

マイクロサテライト DNA 多型情報に もとづく日本鶏, 特に観賞用品種の 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**・
高田 勝***・天野 卓****・秋篠宮文仁*****

(平成 22 年 11 月 18 日受付/平成 23 年 1 月 21 日受理)

要約: 日本鶏はわが国の貴重な遺伝資源であるにもかかわらず, 生産性が低く, その維持を個人愛好家に依存する品種も少なくない。それらの品種の保全においては, 遺伝的多様性や集団構造を明らかにすることが必要となる。本研究はマイクロサテライト DNA 多型情報から, 観賞用品種を中心に解析をおこなった。供試鶏として 7 品種 125 羽を用い, マイクロサテライト 28 座位の分析をおこなった。その結果, 愛好家に維持されている観賞用品種であっても, 試験研究機関維持集団や銘柄鶏の素材鶏として系統的に維持されている集団と同程度の遺伝的多様性を示すことが明らかとなった。今回分析した 7 品種すべてに近親交配 (正の F_{IS} 値) が認められる結果となった。特に養曳, 養曳矮鶏, 烏骨鶏は採取地間で遺伝的差異が生じており, D_{AS} 系統樹にてサブクラスターが認められた。一方, 鶉矮鶏は採取地間の遺伝的差異は認められず, 全個体がひとつのクラスターに含まれる結果となった。

キーワード: 遺伝資源, 遺伝的多様性, 観賞用品種, 日本鶏, マイクロサテライト DNA 多型

1. はじめに

日本鶏は 15 品種 2 グループが天然記念物に指定されているわが国の貴重な遺伝資源である¹⁾。これらを含む現在の日本鶏品種の大部分は書誌学的, 形態学的研究から地鶏, 小国, 軍鶏の 3 品種から作出されたと考えられている²⁾。一方, 矮鶏や烏骨鶏など, 東~東南アジア地域を中心に世界で広く認められる品種も存在する。著者らはこれまで, 軍鶏とその近縁品種³⁾ および地鶏・小国とその近縁品種⁴⁾ についてマイクロサテライト DNA 多型の解析をおこなった。これらの品種は尾長鶏や長鳴鶏のように愛玩, 観賞用途に特化した品種が存在する一方, 日本鶏品種を用いた銘柄鶏の作出に用いられる品種もあり, 試験研究機関を中心にその保存と活用が図られている。一方, 現在の日本鶏品種の大部分は生産性の低い観賞用品種であり, 産業目的には用いられていないものも多い。これらの品種は試験研究機関のほか個人愛好家や各地の日本鶏保存会による保全も図られている。これらの愛玩用品種については TADANO *et al.*⁵⁾ が矮小品種を中心に解析をおこない, 各品種間の遺伝的分化の程度が高いことを明らかにした。一方, 著者ら^{3,4)} の結果より, 愛好家維持集団は地理的に離れ

た集団であっても保存会等を通じた遺伝的交流が生じていることや, 小国派生品種間では他の報告に比べて遺伝的分化の程度が低いことを示した。また, 試験場で銘柄鶏の素材鶏として維持されている会津地鶏⁶⁾ と個人愛好家が維持する龍神地鶏⁷⁾ では, 飼育規模等の要因により, 遺伝的多様性の経時的な減少の程度は後者のほうが大きいことが示された。さらに, 個人愛好家では大規模な飼育が難しく, それが同一品種内に遺伝的分集団化を生じさせる要因にもなり得る。このようなことから日本鶏, 特に観賞用品種の遺伝的多様性や品種内に生じた遺伝的差異の程度を明らかにすることは, その保全を考える上で重要なことであると考えられる。しかしながら, 品種内の遺伝的集団構造まで言及する研究例は少なく, 名古屋種⁸⁾ や尾長鶏⁹⁾ の報告があるのみである。そこで本研究では主として観賞, 愛玩目的で飼育されることが多い品種および観賞用をはじめ多目的な用途で飼育される烏骨鶏を対象に, その遺伝的多様性や集団構造を明らかにする事を目的とした。

2. 材料および方法

(1) 供試鶏

黒柏 26 羽, 養曳 12 羽, 養曳矮鶏 17 羽, 鶉矮鶏 14 羽,

* 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

*** 進化生物学研究所

**** 東京農業大学名誉教授

***** 東京農業大学客員教授

烏骨鶏 15 羽, チャーン 26 羽, イッスンチャーン 15 羽, 計 7 集団 125 羽を用いた (表 1)。各採取地からの供試羽数が少ないため, 養曳, 養曳矮鶏, 鶉矮鶏, 烏骨鶏はそれぞれ 3~6 地域集団を同一集団として解析を行なった。また, 養曳矮鶏は「尾曳」, 鶉矮鶏は「鶉尾」とも呼ばれているが, 本研究においては既報の引用を含め天然記念物指定名称である「養曳矮鶏」, 「鶉矮鶏」に統一した。DNA 抽出, PCR およびフラグメント解析は岡ら³⁾と同様に行なった。分析には ISAG/FAO 推奨のマイクロサテライト 30 座位¹⁰⁾のうち著者らのこれまでの報告^{3,4)}において多くの個体で増幅が認められなかった *MCW0284* と非特異的増幅が多く認められた *LEI0192* を除く 28 座位を用いた。

(2) データ解析

遺伝的多様性を評価するため, 各集団で絶対対立遺伝子数 (TNA), 平均対立遺伝子数 (MNA), Allelic Richness (AR), ヘテロ接合体率の観察値 (H_0) 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¹¹⁾にて求めた。

表 1 本研究で用いた供試鶏

品種	略号	羽数	採取地(内数)
黒柏	KRO	26	島根県
養曳	MIN	12	茨城県(5)、東農大(5)、徳島県(2)
養曳矮鶏	MIC	17	高知県(4)、東農大(6)、徳島県(2)、和歌山県(5)
鶉矮鶏	UZC	14*	高知県(4)、東農大(2)、徳島県(3)、和歌山県(5)
烏骨鶏	UKO	15	高知県(2)、茨城県(5)、進化研(3)、山形県(1)、新潟県(3)、沖縄県(1)
チャーン	CHN	26**	沖縄県
イッスンチャーン	ICN	15***	沖縄県

島根県・徳島県・和歌山県・山形県・新潟県・沖縄県: 個人愛好家, 茨城県: 茨城県畜産センター養鶏研究室, 東農大: 東京農業大学富士農場, 高知県: 高知県畜産試験場, 進化研: 進化生物学研究所。
*鶉矮鶏の内種内訳: 赤笹 6, 白 4, 黒 2, 銀笹 1, **チャーンの内種内訳: 五色 14, 黒 7, 白 4, 白笹 1, ***イッスンチャーンの内種内訳: 五色 6, 黄笹 5, 白 2, 浅黄 2。

TNA, MNA, H_0 および H_E は Microsatellite Toolkit¹²⁾にて, AR, F_{IS} および F 統計量は FSTAT 2.9.3 プログラム¹³⁾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 ¹⁴⁾ と D_{AS} ¹⁵⁾ を求め, 近隣結合法¹⁶⁾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¹⁷⁾, 遺伝距離 D_{AS} の算出は Microsatellite Toolkit¹²⁾, 系統樹の作成には PHYLIP 3.5 パッケージ¹⁸⁾の NEIGHBOR プログラムを用いた。

3. 結 果

(1) 日本鶏品種間の遺伝的多様性の比較

解析に用いた全 28 座位で多型が検出され, 165 個の対立遺伝子が認められた。各品種で算出した遺伝的多様性の尺度を表 2 に示した。対立遺伝子数に関して, TNA, MNA, AR はいずれも黒柏や養曳が低く, 烏骨鶏が高い値を示した。特に AR において, 烏骨鶏と黒柏の間に有意差が認められた ($P < 0.01$)。ヘテロ接合体率は H_0 , H_E ともに黒柏が最小値を示した一方, H_0 はチャーンやイッスンチャーンが高く, H_E は烏骨鶏が高い値を示した。 H_0 において平均値間に差は認められなかったが, H_E では烏骨鶏と黒柏の間に有意差が認められた ($P < 0.01$)。また, チャーンを除いて H_0 と H_E の差が大きく, F_{IS} も有意な値を示した ($P < 0.01$, チャーンのみ $P < 0.05$)。WEIR and COCKERHAM の F 統計量¹¹⁾は F_{IT} が 0.437 ± 0.029 , F_{ST} が 0.277 ± 0.020 , F_{IS} が 0.221 ± 0.039 であり, いずれの値も有意に 0 から偏ったものであった ($P < 0.01$)。

(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ズ F_{ST} および遺伝距離 D_A を算出し表 3 に示した。ペアワイズ F_{ST} はすべて有意な値が認められた。また, ペアワイズ F_{ST} は沖縄の 2 品種および養曳矮鶏と黒柏との間で高く, 沖縄の 2 品種および鶉矮鶏と烏骨鶏との間で低い傾向を示した。遺伝距離 D_A もペアワイズ F_{ST} と同様の傾向が認められ, 特に沖縄の 2 品種は黒柏, 養曳, 養曳矮鶏の 3 品種との間で高い値を示す傾向がみられた。一方, 黒柏, 養曳, 養曳矮鶏を除く 4 品種間の値は, 他の組み合わせよりも低い値を示す傾向がみられた。

表 2 7 品種における遺伝的多様性の尺度

品種	TNA	MNA (S. D.)	AR (S. D.)	H_0 (S. D.)	H_E (S. D.)	F_{IS}
黒柏	81	2.89 (1.07)	2.59 (0.92) ^b	0.275 (0.017)	0.375 (0.037) ^b	0.271**
養曳	82	2.93 (1.09)	2.93 (1.09) ^{ab}	0.283 (0.025)	0.446 (0.044) ^{ab}	0.377**
養曳矮鶏	87	3.11 (1.03)	2.99 (0.93) ^{ab}	0.359 (0.022)	0.467 (0.038) ^{ab}	0.237**
鶉矮鶏	93	3.32 (1.16)	3.24 (1.07) ^{ab}	0.398 (0.025)	0.526 (0.026) ^{ab}	0.251**
烏骨鶏	114	4.07 (1.46)	3.94 (1.36) ^a	0.419 (0.024)	0.611 (0.031) ^a	0.321**
チャーン	91	3.25 (1.17)	2.96 (0.91) ^{ab}	0.459 (0.019)	0.494 (0.034) ^{ab}	0.072*
イッスンチャーン	87	3.11 (1.37)	3.02 (1.37) ^{ab}	0.461 (0.024)	0.533 (0.029) ^{ab}	0.140**

TNA: 絶対対立遺伝子数, 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), H_0/H_E : 平均ヘテロ接合体率の観察値/期待値, F_{IS} : 近交係数 (*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$), MNA, AR, H_0 , H_E (S. D.): 標準偏差, AR と H_E において異文字間に有意差あり ($P < 0.01$, Kruskal-Wallis 検定)。

表 3 7 品種間のペアワイス F_{ST} (右上) と遺伝距離 D_A (左下)

品種	黒柏	養曳	養曳矮鶏	鶉矮鶏	烏骨鶏	チャーン	イッスンチャーン
黒柏	—	0.343*	0.409*	0.325*	0.257*	0.351*	0.371*
養曳	0.265	—	0.274*	0.247*	0.213*	0.312*	0.284*
養曳矮鶏	0.387	0.272	—	0.232*	0.216*	0.295*	0.276*
鶉矮鶏	0.302	0.261	0.226	—	0.161*	0.245*	0.189*
烏骨鶏	0.266	0.275	0.263	0.221	—	0.163*	0.175*
チャーン	0.325	0.312	0.312	0.257	0.229	—	0.217*
イッスンチャーン	0.356	0.350	0.337	0.223	0.263	0.248	—

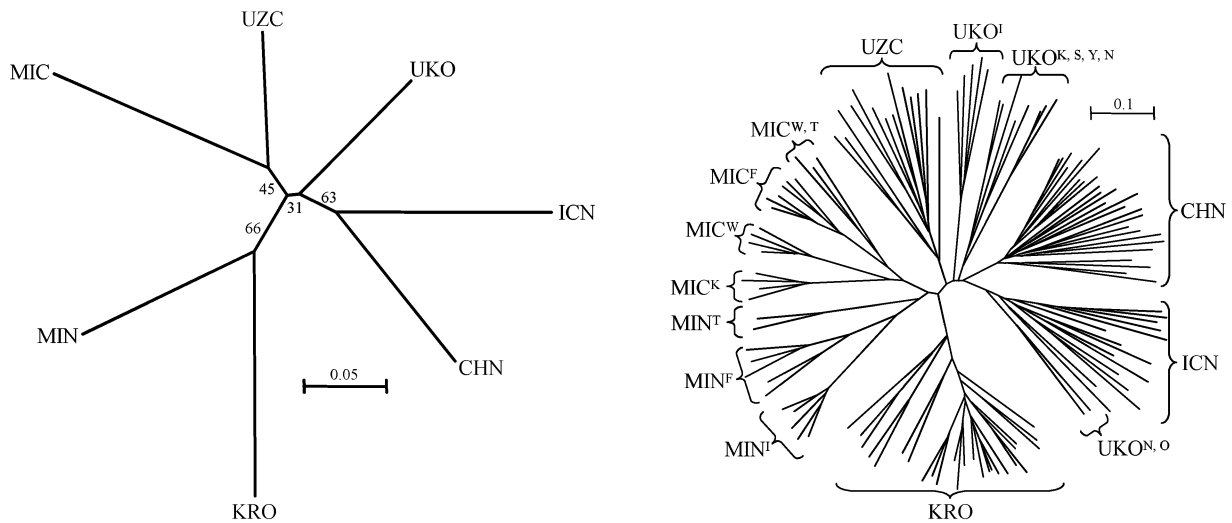
*: $P < 0.01$ 

図 1 7 品種間の D_A 遺伝距離にもとづく系統樹 (左) および全 125 個体間の D_{AS} 遺伝距離にもとづく系統樹 (右)
 図中のスケールバーは D_A および D_{AS} 遺伝距離、枝上の数字はブートストラップ値 (%), MIC, MIN, UKO の上付アルファベットは採取地 (K: 高知県, I: 茨城県, F: 東農大富士農場, T: 徳島県, W: 和歌山県, S: 進化研, Y: 山形県, N: 新潟県, O: 沖縄県) を示す。

品種間および個体間の遺伝的類縁関係を明らかにするため、遺伝距離 D_A および D_{AS} をもとに無根系統樹を作成した (図 1)。 D_A 系統樹の樹形はペアワイス F_{ST} を支持するものであった。チャーンとイッスンチャーン、黒柏と養曳、養曳矮鶏と鶉矮鶏は低いブートストラップ値 (それぞれ 63%, 66%, 45%) ではあるもののクラスターを形成した。烏骨鶏はいずれの品種ともクラスターを形成しなかった。 D_{AS} 系統樹において、烏骨鶏を除いて同一品種でクラスターを形成する結果となった。1 つの採取地からサンプリングをおこなった黒柏、チャーン、イッスンチャーンはそれぞれがクラスターを形成したが、黒柏は他の 2 品種と比べて品種内で遺伝的差異が生じている (サブクラスター化しつつある) 傾向がみられた。烏骨鶏は茨城県の 5 羽、沖縄県と新潟県の各 1 羽、他の 9 羽に分かれた。養曳と養曳矮鶏は採取地ごとにサブクラスターが形成された一方、鶉矮鶏、チャーン、イッスンチャーンは採取地や内種が異なる個体がひとつのクラスターに含まれる結果となった。

4. 考 察

(1) 品種間の遺伝的多様性の比較

黒柏、養曳、養曳矮鶏における MNA および H_0 , H_E は TADANO *et al.*¹⁹⁾ と同程度かやや低い値であり、岡ら^{3,4)} の軍鶏や矮鶏に次いで高い値を示す傾向が認められた。このことから、生産性が低く、愛好家により維持されている観賞用品種であっても、他の日本鶏品種と同程度の多様性が維持されているものと考えられた。鶉矮鶏は土佐地鶏に生じた尾椎の欠損を固定した品種とされる²⁾。しかしながら、本研究結果において、鶉矮鶏は岡ら⁴⁾ の土佐地鶏よりも高い多様性を示した。鶉矮鶏の内種の作出には矮鶏が用いられたと考えられており²⁰⁾、その過程で遺伝的多様性が高くなったものと考えられた。

チャーンおよびイッスンチャーンについては、これまでマイクロサテライト DNA 多型の分析はおこなわれていない。本研究結果より、その MNA および H_E の値は他の 5 品種と同程度の値を示す結果となった。両品種は沖縄県内の保存会を中心に維持されている。その過程で愛好家間の個体の移動も認められることから、多様性が維持されてき

たものと考えられた。また、両品種には多くの内種が認められ、複数の系統が存在することが示されている²¹⁾。本研究でも複数の内種を1集団として分析しており、このことも多様性が高くなった一因であると考えられた。また、図1(右)の D_{AS} 系統樹において、鶉矮鶏、チャー、イッスンチャーに内種によるサブクラスターは認められず、このことも内種を作出、維持するために内種間で交雑が生じ、多様性が維持されていることを示すものと考えられた。

烏骨鶏は対立遺伝子数およびヘテロ接合体率において他の品種より高い値を示した。日本の烏骨鶏は多起源であるとされており^{22,23)}、現在の烏骨鶏も高い多様性を示したものと考えられた。一方、烏骨鶏は7品種中もっとも高い F_{IS} 値を示した。このことから、分集団化やそれにもなう近親交配により、各分集団の遺伝的多様性は低下しつつあるものと考えられた。

WEIR and COCKERHAM の F 統計量¹¹⁾ は岡ら^{3,4)} と同様に、日本鶏の分集団(品種)間に生じた遺伝的分化や近親交配の程度はアジア²⁴⁾ やアフリカ²⁵⁾ の在来鶏(放飼鶏)と比べて高いことを示すものであった。一方、本研究で分析した7品種においては先の報告^{3,4)} で分析した品種よりも分化の程度(F_{ST})が低い一方、品種内の近親交配の程度(F_{IS})は高いことが示された。これは愛好家集団間の個体の移動が試験研究機関集団のものよりも多く、遺伝的分化が生じにくい一方、小集団で維持されることで近親交配が生じていることによるものと考えられた。

(2) 品種間の遺伝的類縁関係と品種内の遺伝的差異

D_A 系統樹(図1左)より、成立に小国が関与した黒柏と蓑曳、土佐地鶏が関与した蓑曳矮鶏と鶉矮鶏がそれぞれクラスターを形成した。これは品種の成立過程を支持するものと考えられた。OSMAN *et al.*²⁶⁾ では蓑曳、蓑曳矮鶏、鶉矮鶏は小国や土佐地鶏とクラスターを形成した一方、黒柏は離れて位置する結果となった。黒柏の成立には唐丸の関与も示唆されており、原産地である島根県と山口県で系統が異なるとされている²⁷⁾。このことから、島根県の黒柏を分析した本研究と、山口県の黒柏を分析したOSMAN *et al.*²⁶⁾ で異なる結果が得られたものと考えられた。チャーやイッスンチャーと他の日本鶏品種間の遺伝的類縁関係に関してはこれまでの記載が少なく、その詳細は不明な点が多い。峰澤²¹⁾ の報告において、イッスンチャーはチャーをもとに作出された短脚種とされているのみである。ペアワイズ F_{ST} において、沖縄の2品種は小国の直系と考えられる黒柏との間で高い値を示した。沖縄は琉球王国の時代から中国と交易をおこなっていた。また、中国も日本と同様に多くの品種および多種多様な放飼鶏が飼育されていた。このことから、沖縄には本土に導入された小国系の鶏種とは異なるものが導入され、それがチャーおよびイッスンチャーの成立に関与した可能性が考えられた。また、 D_A 系統樹(図1左)において、イッスンチャーとチャーがクラスターを形成した結果は品種の成立過程を支持するものと考えられた。一方、両品種間の遺伝距離は

他の品種間と同程度の値であり、これはその矮小化(短脚の固定)に他品種が関与したことを示すものと考えられた。

D_{AS} 系統樹(図1右)より、蓑曳、蓑曳矮鶏、烏骨鶏にはサブクラスター、すなわち品種内の遺伝的分集団化が認められた。蓑曳と蓑曳矮鶏において試験研究機関集団(高知県、茨城県、東農大)と愛好家集団(徳島県、和歌山県)で各個体間の遺伝距離 D_{AS} の平均値に差は認められなかった。このことから、この2品種においては試験研究機関、愛好家を問わず各分集団間の遺伝的交流が少なく、各分集団で近親交配が生じているものと考えられた。烏骨鶏は異なる起源を持つ集団がさらに小集団化することにより、各分集団の近親交配が促進されたものと考えられた。一方、鶉矮鶏は採取地間で明確な遺伝的差異が生じておらず、愛好家に維持されている2集団(徳島県、和歌山県)も含めて同じクラスターに含まれる結果となった。鶉矮鶏の尾椎の欠損は優性遺伝子支配であるとされており²⁸⁾、品種成立時に過度の選抜がおこなわれなかったこと、内種作出のために多様性の高い矮鶏が用いられたことから、集団間の遺伝的差異が生じにくかったものと考えられた。鶉矮鶏の品種内の遺伝的差異は多様な内種を有する矮鶏の結果³⁾と類似しており、本研究でも複数の内種を含めて分析をおこなったが、 D_{AS} 系統樹(図1右)において内種による遺伝的差異は認められなかった。一方、蓑曳や蓑曳矮鶏は単一品種に由来する小国、尾長鶏、東天紅の結果¹⁾と類似していた。したがって、品種内に多くの内種を有することが、地域間や内種間で遺伝的差異が生じにくい一因になるものと考えられた。

謝辞：貴重な日本鶏サンプルを提供していただきました茨城県畜産センター養鶏研究室、高知県畜産試験場、進化生物学研究所ならびに個人愛好家の皆様に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) TSUDZUKI M. (2003) Japanese native chickens. In: *The Relationship between Indigenous Animals and Humans in APEC Region* (CHANG H.L. and HUANG Y.C. eds.), 91-116. The Chinese Society of Animal Science, Taiwan.
- 2) 小穴 彪 (1951) 日本鶏の歴史. 日本鶏研究社, 東京.
- 3) 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、特に単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.
- 4) 岡 孝夫, 高橋幸水, 野村こう, 花田博文, 天野 卓, 秋篠宮文仁 (2011) 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. 東京農業大学農学集報 (印刷中).
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 岡 孝夫, 井野靖子, 高橋幸水, 野村こう, 花田博文, 天野卓, 寒川 清, 秋篠宮文仁 (2009) マイクロサテライト DNA 多型情報にもとづく龍神地鶏の遺伝的多様性. *東京農業大学農学集報* 53, 363-367.
 - 8) 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.
 - 9) 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.
 - 10) 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.
 - 11) WEIR B.S. and COCKERHAM C.C. (1984) Estimating F -statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38, 1358-1370.
 - 12) 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'.
 - 13) 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 program to calculate F -statistics. *The Journal of Heredity* 86, 485-486.
 - 14) 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.
 - 15) 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.
 - 16) SAITOU N. and NEI M. (1987) The neighbor-joining method : a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biological Evolution* 4, 406-425.
 - 17) OHTA T (1993) DISPAN : Genetic distance and phylogenetic analysis. Pennsylvania State University, University Park.
 - 18) FELSENSTEIN J. (1993) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. University of Washington, Seattle.
 - 19) 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.
 - 20) 平岡英一 (2000) 高知県における土佐の日本鶏 特に南国市におけるオナガドリの現状について. *動物遺伝資源探索調査報告* 11, 31-64.
 - 21) 峰澤 満 (2005) 沖縄本島の在来動物遺伝資源. *動物遺伝資源探索調査報告* 15, 27-47.
 - 22) ZHOU B., CHEN S.Y., ZHU Q., YAO Y.G. and LIU Y.P. (2010) Matrilineal components and genetic relationships of silkies from China and Japan. *Journal of Poultry Science* 47, 22-27.
 - 23) 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.
 - 24) 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.
 - 25) 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.
 - 26) 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.
 - 27) 黒田長久, 山口建治 (1987) 天然記念物 日本の鶏. 教育社, 東京.
 - 28) 都築政起 (2006) 土佐はニワトリ王国—土佐で作られたニワトリたち—. *土佐史談* 233, 1-25.

Genetic Diversity and Population Structure of Ornamental Breeds of Japanese Native Chicken Based on Microsatellite DNA Polymorphisms

By

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

(Received November 18, 2010/Accepted January 21, 2011)

Summary : Japanese native chickens are valuable genetic resource in Japan ; however, their low productivity limits their industrial use and forces dependence on a personal breeder for their maintenance. To conserve these breeds, it is important to clarify their genetic diversity, relationships, and structure. In this study, microsatellite DNA polymorphisms were used to analyze the genetic relationships and structure among ornamental breeds of Japanese native chickens. A total of 125 individuals of seven breeds, *Kurokashiwa*, *Minohiki*, *Minohiki-Chabo*, *Uzura-Chabo*, *Ukokkei*, *Chahn*, and *Issun-Chahn* were used in analyses of 28 microsatellite loci recommended by ISAG/FAO. The results showed that ornamental breeds maintained by private breeders showed the same level of genetic diversity compared with populations maintained by institutes or breeding stations. Despite high genetic diversity, significant positive F_{IS} values indicating high inbreeding were estimated for all seven breeds analyzed in this study. Furthermore, genetic differentiation among sampling locations was observed in *Minohiki*, *Minohiki-Chabo*, and *Ukokkei*. While sub-clustered structure was observed in the D_{AS} tree for these three breeds, in *Uzura-Chabo*, genetic differentiation was not observed and all specimens (including those from different sampling locations) were included in the same cluster.

Key words : Genetic diversity, genetic resource, Japanese native chicken, microsatellite DNA polymorphisms, ornamental breeds

* 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

*** The Research Institute of Evolutionary Biology

**** Professor emeritus, Tokyo University of Agriculture

***** Visiting professor, Tokyo University of Agriculture