1 日本鶏 7 品種間の D_A 遺伝距離に基づく NJ 系統樹
枝上の数字はブートストラップ値 (%)

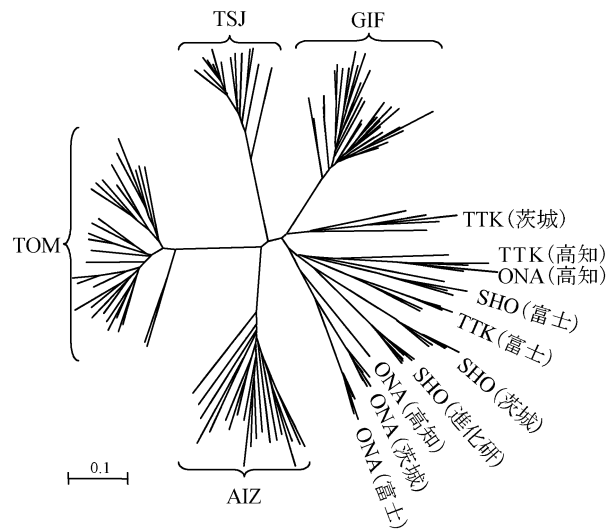


図 2 全 136 個体間の D_{AS} 遺伝距離にもとづく NJ 系統樹

表 4 7 品種間のペアワイス F_{ST} (右上) および遺伝距離 D_A (左下)

品種	会津地鶏	岐阜地鶏	土佐地鶏	小国	尾長鶏	東天紅	唐丸
会津地鶏	—	0.488*	0.528*	0.341*	0.435*	0.310*	0.482*
岐阜地鶏	0.391	—	0.539*	0.422*	0.423*	0.319*	0.540*
土佐地鶏	0.477	0.424	—	0.455*	0.530*	0.390*	0.553*
小国	0.316	0.289	0.376	—	0.239*	0.144*	0.436*
尾長鶏	0.405	0.292	0.395	0.180	—	0.188*	0.511*
東天紅	0.319	0.242	0.338	0.169	0.164	—	0.397*
唐丸	0.420	0.426	0.449	0.366	0.432	0.351	—

* $P < 0.01$

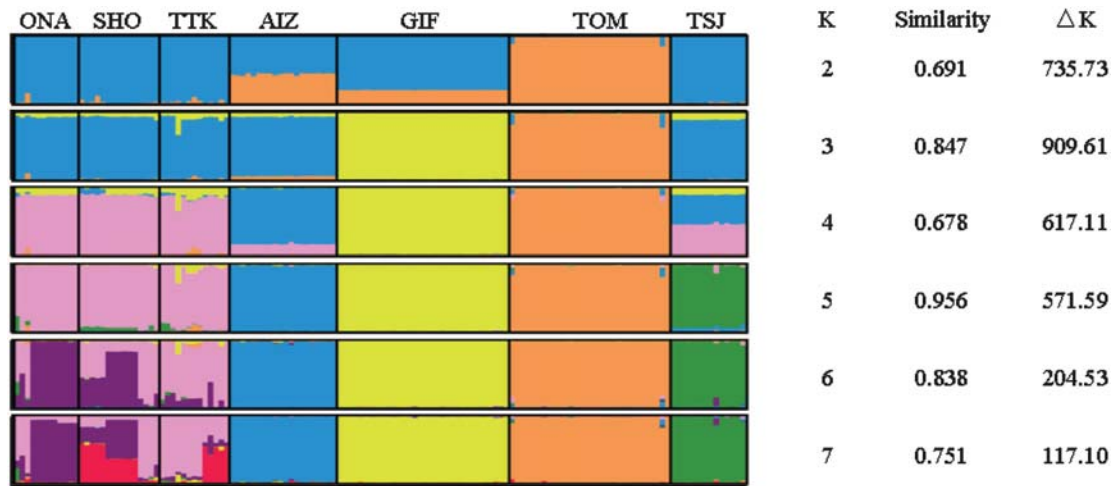


図 3 Structure プログラムにより得られたクラスター解析の結果 (K=2~7 を図示)
縦の棒グラフは各個体が K 色で示されたある遺伝的クラスターに含まれる確率を示す。尾長鶏, 小国, 東天紅はそれぞれ左側から表 1 に記載した採取地の順に示す。

支持するものであった。ΔK の値は K=2~5 の間で大きな差は認められなかったものの K=3 の時に最大値 (909.61) を示した。

唐丸は K=2 から、岐阜地鶏は K=3 からそれぞれが明確に独立したクラスターに含まれた。ΔK が最大値を示した K=3 のとき、岐阜地鶏と唐丸はそれぞれが固有のクラスターに属し、他の 5 品種が同じクラスターに属する結果となった。一方、試行間の類似度が最大値を示した K=5 のとき、小国、尾長鶏、東天紅が 1 つのクラスターに属し、残りの 4 品種がそれぞれ独立したクラスターに含まれた。また、K>6 のときも 4 品種が独立のクラスターを形成し、小国系 3 品種内にサブ構造が認められた。このときのサブ構造は、いずれも採取地間で生じているものであった。特に小国は K>6 のときに、採取地による遺伝的差異が認められる結果となった。

4. 考 察

(1) 日本鶏品種間の遺伝的多様性の比較

本研究で得られた MNA, H_o および H_E はベトナム在来鶏²²⁾ やジンバブエ在来鶏²³⁾ よりも低く、 F_{ST} はそれよりも高い値であった。このことは、日本鶏はアジアやアフリカの在来鶏と比べて遺伝的多様性は低い一方、遺伝的分化の程度が高い集団であることを示すものであった。特に本研究で用いた地鶏や小国系品種は小集団化や人為選抜により、このような傾向が顕著に認められたものと考えられた。

本研究で分析した 7 品種を比較すると、地鶏や唐丸よりも小国系品種 (小国、尾長鶏、東天紅) の方が遺伝的多様性が高い傾向が認められた。本研究の小国系品種は複数集団を 1 集団として分析を行なったが、単一集団の分析を行なった OSMAN *et al.*⁵⁾ の結果と比べても、本研究で分析した地鶏は低い値を示した。これは、地鶏の多くが狭い地域にて小集団で飼育されているのに対し、観賞用品種が多い小国系品種は広範囲で飼育され、集団間の個体の交流によ

り遺伝的多様性が維持されているためと考えられた。地鶏 3 品種の中では会津地鶏は他の 2 品種と比べて高い多様性を示した。これは、現在の会津地鶏が銘柄鶏の素材鶏として系統的な維持が行なわれている²⁴⁾ ためと考えられた。尾長鶏は近親交配が進んでいると報告されている²⁵⁾ が、本結果の低い遺伝的多様性と高い正の F_{IS} はそれを支持するものと考えられた。長鳴鶏は長鳴性という特殊な形質について強い選抜圧を受けているため、他の品種と比べて遺伝的多様性は低いとされる^{25,26)}。著者らも長鳴鶏である声良は低い多様性を示すことを報告した²⁾。本結果では、唐丸は声良と同様に低い多様性を示した一方、東天紅はもっとも高い多様性を示した。

TADANO *et al.*⁶⁾ は、小国は愛好家の複数集団を 1 集団として、東天紅は試験場の単一集団を分析している。小国は本研究も TADANO *et al.*⁶⁾ も複数集団の分析であるが、遺伝的多様性は愛好家集団⁶⁾ の方が試験場集団 (本結果) よりも高い値を示した。岡ら²⁾ は愛好家所有の矮鶏地域集団は保存会内での個体の交流により、明確な遺伝的分化が生じていないことを示した。観賞用品種の多い小国系品種においても、愛好家間の個体の移動は多様性や集団構造に影響を与える一因と考えられた。東天紅は同じ試験場集団の分析であっても、遺伝的多様性は複数集団 (本結果) の方が単一集団⁶⁾ よりも高い値を示す結果となった。しかしながら本結果は H_E に対して H_o が低く、有意に高い正の F_{IS} を示した。さらに LEI0234, LEI0094, MCW0216 などの座位では、採取地で主要な対立遺伝子が異なっていた。また、東天紅は分集団を考慮しても多くの対立遺伝子が認められた。このことから、強い選抜を受けて作出された長鳴鶏であっても初期の段階では遺伝的多様性を保持しており、その後の分集団化、各分集団におけるさらなる選抜、遺伝的浮動を経て現在の状態に至ったと考えられた。

(2) 品種間の遺伝的類縁関係および品種内の遺伝的差異 D_A 系統樹の樹形は TADANO *et al.*⁶⁾, TAKAHASHI *et al.*²⁷⁾,

OSMAN *et al.*²⁸⁾の結果を支持するものであった。また、 D_{AS} 系統樹において、小国、尾長鶏、東天紅は3品種で1つのクラスターを形成し、品種レベルの明確な遺伝的差異は認められなかった。この点は、分析したすべての品種がそれぞれのクラスターを形成するとして TADANO *et al.*²⁹⁾とは異なる結果であった。地鶏は歴史が長く、各地域で長期間にわたって閉鎖的に維持されており、羽色も品種により定められている。そのため、品種間の交流がない状態で遺伝的分化が進んだものと考えられた。唐丸の成立には小国が関与したとされているが²⁶⁾、本結果からは小国の遺伝的寄与率が小さいか、品種成立後のボトルネックにより遺伝子構成が変化したものと考えられた。一方、尾長鶏と東天紅は小国直系の品種とされており¹⁾、尾長鶏は長尾性、東天紅は長鳴性について選抜され、作出されたとされている¹⁾。また、小国自身が長尾性、長鳴性を有することから、品種成立後も品種間で遺伝的交流が生じていた可能性が考えられた。それらのことから、現在でも小国系品種間で遺伝的背景が共有されており、明確な分化が認められなかったものと考えられた。一方、 D_{AS} 系統樹において3品種で形成するクラスターの中に品種と採取地によるサブクラスターが認められたことから、各品種、各地域集団で近親交配が進行し、それぞれが遺伝的に均一な集団になりつつある状態であると考えられた。

Structure 解析における最適な分集団数 K の評価について、対数尤度の変化量 ΔK ¹⁹⁾ を用いる報告^{8,30)} と各 K の全試行の類似性を用いる報告³¹⁾ がある。本研究では ΔK は $K=3$ 、試行間の類似性は $K=5$ のときに最大となった。 $K=3$ と 5 のとき、各品種の個体は単一のクラスターに含まれる結果が得られ、高い F_{ST} 値を支持するものであると考えられた。一方、ベトナム在来鶏³⁰⁾ やジンバブエ在来鶏²³⁾ の Structure 解析において、在来鶏間に明確な遺伝的構造は認められず、ケニア在来鶏には地理的距離による連続的な遺伝的構造が認められた³²⁾。これは、アジアやアフリカの在来鶏に対し、日本鶏の集団構造は地理的距離ではなく品種や地域集団レベルで生じていることを示すものと考えられた。TADANO *et al.*⁸⁾ は尾長鶏の Structure 解析を行い、内種間の遺伝的差異を報告している。本結果は $K=6$ と 7 の結果から、同一品種であっても採取地により遺伝的差異が生じていることを明らかにした。 $K=6$ のとき、小国に認められる2つのクラスター（紫色とピンク色）のうち、尾長鶏は紫色、東天紅はピンク色のクラスターに高い確率で含まれることが示された（図3）。これは、小国の複数起源を示す mtDNA の分析結果³³⁾ を支持するものであった。さらに、小国も採取地により対立遺伝子構成が異なり、遺伝的分集団化が生じていることが明らかとなった。 $K=7$ のとき、小国に認められる3つのクラスター（赤色、紫色、ピンク色）のうち、尾長鶏は赤色、東天紅は紫色のクラスターの割合が減少している（図3）。このことから、多起源である小国をもとに選抜、淘汰を経て、遺伝的に均一な集団になる過程にあるものと考えられた。

本研究結果より、地鶏よりも小国系品種の方が遺伝的多様性は高く、遺伝的分化の程度は低いことが明らかとなっ

た。さらに、小国系品種は採取地間で遺伝的差異が認められるものの、各採取地では多様性が減少し、遺伝的に固定される過程にある集団であることが明らかとなった。

謝辞：貴重な日本鶏サンプルを提供していただきました福島県農業総合センター畜産研究所、高知県畜産試験場、茨城県畜産センター養鶏研究室、新潟県農業総合研究所畜産研究センター、進化生物学研究所に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) 小穴 彪 (1951) 日本鶏の歴史. 日本鶏研究社, 東京.
- 2) 岡 孝夫, 高橋幸水, 野村こう, 花田博文, 天野 卓, 秋篠宮文仁 (2010) マイクロサテライト DNA 多型情報にもとづく日本鶏、特に軍鶏およびその近縁品種の遺伝的多様性と集団構造. 東京農業大学農学集報 55, 211-218.
- 3) 田名部雄一, 水谷正俊 (1980) 日本鶏の蛋白質多型による品種の相互関係と系統に関する研究 3. 16 座位から求めた品種間の遺伝的距離と系統樹. 日本家禽学会誌 17, 116-121.
- 4) KOMIYAMA T., IKEO K. and GOJOBORI T. (2004) The evolutionary origin of long-crowing chicken: its evolutionary relationship with fighting cocks disclosed by the mtDNA sequence analysis. *Gene* 333, 91-99.
- 5) OSMAN S.A.M., SEKINO M., NISHIBORI M., YAMAMOTO Y. and TSUDZUKI M. (2005) Genetic variability and relationships of native Japanese chickens assessed by microsatellite DNA profiling—Focusing on the breeds established in Kochi prefecture, Japan—. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 18, 755-761.
- 6) TADANO R., SEKINO M., NISHIBORI M. and TSUDZUKI M. (2007) Microsatellite marker analysis for the genetic relationships among Japanese long-tailed chicken breeds. *Poultry Science* 86, 460-469.
- 7) TADANO R., NISHIBORI M. and TSUDZUKI M. (2008) High accuracy of genetic discrimination among chicken lines obtained through an individual assignment test. *Animal Genetics* 39, 567-571.
- 8) TADANO R., NISHIBORI M. and TSUDZUKI M. (2009) Genetic structure and differentiation of the Japanese extremely long-tailed chicken breed (Onagadori), associated with the plumage color variations: suggestions for its management and conservation. *Animal Genetics* 40, 989-992.
- 9) HOFFMAN I., MARSAN P.A., BARKER S.F., COTHRAN E.G., HANOTTE O., LENSTRA J.A., MILAN D., WEIGEND S. and SIMIANER H. (2004) New MoDAD marker sets to be used in diversity studies for the major farm animal species: recommendations of a joint ISAG/FAO working group. In *Proceedings of the 29th International Conference on Animal Genetics*, September 11-16th 2004, Meiji University, Tokyo Japan.
- 10) WEIR B.S. and COCKERHAM C.C. (1984) Estimating F -statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38, 1358-1370.
- 11) PARK S.D.E. (2004) Trypanotolerance in west African cattle and the population genetic effects of selection. Ph. D. Thesis, University of Dublin. Available at 'http://animalgenomics.ucd.ie/sdepark/ms-toolkit/2001'.
- 12) GOUDET J. (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversity and fixation indices (ver. 2.9.3). Updated from GOUDET J. (1995) FSTAT (ver. 1.2): a computer pro-

- gram to calculate F -statistics. *The Journal of Heredity* 86, 485-486.
- 13) NEI M., TAJIMA F. and TATENO Y. (1983) Accuracy of estimated phylogenetic tree from molecular data. II. Gene frequency data. *Journal of Molecular Evolution* 19, 153-170.
 - 14) BOWCOCK A.M., RUIZ-LINARES A., TOMFOHRDE J., MINCH E., KIDD J.R. and CAVALLI-SFORZA L.L. (1994) High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* 368, 455-457.
 - 15) SAITOU N. and NEI M. (1987) The neighbor-joining method : a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biological Evolution* 4, 406-425.
 - 16) OHTA T (1993) DISPAN : Genetic distance and phylogenetic analysis. Pennsylvania State University, University Park.
 - 17) FELSENSTEIN J. (1993) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. University of Washington, Seattle.
 - 18) PRITCHARD J.K., STEPHENES M. and DONNELLY P. (2000) Inference population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945-959.
 - 19) EVANNO G.S., REGNAUT S. and GOUDET J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE : a simulation study. *Molecular Ecology* 14, 2611-2620.
 - 20) JAKOBSSON M. and ROSENBERG N.A. (2007) CLUMPP : a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics* 23, 1801-1806.
 - 21) ROSENBERG N.A. (2004) Distruct : a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes* 4, 137-138.
 - 22) CUC N.T.K., MUCHADEYI C.F., BAULAIN U., EDING H., WEIGEND S. and WOLLNY C.B.A. (2006) An Assessment of Genetic Diversity of Vietnamese H'mong Chickens. *International Journal of Poultry Science* 5, 912-920.
 - 23) MUCHADEYI F.C., EDING H., WOLLNY C.B.A., GROENEVELD E., MAKUZA S.M., SHAMSELDIN R., SIMIANER H. and WEIGEND S. (2007) Absence of population substructuring in Zimbabwe chicken ecotypes inferred using microsatellite analysis. *Animal Genetics* 38, 332-339.
 - 24) 岡 孝夫, 井野靖子, 野村こう, 花田博文, 天野 卓, 山内克彦, 小林雄治, 泉田和子, 西堀正英, 山本義雄, 秋篠宮文仁 (2008) マイクロサテライト DNA 多型による会津地鶏の遺伝的多様性と遺伝的位置. *日本家禽学会誌* 45, 61-65.
 - 25) 小畑太郎, 菊池和弘, 居在家義昭 (1993) 四国地域における動物遺伝資源の調査と収集. *動物遺伝資源探索調査報告* 4, 43-60.
 - 26) 葦澤圭二郎, 菊池和弘 (1995) 新潟県における家禽遺伝資源の調査と収集 1. 新潟県における蜀鶏種の保存状況の調査. *動物遺伝資源探索調査報告* 5, 85-97.
 - 27) TAKAHASHI H., NIRASAWA K., NAGAMINE Y., TSUDZUKI M. and YAMAMOTO Y. (1998) Genetic relationships among Japanese native breeds of chicken based on microsatellite DNA polymorphisms. *The Journal of Heredity* 89, 543-546.
 - 28) OSMAN S.A.M., SEKINO M., NISHIHATA A., TAKENAKA W., KINOSHITA K., KUWAYAMA T., NISHIBORI M., YAMAMOTO Y. and TSUDZUKI M. (2006) The genetic variability and relationships of Japanese and foreign chickens assessed by microsatellite DNA profiling. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 19, 1369-1378.
 - 29) TADANO R., NISHIBORI M., IMAMURA Y., MATSUZAKI M., KINOSHITA K., MIZUTANI M., NAMIKAWA T. and TSUDZUKI M. (2008) High genetic divergence in miniature breeds of Japanese native chickens compared to Red Junglefowl, as revealed by microsatellite analysis. *Animal Genetics* 39, 71-78.
 - 30) BERTHOULY C., LEROY G., NHU VAN T., HOANG THANH H., BED'HOM B., TRONG NGUYEN B., VU CHI C., MONICAT F., TIXIER-BOICHARD M., VERRIER E., MAILLARD J.C. and ROGNON X. (2009) Genetic analysis of local Vietnamese chicken provides evidence of gene flow from wild to domestic populations. *BMC Genetics* 10 (online open access).
 - 31) GRANEVITZE Z., HILLEL J., FELDMAN M., SIX A., EDING H. and WEIGEND S. (2009) Genetic structure of wide-spectrum chicken gene pool. *Animal Genetics* 40, 686-693.
 - 32) MWACHARO J.M. (2008) Genetic ancestry, diversity and phylogeographic structure among Kenyan indigenous Chickens. PhD thesis, Tokyo University of Agriculture.
 - 33) OKA T., INO Y., NOMURA K., KAWASHIMA S., KUWAYAMA T., HANADA H., AMANO T., TAKADA M., TAKAHATA N., HAYASHI Y. and AKISHINONOMIYA F. (2007) Analysis of mtDNA sequences shows Japanese native chickens have multiple origins. *Animal Genetics* 38, 287-293.

Genetic Diversity and Population Structure of Jidori, Shokoku and Its Related Breeds of Japanese Native Chicken based on Microsatellite DNA Polymorphisms

By

Takao OKA*, Yukimizu TAKAHASHI**, Koh NOMURA**, Hirofumi HANADA**,
Takashi AMANO*** and AKISHINONOMIYA Fumihito****

(Received August 5, 2010/Accepted October 22, 2010)

Summary : The genetic relationships between the *Jidori*, *Shokoku* and their related breeds, and their genetic population structure are unclear. In this study, microsatellite DNA polymorphisms were used to analyze the genetic relationships and structure among *Jidori*, *Shokoku*, and related breeds. A total of 136 individuals of seven breeds, *Aizu-Jidori*, *Gifu-Jidori*, *Tosa-Jidori*, *Shokoku*, *Onagadori*, *Totenko*, and *Tomaru*, were used in the analyses of the 28 microsatellite loci. High genetic diversity was observed in *Shokoku* and related breeds. In contrast, low genetic diversity was observed in the *Tomaru* and *Jidori* breeds, except in the *Aizu-Jidori*. A high and positive F_{IS} value indicating high inbreeding was also detected in *Shokoku*-related breeds. Among long-crowing breeds, *Totenko* showed high genetic diversity, but *Tomaru* showed low genetic diversity. The pairwise F_{ST} values estimated among breeds were high and significant. In the phylogenetic tree analysis, *Shokoku*, *Onagadori*, and *Totenko* were located in the same cluster in the D_A and D_{AS} trees. In contrast, three *Jidori* breeds and *Tomaru* were clearly separated in each tree. The structure analysis supports the topology of D_{AS} tree and reveals genetic differentiation among sampling locations in the *Shokoku*-related breeds as *Shokoku*, *Onagadori* and *Totenko*.

Key words : Genetic resource, genetic diversity, *Jidori*, *Shokoku*, microsatellite DNA polymorphisms

* Former : Department of Human and Animal-Plant Relationships, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

** Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

*** Professor emeritus, Tokyo University of Agriculture

**** Visiting professor, Tokyo University of Agriculture