

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	ローシャン ジャーハン
題 目	日本の烏骨鶏の育種の研究 (Study for breeding of Japanese Silkie Fowl)
<p>烏骨鶏はその外観と行動特性において他の鶏品種と異なっており、現代では、烏骨鶏は希少で高価な品種であり、その卵も高価である。烏骨鶏は日本在来鶏の1種であり、江戸時代から日本で飼育されている。この品種はインド起源で、中国で確立されたといわれているが、その成立の過程や他の品種との遺伝的関連性については明らかではない。</p> <p>本研究では、27羽の烏骨鶏と他の鶏3品種について、ミトコンドリアのD-loop領域の全長の塩基配列を決定した。その結果、烏骨鶏において27か所の1塩基置換と4か所の1塩基挿入が発見された。烏骨鶏と他の9品種および4羽の赤色野鶏、Oka et al. (2007)で示された42のハプロタイプを用いて分子系統樹を作成したところ、分子系統樹から5つのクレードに分割することができた。烏骨鶏は5つのクレードすべてに存在しており、このことは日本の烏骨鶏は高度な遺伝変異を持っていることを示唆している。しかしながら、SLSG（佐賀県畜産試験場、白羽系統）を除く各カテゴリーの烏骨鶏は、それぞれ1つか2つのクレードにのみ属しており、5羽の黒羽の烏骨鶏はクレードAにのみ属していた。分子系統樹上における烏骨鶏の広範囲の分布は、古いアジアの品種に、特異的な形質をもつ数種の品種が交配されて烏骨鶏が形成されたことを示唆している。</p> <p>就巢性を持っているので烏骨鶏の産卵率は非常に低い。研究者たちはプロラクチンのような烏骨鶏の2番染色体に座乗している就巢性や産卵率、初産日齢に関与している候補遺伝子について報告している。そこで、マーカーアシスト選抜の効率を検討するために、候補遺伝子（プロラクチン遺伝子、バソアクティブ腸管ペプチド受容体1遺伝子、ニューロペプチドY遺伝子）のマーカーについて、大分県の選抜プログラム第5世代の烏骨鶏について遺伝子型判定を行った。その結果、すべての形質において3つの候補遺伝子マーカーの効果は有意ではなかったものの、父親の効果は全ての形質で有意 ($P < 0.01$) であった。これらの結果より、大分県の選抜プログラム第5世代の烏骨鶏における遺伝変異は大きく、今回検討した3遺伝子以外の候補遺伝子マーカーを用いた烏骨鶏の産卵率の改良の可能性が示唆された。</p>	

学 位 論 文 要 旨

氏 名	Rowshan Jahan
題 目	Study for breeding of Japanese Silkie Fowl (日本の烏骨鶏の育種の研究)

The Silkie fowl is distinct from other chicken breeds in terms of its appearance and behavioural characteristics. Now a day it is a rare and expensive breed. The egg of Silkie fowl is also expensive. It is a Japanese native breed and has inhabited Japan since before the Edo era. Although the breed is considered to have originated in India and established in China and Japan, its evolutionary history and genetic relationship with other breeds are not clear. About Silkie fowl, genetic research is very few.

In this study, we determined the mitochondrial complete D-loop nucleotide sequences of 27 Silkie fowls and three other chicken breeds. In the Silkie fowls, we found 27 sites of single nucleotide polymorphism and 4 sites of single nucleotide insertion. Phylogenetic analysis revealed that the Silkie fowls, nine other chicken breeds, four red jungle fowls and 42 haplotypes in Oka et al., (2007) were distributed in five clades. Silkie fowls belonged to five clades (A-E). These results suggest that Japanese Silkie fowls have high genetic divergence. However, all categories except SLSG (Saga Prefectural Livestock Experiment Station, white feathers) were distributed in only one or two clades, and five individuals with black feathers belonged to clade A. The Silkie fowl's wide distribution in the phylogenetic tree suggests that old Asian breeds crossed with several chicken breeds that had unusual traits to establish the Silkie fowl breed.

The egg production rate of the Silkie fowl is very low because of broodiness. Some researchers have reported that candidate genes located on chromosome 2 of the Silkie fowl, such as the prolactin gene, are related to broodiness, egg production rate, and age at first egg. To investigate the efficiency of marker-assisted selection, the markers of candidate genes (prolactin gene, vasoactive intestinal peptide receptor 1 gene, and neuropeptide Y gene) were genotyped in Silkie fowls of the 5th generation of Oita's selection program. The effect of the father was significant ($P < 0.01$) for all the traits including the egg production rate; however, the genotypic effects of the three candidate genes markers were not significant for all the traits. These results suggested that the genetic variation of Silkie fowls in Oita's selection program is high, and that the egg production rate in the Silkie fowl population can be improved.

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	ローシャン ジャーハン
審査委員	主査 佐賀大学 教授 和田 康彦
	副査 佐賀大学 教授 尾野 喜孝
	副査 鹿児島大学 教授 岡本 新
	副査 琉球大学 教授 及川 卓郎
	副査 佐賀大学 准教授 山中 賢一
審査協力者	
題目	日本の烏骨鶏の育種の研究 (Study for breeding of Japanese Silkie Fowl)
<p>烏骨鶏はその外観と行動特性において他の鶏品種と異なっており、現代では、烏骨鶏は希少で高価な品種であり、その卵も高価である。烏骨鶏は日本在来鶏の1種であり、江戸時代から日本で飼育されている。この品種はインド起源で、中国で確立されたといわれているが、その成立の過程や他の品種との遺伝的関連性については明らかではない。</p> <p>本研究では、27羽の烏骨鶏と他の鶏3品種について、ミトコンドリアのD-loop領域の全長の塩基配列を決定した。その結果、烏骨鶏において27か所の1塩基置換と4か所の1塩基挿入を検出した。烏骨鶏と他の9品種、4羽の赤色野鶏、および Oka <i>et al.</i> (2007) で示された42のハプロタイプを用いて近隣結合法で分子系統樹を作成したところ、分子系統樹全体を5つのクレードに分割することができた。烏骨鶏は5つのクレードすべてに存在しており、このことは日本の烏骨鶏は極めて高い遺伝変異を持っていることを示唆している。ただし、SLSG（佐賀県畜産試験場、白羽系統）を除く各カテゴリーの烏骨鶏は、それぞれ1つか2つのクレード</p>	

ドにのみ属しており、5羽の黒羽の烏骨鶏はクレードAに属していた。ミトコンドリアD-Loopの塩基配列を用いた分子系統樹上における烏骨鶏の広範囲の分布は、古いアジアの品種に、特異的な形質をもつ数種の品種が交配されて烏骨鶏が形成されたことを示唆している。

また、就巢性を持っているので烏骨鶏の産卵率は非常に低い。研究者たちはプロラクチンのような烏骨鶏の2番染色体に座乗している就巢性や産卵率、初産日齢に関与している候補遺伝子（プロラクチン遺伝子、バソアクティブ腸管ペプチド受容体1遺伝子、ニューロペプチドY遺伝子）のDNAマーカーについて報告している（Cui *et al.* (2006)、Zhou *et al.* (2008)、Xu *et al.* (2011)）。そこで、これらの候補遺伝子を用いた改良の可能性について検討するために、大分県の選抜プログラム第5世代の烏骨鶏の雌200羽について遺伝子型判定を行い、発育や産卵率などの生産形質との関連性について検討した。その結果、50日齢体重、100日齢体重、150日齢体重、300日齢体重、450日齢体重、151-300日産卵率、平均卵殻強度のすべての形質で父鶏の効果が1%水準で有意であった。分散分析での父鶏の効果が有意であることから、今回の材料に用いた大分県の烏骨鶏選抜集団においては、産卵率の遺伝変異が残っており、さらなる選抜の可能性があることが示唆された。

一方、プロラクチン遺伝子、バソアクティブ腸管ペプチド受容体1遺伝子、ニューロペプチドY遺伝子の2番染色体上の3遺伝子の遺伝子型の効果は、全ての形質で有意ではなかった。また、産卵率に対する選抜を加えているにも関わらず、ハーディー・ワインベルク平衡に達しており、これらの座位に関してはランダムに交配されていると考えられることから、少なくとも本選抜集団では産卵率に関与していないのではないかと考えられた。今後は、産卵率のQTLが検出された領域を中心に、さらなる候補遺伝子の検討が必要と考えられた。

以上のように、本研究は日本の烏骨鶏集団について初めて遺伝的構造について検討し、生産形質と候補遺伝子との関連性を解析したもので、その研究成果は、烏骨鶏の改良において重要な知見であると評価できる。よって、審査員一同は、本論文は博士（農学）の学位論文として十分に価値あるものと判定した。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏 名	ローシャン ジャーハン
審査委員	主査 佐賀大学 教授 和田 康彦
	副査 佐賀大学 教授 尾野 喜孝
	副査 鹿児島大学 教授 岡本 新
	副査 琉球大学 教授 及川 卓郎
	副査 佐賀大学 准教授 山中 賢一
審査協力者	
実施年月日	平成 25 年 1 月 10 日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答 <input type="radio"/> 筆答	
<p>主査及び副査は、平成 25 年 1 月 10 日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士 (農学) の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者
氏名

ローシャン ジャーハン

〔質問1〕烏骨鶏の起源はインドという説もあるが、インドの隣国であるバングラディッシュには烏骨鶏のようなニワトリは飼育されているか？

〔回答1〕烏骨鶏のようなニワトリはバングラディッシュでは飼育されていない。

〔質問2〕烏骨鶏は多くの特徴的な外観を持っているが、このような形質はいつごろ烏骨鶏に付与されたと考えられるか？

〔回答2〕詳細は不明であるが、中国の明代の漢方書には烏骨鶏の記載があることから、そのころまでには特徴的な外観が付与されたと考えられる。

〔質問3〕分子系統樹の分析から一部の日本の烏骨鶏は他のニワトリの品種と交雑されているのではないかと考察されているが、交雑されたのであれば、烏骨鶏の外観形質の一部だけを持った交雑種が日本にいてもおかしくないのではないか？

〔回答3〕烏骨鶏は特徴的な外観を持っているがゆえに、交雑により中途半端な外観を持つ個体が出現しても、すぐに淘汰されたのではないかと考えている。

〔質問4〕ミトコンドリアは母性遺伝であり、ミトコンドリアDNAを用いた分子系統樹の解析は、ニワトリの系統解析にはふさわしくないのではないか？

〔回答4〕ミトコンドリアのD-loop領域は進化速度も速く、進化に中立なので、本研究で使用した。今後は、ゲノムDNAについても検討する必要があると考えている。

〔質問5〕2番染色体上の遺伝子に関するDNAマーカーにおいてヘテロ接合体頻度が低いものが見られる。ヘテロ接合体頻度が低いと、遺伝子と生産形質との関連性を検討するには不十分ではないのか？

〔回答5〕VIPRIにおいてヘテロ接合体頻度が非常に低く、今後、VIPRI周辺に他のDNAマーカーを追加して、再検討したいと考えている。

〔質問6〕候補遺伝子と生産形質との関連性について、以前の研究で関連性が認められていたのに、今回、関連性が認められなかったのは何故か？ また、今回使用した烏骨鶏は選抜集団であり、選抜による影響はないのか？

〔解答6〕候補遺伝子と生産形質との関連性について、以前の研究の結果と今回の結果が異なっているのは、ひとつには中国と日本とで烏骨鶏の集団が異なるからだと考えられる。選抜前の集団についてのDNAサンプルがないので、選抜の影響について検討することはできないが、選抜によって、今回、検討した候補遺伝子における遺伝変異が減少し、生産形質との関連性が統計的に認められなかった可能性は否定できない。

〔質問7〕同じ県でも白羽の烏骨鶏と黒羽の烏骨鶏で分子系統樹上での位置が異なっているが、これらは別々に飼育されているのか？

〔回答7〕青森県と三重県において、白羽の烏骨鶏と黒羽の烏骨鶏は別系統として飼育されており、遺伝的に異なる集団と考えられる。

〔質問8〕今回、検討された遺伝子以外に産卵率などの形質に関与している遺伝子があるとのことだが、他の候補遺伝子としては、どのようなものを考えているか？

〔回答8〕Z染色体に座乗しているプロラクチン受容体遺伝子などについて、今後、同様の研究をしていきたいと考えている。