

マイクロサテライト DNA 多型情報にもとづく日本鶏実用品種および欧米商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**・天野 卓***・秋篠宮文仁****

(平成 23 年 2 月 22 日受付/平成 23 年 6 月 17 日受理)

要約: 日本鶏実用品種 3 集団 (名古屋種, 熊本種, 天草大王) と欧米商用品種 5 集団 (白色レグホン 2 集団, プロイラー [チャンキー], 横斑プリマスロック, ロードアイランドレッド) のマイクロサテライト DNA 多型情報から各品種内の遺伝的多様性および品種間の類縁関係を明らかにすることを目的とした。名古屋種, 熊本種, 天草大王を比較すると, 天草大王は多様性が高い一方, 有意な近親交配が認められた。これは天草大王の復元には 3 つの品種が用いられ, 選抜の過程で近親交配が生じたためと考えられた。名古屋種や熊本種は天草大王と比べて少羽数から回復してからの時間が長く, 大規模飼育で維持されているために, 近親交配は認められなかったものと考えられた。欧米商用品種は用途や飼育規模, 系統により遺伝的多様性や近親交配の程度に差がみられた。白色レグホンを除く 6 品種の成立にコーチンが関与しているが, それらの品種は D_A 系統樹において明確なクラスターを形成しなかった。このことから日本鶏実用品種および欧米商用品種は, その遺伝的背景により大きく 2 群に分かれ, さらに品種成立後の選抜や維持の過程で遺伝的分化が生じたものと考えられた。

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

1. はじめに

日本鶏は現在, 15 品種 2 グループが天然記念物に指定されている貴重な遺伝資源である¹⁾。これらの品種の大部分は矮鶏のような生産性の低い観賞用品種であり, その維持を個人愛好家や各地の保存会に依存する品種も少なくない。また, 比内鶏や薩摩鶏などの品種は日本鶏を用いた銘柄鶏の作出に用いられ, 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, 日本鶏には熊本種や名古屋種のように肉用品種として作出された品種も存在する。これらの品種はほとんどが明治以降に作出された品種であり, その遺伝的背景を欧米商用品種と共有する品種も多い。また, 天草大王のように一度絶滅し, その後復元が図られた品種も存在する。

著者らはこれまで, 軍鶏とその近縁品種²⁾, 地鶏, 小国とその近縁品種³⁾, およびその他の観賞用品種⁴⁾ の遺伝的多様性およびその集団構造について解析を行なった。一方, 天然記念物に指定されていない肉用品種の解析は行なわれていない。名古屋種と熊本種については OSMAN *et al.*⁵⁾ が, 欧米商用品種については TADANO *et al.*⁶⁾ が解析を行なっているが, 日本鶏実用品種と欧米商用品種との間において詳

細な比較を行なった研究例は少ない。本研究ではマイクロサテライト DNA 多型情報から, 日本鶏実用品種と欧米商用品種における各品種内の遺伝的多様性および品種間の類縁関係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

代表的な日本鶏実用品種として名古屋種 30 羽, 熊本種 10 羽, 天草大王 10 羽, 欧米商用品種として白色レグホン 2 系統 61 羽 (ハイライン 35 羽, ジュリア 26 羽), プロイラー (チャンキー) 35 羽, ロードアイランドレッド 32 羽, 横斑プリマスロック 16 羽, 計 8 集団 194 羽を用いた (表 1)。DNA 抽出, PCR およびフラグメント解析は既報³⁾ に準じて行なった。分析には ISAG/FAO 推奨のマイクロサテライト 30 座位⁷⁾ のうち, *MCW0284* と *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, 対立遺伝子数の補正值である 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。 H_O と H_E

* 広島大学大学院生物圏科学研究科・広島大学日本鶏資源開発プロジェクト研究センター (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

表 1 本研究で用いた供試鶏

| 品種 | 略号 | 羽数 | 採取地 |
|---------------|-----|----|--------|
| 名古屋種 | NAG | 30 | 改良センター |
| 熊本種 | KMA | 10 | 熊本県 |
| 天草大王 | AMA | 10 | 熊本県 |
| 白色レグホン(ハイライン) | WLH | 35 | 千葉県 |
| 白色レグホン(ジュリア) | WLJ | 26 | 岐阜県 |
| プロイラー(チャンキー) | CNK | 35 | 茨城県 |
| ロードアイランドレッド | RIR | 32 | 改良センター |
| 横斑プリマスロック | BPR | 16 | 東農大 |

改良センター: 家畜改良センター岡崎牧場, 熊本県: 熊本県農業研究センター畜産研究所, 千葉県: (株)三宅羽羽場, 岐阜県: 中村リンク(株), 茨城県: 日鶏食産(株)八郷牧場, 東農大: 東京農業大学富士農場。

表 2 8 集団における遺伝的多様性の尺度

| 品種 | AR (S.D.) | H_0 (S.D.) | H_E (S.D.) | F_{IS} |
|-----|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------|
| NAG | 2.00 (0.58) ^{ab} | 0.402 (0.018) ^b | 0.418 (0.042) ^{ab} | 0.042 ^{ns} |
| KMA | 2.19 (0.51) ^{ab} | 0.482 (0.030) ^{ab} | 0.484 (0.030) ^{ab} | 0.005 ^{ns} |
| AMA | 2.64 (0.67) ^a | 0.520 (0.030) ^a | 0.573 (0.035) ^a | 0.098 [†] |
| WLH | 1.96 (0.61) ^{ab} | 0.558 (0.016) ^a | 0.387 (0.045) ^b | -0.451 ^{**} |
| WLJ | 1.81 (0.53) ^b | 0.278 (0.017) ^b | 0.332 (0.041) ^b | 0.167 ^{**} |
| CNK | 2.45 (0.48) ^a | 0.614 (0.016) ^a | 0.543 (0.026) ^a | -0.133 ^{**} |
| RIR | 2.27 (0.65) ^{ab} | 0.496 (0.017) ^{ab} | 0.492 (0.042) ^{ab} | -0.009 ^{ns} |
| BPR | 1.77 (0.57) ^b | 0.304 (0.022) ^b | 0.337 (0.045) ^b | 0.103 [†] |

AR: アレリックリッチネス (n = 10 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 (*^{ns}: $P > 0.05$, †: $P < 0.05$, **[†]: $P < 0.01$), S. D.: 標準偏差. AR, H_0 , H_E において異文字間に有意差あり ($P < 0.01$, Kruskal-Wallis 検定).

は Microsatellite Toolkit⁸⁾ にて, AR と F_{IS} は FSTAT 2.9.3 プログラム⁹⁾ にて算出した。遺伝距離 D_A にもとづく系統樹の作成には DISPAN プログラム¹⁰⁾ と PHYLIP 3.5 パッケージ¹¹⁾ の NEIGHBOR プログラムを用いた。

3. 結 果

(1) 品種間の遺伝的多様性の比較

本研究で分析した 8 集団における遺伝的多様性の尺度を表 2 に示した。AR は横斑プリマスロックと白色レグホン 2 集団で低く, チャンキー, ロードアイランドレッド, 天草大王で高い値が認められた。天草大王, チャンキーはジュリア, 横斑プリマスロックに比べて有意に高い値を示した ($P < 0.01$)。また, H_E も AR と同様の傾向が認められ天草大王, チャンキーは白色レグホン 2 集団, 横斑プリマスロックに比べて有意に高い値を示した ($P < 0.01$)。一方, H_0 は白色レグホン 2 集団でも有意差が認められ ($P < 0.01$), ハイラインはチャンキーに次いで高い値を示したのに対し, ジュリアはもっとも低い値を示した。近交係数 F_{IS} はジュリアが有意 ($P < 0.01$) かつ正の値を示し, ハイラインとチャンキーは負の値 ($P < 0.01$) を示した。天草大王と横斑プリマスロックは 5% 水準で有意な正の値を示した。

(2) 品種間の遺伝的類縁関係

D_A 系統樹 (図 1) において, 白色レグホン 2 集団は高いブートストラップ確率 (98%) で他から分かれる結果となった。白色レグホン以外の 6 品種は明確なクラスターを形成せず (ブートストラップ確率は 34~75%), 品種間の高い遺伝的分化を示すものであった。

4. 考 察

(1) 品種間の遺伝的多様性の比較

名古屋種, 熊本種, 天草大王の 3 品種の比較において, AR, H_E は天草大王が高く, 他の 2 品種には有意な差は認められなかった ($P > 0.05$)。 H_0 では天草大王は名古屋種に比べて有意に高い値を示した ($P < 0.01$)。天草大王は一度絶滅し, 現在の天草大王はランシャン, 軍鶏, 熊本コーチンから復元されたものである¹²⁾。現在の天草大王は 2000 年に熊本県農業研究センター畜産研究所で復元されて間もな

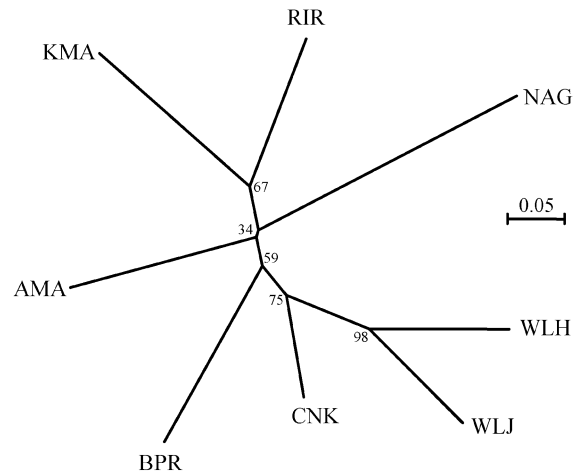


図 1 8 集団間の D_A 遺伝距離にもとづく系統樹
図中のスケールバーは D_A 遺伝距離, 分岐の数字はブートストラップ確率 (%) を示す。

いことから, 各品種由来の対立遺伝子が認められ, 多様性が高くなったものと考えられた。一方, F_{IS} は天草大王のみが有意 ($P < 0.05$) かつ正の値を示した。これは外部形態や増体量などをかつての天草大王に近づけていく過程において近親交配が進行したものと考えられた。熊本種も一時羽数が減少し, 土佐九斤を導入して復元が図られた品種である¹²⁾ が, 累進交配の結果, 多くの対立遺伝子が従来の熊本種由来のものであり, 1979 年から大規模な閉鎖群で維持されていることから, 近親交配が回避されているものと考えられた。熊本種と同じく, 少羽数から復元された会津地鶏も AR, H_0 および H_E において本研究の熊本種と同程度の値を示した¹³⁾。名古屋種も昭和 30~40 年代に数を減らしたものの, 肉用, 卵用に改良が進められ, 現在では複数の系統が試験研究機関で維持されている¹⁴⁾。そのため, 改良, 選抜の過程で多様性は低下したが, 大規模かつ系統的な飼育により, それ以上の低下と近親交配は回避されているものと考えられた。

チャンキーおよびハイラインが有意 ($P < 0.01$) かつ負の F_{IS} を示した。一方, ジュリアは有意 ($P < 0.01$) かつ正の F_{IS} を示した。このことから, 大規模飼育されている商用品種

であっても、系統や用途が異なることで近親交配の程度に差が生じたものと考えられた。本研究で用いた横斑プリマスロックが OSMAN *et al.*⁵⁾ および TADANO *et al.*⁶⁾ よりも低い多様性を示し、正の F_{IS} ($P < 0.05$) を示したのは、大学農場で小集団かつ閉鎖的に維持されていたためと考えられた。日本鶏の観賞用品種の一部は複数の小集団で維持されており、分集団間で遺伝的差異が生じていることが報告されている³⁾。商用品種では TADANO *et al.*¹⁵⁾ が名古屋種の系統間の差異を報告している。横斑プリマスロックも同様に遺伝的差異が生じている可能性があり、他系統の横斑プリマスロックとの比較が必要であると考えられた。

(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) は白色レグホンとその他の 6 品種に分かれる結果となった。白色レグホン以外の品種は、成立にコーチンが関与していることから、白色レグホンのみが分かれる結果になったものと考えられた。日本鶏の名古屋種、熊本種、天草大王は明確なクラスターを形成しなかった。これは、熊本種の成立には土佐九斤、天草大王の成立にはランシャンと軍鶏も関与しており、いずれも閉鎖群で維持されていることから、明確な遺伝的分化が生じたものと考えられた。また、OSMAN *et al.*⁵⁾ においても、熊本種と土佐九斤は本研究で用いた商用品種 4 品種と 1 つのクラスターを形成した。これらの品種の成立に関与したコーチンは他の肉用、卵肉兼用品種の成立にも関与しており¹⁶⁾、名古屋種、熊本種および天草大王と他の欧米商用品種間で明確なクラスタリングが認められなかったものと考えられた。本研究で用いた名古屋種は肉用の系統であるが、 D_A 系統樹 (図 1) では他の肉用品種とクラスターは形成しなかった。また、ロードアイランドレッドは卵用の系統を分析したが、白色レグホンとは近縁にならなかった。TADANO *et al.*¹⁷⁾ では商用品種の比較から、白色レグホンは複数の系統がひとつのクラスターを形成する一方、他の品種は系統がクラスターを形成せず、他品種と近縁になるものも認められた。これらのことから、日本鶏実用品種および欧米商用品種は、その遺伝的背景により大きく 2 群に分かれ、用途や系統によらず高い遺伝的分化を示すことが明らかとなった。

謝辞: 貴重なサンプルを提供していただきました。家畜改良センター岡崎牧場、熊本県農業研究センター畜産研究所、(株)三宅孵卵場、中村リンク(株)、日鶏食産(株)八郷牧場に厚く御礼を申し上げます。

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) 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) 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 55, 275-281.
- 4) 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 (2011) マイクロサテライト DNA 多型情報にもとづく日本鶏, 特に観賞用品種の遺伝的多様性と集団構造. 東京農業大学農学集報 56, 44-49.
- 5) 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.
- 6) TADANO R., NISHIBORI M., NAGASAKA N. and TSUDZUKI M. (2007) Assessing genetic diversity and population structure for commercial chicken lines based on forty microsatellite analyses. *Poultry Science* 86, 2301-2308.
- 7) 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.
- 8) 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/sdepart/ms-toolkit/2001'.
- 9) 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.
- 10) OHTA T. (1993) DISPAN: Genetic distance and phylogenetic analysis. Pennsylvania State University, University Park.
- 11) FELSENSTEIN J. (1993) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. University of Washington, Seattle.
- 12) 松崎正治, 山下裕昭 (2006) 熊本県のニワトリ遺伝資源. 動物遺伝資源探索調査報告 16, 39-61.
- 13) 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.
- 14) 中村明弘, 野田賢治 (2001) 愛知県における名古屋種の改良とその遺伝的特性. 動物遺伝資源探索調査報告 12, 77-97.
- 15) 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.
- 16) ROBERTS V. (1997) *British Poultry Standards*. Blackwell, Oxford.
- 17) TADANO R., NISHIBORI M., NAGASAKA N. and TSUDZUKI M. (2007) Assessing genetic diversity and population structure for commercial chicken lines based on forty microsatellite analyses. *Poultry Science* 86, 2301-2308

Genetic Diversity and Population Structure of Japanese Meat Type Chicken and Foreign Commercial Breeds Based on Microsatellite DNA Polymorphisms

By

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

(Received February 22, 2011/Accepted June 17, 2011)

Summary : Microsatellite DNA polymorphisms of three populations of Japanese meat-type chicken breed (*Nagoya*, *Kumamoto*, and *Amakusa-Daiou*) and five populations of foreign commercial breeds (two populations of White Leghorn, broiler [Chunky], Barred Plymouth Rock, and Rhode Island Red) were analyzed to determine their genetic diversity within populations and relationships among populations. Although high genetic diversity was observed in *Amakusa-Daiou*, significant inbreeding (positive F_{IS} value) was also observed. The current breed of *Amakusa-Daiou* was reconstructed from three breeds. Therefore, it is considered that their high genetic diversity was derived from those breeds. However, inbreeding also occurred during the process of reconstruction of *Amakusa-Daiou*. In contrast, inbreeding was not detected in *Nagoya* and *Kumamoto*, which have been maintained for a long time as a large-size population after reconstruction. Foreign commercial breeds showed different degrees of genetic diversity and inbreeding according to their purpose (ex. egg, meat and dual purpose), population size and strain. However, Cochin (traditional meat-type breed originally from China) contributed to most of the current meat-type chicken breeds including Japanese and foreign breeds (six breeds except White Leghorn analyzed in this study). These breeds were not included in the same cluster in phylogenetic tree analysis. The topology of this phylogenetic tree demonstrated two major genetic backgrounds and high genetic differentiation with artificial selection and process of maintaining populations subsequent to construction and reconstruction of breeds.

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

* Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University/Japanese Avian Bioresource Project Research Center, Hiroshima University (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