

## 夜間における青色照明の点灯がブロイラーの行動, 時計遺伝子発現, 及び視床下部-下垂体-副腎皮質軸に及ぼす影響

平本大地・本田和久・近藤 真・實安隆興・上曾山博

神戸大学大学院農学研究科, 神戸市 657-8501

本研究では, ブロイラー生産においてよく用いられる 23 時間明期 1 時間暗期の明暗条件下における夜間約半日の青色照明の点灯が, ブロイラーの移動回数, 時計遺伝子発現, 及び視床下部-下垂体-副腎皮質 (HPA) 軸の日内変動に及ぼす影響について調べた。1 日齢のブロイラー雄ヒナ (Ross308) を, 0 時から 23 時までは白色照明を点灯し, 23 時から 0 時の間は消灯する 23 時間明期 1 時間暗期の照明条件 (以下, 23 時間照明区), 或いは 0 時から 6 時までは青色照明を, 6 時から 18 時までは白色照明を, 18 時から 23 時までは再び青色照明をそれぞれ点灯し, 23 時から 0 時までは消灯する照明条件 (以下, 青色照明導入区) の何れかで飼育し, 13 日齢から 14 日齢にかけて, 行動, 時計遺伝子の発現, 及び HPA 軸関連因子の解析を行った。23 時間照明区では, 明期の後半に, 移動回数の有意な増加が見られたが, 青色照明導入区においては 24 時間を通して有意な変化は見られなかった。時計遺伝子のうち, Bmal1 及び Cry1 の mRNA 量は, 青色照明点灯期間中有意に減少したが, 23 時間照明区においては同様の変化は見られなかった。一方, Per3 の mRNA 量は, 両試験区共に 21 時から 3 時にかけて有意に増加した後, 減少するという同様の変化を示した。間脳の副腎皮質刺激ホルモン放出因子の mRNA 量は, 両試験区共に 18 時以降に増加する傾向を示した。血中コルチコステロン濃度は, 23 時間照明区においては 21 時から 3 時にかけて有意な低下を示したが, 青色照明導入区においては有意な変化は見られなかった。これらの結果から, 照明色の変化によって, ニワトリの行動, 時計遺伝子発現の概日リズム, 及び血中コルチコステロン濃度を制御できる可能性が示された。

キーワード: ブロイラー, 青色, 時計遺伝子, 概日リズム

### 緒 言

照明を常時点灯することによって, ニワトリは 1 日中飼料を摂取することができる。それ故, 鶏肉生産用に改良されたブロイラーにおいては, 産肉量の増加を目的として, 終日点灯, 或いはそれに近い条件下で飼育されることが多い。しかしながら, 明期の時間が長い方が体重や産肉量が増加する (Renden *et al.*, 1993; Sorensen *et al.*, 1999; Brickett *et al.*, 2007b; Yang *et al.*, 2015) とされる一方で, 終日点灯に近い条件下における飼育は, 突然死や脚弱等による生産性の低下を引き起こすことも報告されている。例えば, 明期が 14 時間から 23 時間に増加するに伴い, 突然死, 腹水症, 或いは感染症等による淘汰率が上昇すること (Schwean-Lardner *et al.*, 2013; 2016), 及び 20 時間明 4 時間暗の明暗条件下で飼育されたブロイラーは, 12 時間の明暗条件下で飼育されたブロイラーより歩行能力が劣ること (Brickett *et al.*, 2007a) が報告されている。2016 年に改訂された「アニマルウェルフェアの考え

方に対応した肉用鶏の飼養管理指針 (改訂版)」においても, ニワトリの休息やストレス低減, 脚の健康強化等の点から一定時間の暗期を設けることが推奨されている。しかしながら, 各国, 或いは種々の機関で推奨されている照明の点灯時間は一様ではない (Parvin *et al.*, 2014)。すなわち, 家禽産業においては, ブロイラーの産肉量の増加と生存率低下の抑制を両立させる照明プログラムの開発が, 未だ重要な課題となっている。

哺乳類においては, 明暗周期によって制御される時計遺伝子の発現の概日リズムの破綻が種々の代謝異常を引き起こすことが示唆されている (Bass and Lazar, 2016; Panda, 2016)。ここで, 時計遺伝子による概日リズムの形成には, Brain and Muscle Arnt-Like protein (Bmal), Circadian Locomotor Output Cycles Kaput (CLOCK), Period (Per), 及び Cryptochrome (Cry) が重要な役割を果たす。すなわち, Bmal と CLOCK による Per と Cry の転写促進と, Per と Cry による Bmal と CLOCK の転写活性抑制によるネガティブフィードバックが, 約 24 時間周期で繰り返されることによって概日リズムが形成され, それに応じて, 代謝 (Panda, 2016), 疾病 (Bass and Lazar, 2016), 睡眠 (Musiek and Holtzman, 2016) 及び免疫応答 (Man *et al.*, 2016) 等が制御されるとされている。ニワトリにおいても, 12 時間の明暗条件下においては, Bmal1, Cry1, 及び Per3 の遺伝子発現が, 脳, 肝臓, 及び心臓で概日リズムを刻むことが報告されている (Karaganis *et al.*,

2017 年 7 月 10 日受付, 2017 年 8 月 3 日受理  
連絡者: 本田和久  
〒657-8501 兵庫県神戸市灘区六甲台町 1-1  
Tel: 078-803-5809  
Fax: 078-803-5809  
E-mail: honda@tiger.kobe-u.ac.jp

2009)。最近、我々は、24 時間白色点灯条件下で飼育したブロイラーにおいては、12 時間の明暗周期で飼育されたブロイラーにおいて見られる時計遺伝子 (Bmal1, Cry1, 及び Per3) の発現の変動が見られないが、12 時間白色照明点灯 12 時間青色照明点灯条件下で飼育した個体では、12 時間の明暗周期で飼育されたブロイラーと同様の時計遺伝子の発現変動が認められるようになることを見出した (Honda *et al.*, 2017)。これらの結果から、終日点灯に近い条件下で飼育されたブロイラーにおける種々の代謝異常の増加に、時計遺伝子発現の概日リズムの破綻が関与している可能性、及び照明の色や点灯時間を工夫することによって、時計遺伝子発現の概日リズムが制御できる可能性が示された。

本研究では、ブロイラー生産においてよく用いられる 23 時間明期 1 時間暗期の明暗条件下における夜間約半日の青色照明の点灯が、ブロイラーの、時計遺伝子発現、活動性、及び種々の代謝並びに免疫応答に関与する視床下部-下垂体-副腎皮質 (HPA) 軸に及ぼす影響について調べた。

## 材 料 と 方 法

### 1. 供試動物及び飼育方法

1 日齢のブロイラー雄ヒナ (Ross308, 石井養鶏農業協同組合, 徳島市) を無作為に 6 羽ずつ大鋸屑を敷いた 90 cm×90 cm の区画に入れ、市販飼料 (スターター K, CP23.0% 以上, ME3,100 kcal/kg 以上, 西日本くみあい飼料株式会社, 神戸市) と水を自由に摂取させた。室温はカーボンヒーターを用いて大鋸屑上で 25~30℃ になるよう調整した。ニワトリは、0 時から 23 時までは白色蛍光灯 (エルパボール 40W 型, 朝日電器株式会社, 大阪府大東市) を点灯し、23 時から 0 時までは消灯する 23 時間明 1 時間暗の照明条件 (以下, 23 時間照明区) 或いは 0 時から 6 時までは青色 LED 照明 (波長 450-480 nm, 日本フネン株式会社, 徳島市) を、6 時から 18 時までは白色蛍光灯を、18 時から 23 時までは再び青色 LED 照明をそれぞれ点灯し、23 時から 0 時までは消灯する照明条件 (以下, 青色照明導入区) の何れかで飼育した。照明はいずれも床面より垂直に約 140 cm の位置に取り付け、外部からの光は完全に遮断した。各照明の直下の床面における照度は、いずれの照明下においても約 26 lux になるよう調整した。なお、本実験は、神戸大学動物実験実施規則に従い実験動物委員会が審

査・承認され、学長に許可されて行われたものである。

### 2. 行動解析

23 時間照明区 (6 羽×3 区画) 及び青色照明導入区 (6 羽×3 区画) のヒナの行動を、13 から 14 日齢にかけてビデオカメラ (Time Lapse Camera TLC200 Pro, 株式会社パイコム, 東京都) に録画した。その後、13 日齢時の 12, 13, 15, 17, 19, 及び 21 時、並びに 14 日齢時の 3, 5, 7, 9, 及び 11 時から 5 分間、移動回数を測定し、3 区画の平均値の経時変化を比較した。

### 3. 採血及び間脳の摘出

23 時間照明区 (6 羽×6 区画) 及び青色照明導入区 (6 羽×6 区画) のヒナを、13 日齢の 12, 17, 21 時, 14 日齢の 3, 7, 及び 12 時に、各照明区 1 区画分の 6 羽を断頭により安楽死させた。頸動脈より得られた血液 1 ml に対して 0.1 ml の血液凝固防止剤 (16.7 mg/ml EDTA2Na) を加え、転倒混和後、3,000 rpm で 10 分間、室温で遠心分離し、血漿を -80℃ で保存した。また、速やかに間脳を摘出し、1 ml の RNAlater® (シグマアルドリッチジャパン合同会社, 東京都) に浸漬し、4℃ で保存した。なお、間脳は脳地図 (Kuenzel and Masson, 1988) に示される Tractus septomesencephalicus (TSM), Nervous oculomotorius (NIII), 及び先行研究 (Chowdhury *et al.*, 2014) の Fig. 1 を指標として切り出した。

### 4. 遺伝子発現の解析

間脳の総 RNA をセパゾール (ナカライテスク株式会社, 京都市) とポリトロンを用いてホモジナイズ後、メーカーのプロトコールに従い抽出し、Rever Tra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover Kit (東洋紡績株式会社, 大阪市) を用いて cDNA を調製した。PIKO REAL™ 96 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific), SYBR® Premix Ex Taq (タカラバイオ株式会社, 滋賀県草津市) 及び標的遺伝子に特異的なプライマーを用いてリアルタイム PCR 解析を行った。内部標準遺伝子にはリボソームタンパク質 S17 を用いた。標的遺伝子の標準液の任意の濃度と Ct 値から作成された検量線から求められた値を、同様の方法で求められた内部標準遺伝子の値で除して補正した任意の値を各標的遺伝子の mRNA 量とした。PCR 解析に用いたプライマーの塩基配列は表 1 に示した。

### 5. 血中コルチコステロン濃度の測定

コルチコステロン濃度は AssayMax Corticosterone ELISA Kit

表 1. リアルタイム PCR に用いたプライマーの塩基配列

| 標的遺伝子 | Accession number | 塩基配列    |                                         |
|-------|------------------|---------|-----------------------------------------|
| Bmal1 | AF205219         | Forward | 5'-CGG CTG CAT CCT CAT GTA GTA C-3'     |
|       |                  | Reverse | 5'-CTC TGT AGG TTT CAC CCT GAT CTC A-3' |
| Cry1  | NM_204245        | Forward | 5'- CTC ATG GAG ACA ATC AGC AAT CAC-3'  |
|       |                  | Reverse | 5'-CGC TAA TGC CAG TAC CAA GAG A-3'     |
| Per3  | NM_001289779     | Forward | 5'-CCT TGG TAG CAG TGG TTC TTA TGA-3'   |
|       |                  | Reverse | 5'-GCA GTT CCC ATT GGA GTC ACT T-3'     |
| CRF   | AJ621492         | Forward | 5'-CTC CCT GGA CCT GAC TTT-3'           |
|       |                  | Reverse | 5'-CCT CAC TTC CCG ATG ATT-3'           |
| RPS17 | NM204217         | Forward | 5'-GCG GGT GAT CAT CGA GAA GT-3'        |
|       |                  | Reverse | 5'-GCG CTT GTT GGT GTG GAA GT-3'        |

(Assaypro, アメリカ合衆国, ミズーリ州) を用いて測定した。

## 6. 統計処理

各照明区における測定時刻間の比較は Tukey-Kramer 法により, 各測定時刻における照明区間の比較はスチューデントの  $t$  検定により, それぞれ危険率 5% で検定した。

## 結 果

### 1. 青色照明が移動回数に及ぼす影響

23 時間照明区では, 明期の後半である 15 時及び 21 時に, 移動回数の有意な増加が見られたが, 青色照明導入区においては 24 時間を通して有意な変化は見られなかった (図 1A 及び B)。また, 青色照明導入区における 21 時の移動回数は, 23 時間照明区の同時刻のそれに比べて有意に低い値を示した (図 1C)。これらの結果から, 夜間の照明を青色に変えることによって, ブロイラーが鎮静化することが示唆された。

### 2. 青色照明が間脳時計遺伝子発現に及ぼす影響

時計遺伝子のうち, Bmal1 及び Cry1 の mRNA 量は夜間の青色照明点灯中に有意に減少し, その後増加したが, 23 時間照明区においては同様の変化は見られなかった (図 2)。一方, Per3 の mRNA 量は, 両試験区共に 21 時から 3 時にかけて有意に増加した後, 減少した (図 2)。また, 各測定時刻で両照明区の値を比較した結果, 全ての時計遺伝子について有意な増加, 或いは減少が認められた (図 3)。これらの結果から, 照明条件の違いが時計遺伝子発現の変化に及ぼす影響は, 時計遺伝子によって異なることが明らかになった。

### 3. 青色照明が視床下部-下垂体-副腎皮質 (HPA) 軸に及ぼす影響

間脳の副腎皮質刺激ホルモン放出因子 (CRF) の mRNA 量は, 両試験区共に 18 時以降に増加する傾向を示した (図 3)。血中コルチコステロン濃度は, 23 時間照明区においては 21 時から 3 時にかけて有意な低下を示したが, 青色照明導入区においては有意な変化は見られなかった。なお, 同じ測定時刻における間脳 CRF の mRNA 量, 及び血中コルチコステロン濃度の値を, それぞれ照明区間で比較した結果, 有意な差は認められなかった。これらの結果から, 照明色或いは照明時間の違いは HPA 軸に影響を及ぼすことが示唆された。

## 考 察

図 1 に示した通り, 白色照明区においては, 暗期前に移動回数の有意な増加が見られたが, 青色照明導入区においては, 24 時間を通して移動回数に有意な変化は見られなかった。青色と緑色の照明は, 赤色と白色の照明に比べてブロイラーを鎮静化させることが報告されている (Prayitno *et al.*, 1997)。それ故, 暗期前の移動回数の減少は, 青色照明が有する鎮静化効果によるものと考えられた。一般に, 肉用鶏生産においては尻つきなどの悪癖を含む敵対行動を抑制することが望ましいとされている。それ故, 今後, 青色照明の導入によるニワトリの鎮静化によって, 敵対行動等が改善される可能性について明らかにする必要があると考えられた。

我々は, 12 時間白色照明 12 時間青色照明点灯条件下で飼育し

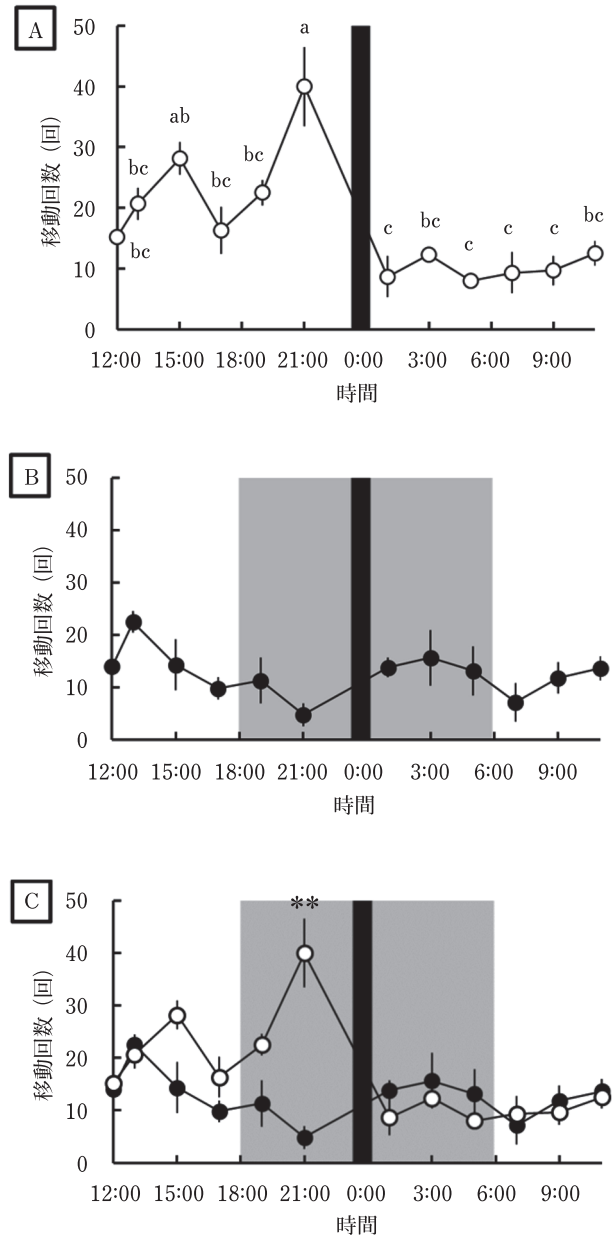


図 1. 青色照明の導入がブロイラーの移動回数に及ぼす影響

白丸は 23 時間照明区, 黒丸は青色照明導入区の値を示し, 黒色領域は暗期を, 灰色領域は青色照明導入区における青色照明点灯期間を示す。データは平均値 ± 標準誤差を示す ( $n=3$ )。 (A) 23 時間照明区における移動回数の掲示的变化。異なるアルファベットは危険率 5% 未満で有意差が有ることを示す。 (B) 青色照明導入区における移動回数の経時的変化。 (C) 23 時間照明区と青色照明導入区との移動回数の比較。 \*\* は危険率 1% 未満で同時刻における両試験区の値に有意差が有ることを示す。

たブロイラーは, 終日飼料を摂取することを報告している (Honda *et al.*, 2017)。更に, 今回, 青色照明が点灯している時間

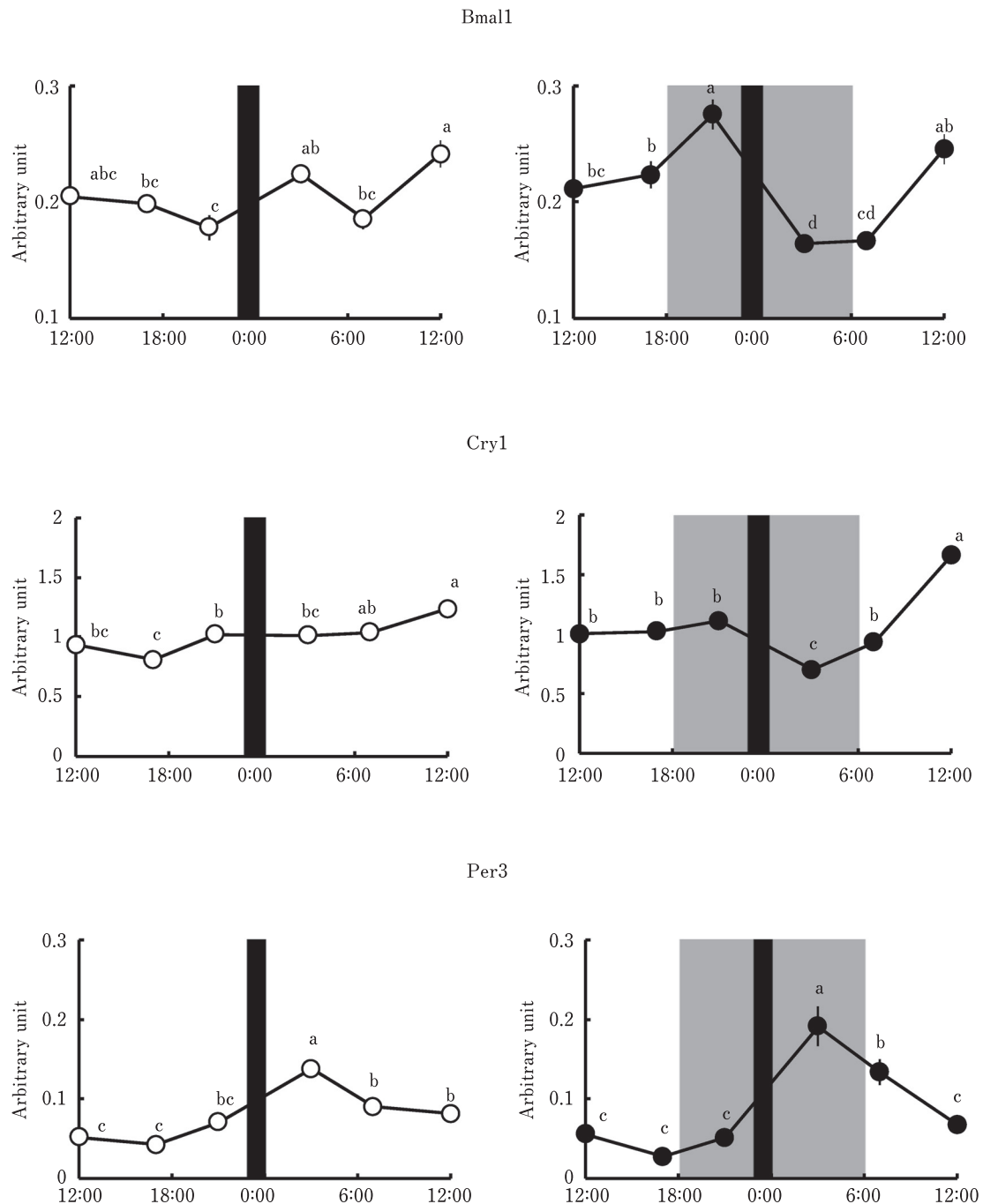


図 2. 青色照明の導入がプロイラーの間脳時計遺伝子群 (Bmal1, Cry1, 及び Per3) mRNA 量に及ぼす影響  
 図の黒色領域は暗期を, 灰色領域は青色照明点灯期間を示す。データは平均値±標準誤差を示す ( $n=6$ )。異なる符号は危険率 5% 未満で有意差が有ることを示す。

帯においても, プロイラーは移動行動を取り続けていることが明らかにされた。それ故, プロイラーの行動は鎮静化しているものの, 完全な睡眠状態にはないと判断されることから, 十分な休息時間が取られているかどうかは不明である。今後, 睡眠を含む十分な休息と飼料摂取量の増加による生産性向上の両立を可能とす

る白色照明, 青色照明, 及び消灯の時間の最適割合について検討する必要があるかもしれない。

我々は, 12 時間白色 12 時間青色の照明条件下で飼育したプロイラーの間脳においては, Bmal1 及び Cry1 の mRNA 量が青色照明点灯の間に減少する一方で, Per3 の mRNA 量は逆に増加す



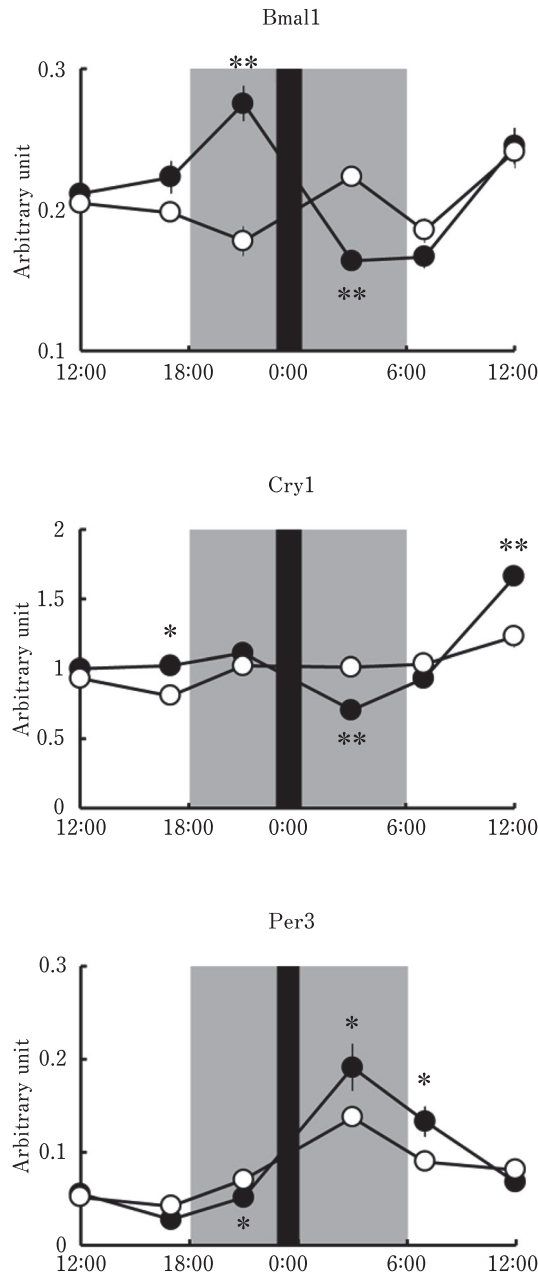


図 3. 青色照明の導入がブロイラーの間脳時計遺伝子群 (Bmal1, Cry1, 及び Per3) mRNA 量に及ぼす影響の各測定時刻における比較  
図の黒色領域は暗期を、灰色領域は青色照明点灯期間を示す。データは平均値±標準誤差を示す ( $n=6$ )。\*は危険率 5% 未満で、\*\*は危険率 1% 未満で、それぞれ有意差が有ることを示す。

ること、これらの変化は、12 時間の明暗周期で飼育されたブロイラーにおいても同様であることを報告している (Honda *et al.*, 2017)。本研究においても、青色照明導入区において同様の発現変動が認められたが、23 時間照明区においては Bmal1 の mRNA 量には大きな変動は見られず、Cry1 の mRNA 量の変動も青色照

明導入区のそれとは異なるものであった。これらの結果から、23 時間白色照明区では時計遺伝子の発現リズムが乱れるが、青色照明の導入によってこれらの遺伝子の発現リズムが維持される可能性が示された。

間脳 Per3 の mRNA は、夕刻から未明にかけて両試験区共に有意に増加した (図 2)。この原因については不明であるが、マウスの視床下部視交叉上核 (SCN) においては、Per3 の遺伝子発現は照明非依存的にも制御されることが示唆されている (Takumi *et al.*, 1998)。ニホンウズラにおいても、間脳の SCN における Per3 の mRNA 量の変動は、16 時間明期 8 時間暗期と 8 時間明期 16 時間暗期の照明条件下で差が無いことが報告されている (Yasuo *et al.*, 2003)。更に、Per3 欠損マウスにおいては、活動性が高まり、睡眠時間が短縮することから、Per3 遺伝子は活動性、並びに睡眠の恒常性と関連することが示唆されている (Hasan *et al.*, 2011)。一般に、ニワトリは暗期においては活動せず、場合によっては睡眠をとる。それ故、23 時間照明区における Per3 の遺伝子発現の概日リズム形成と、1 時間の暗期の導入に基づく活動量の減少や睡眠の誘導との間に何らかの関連性があるのかもしれない。今後、ニワトリの活動量、或いは睡眠が Per3 遺伝子の発現に及ぼす影響について明らかにする必要があると考えられた。

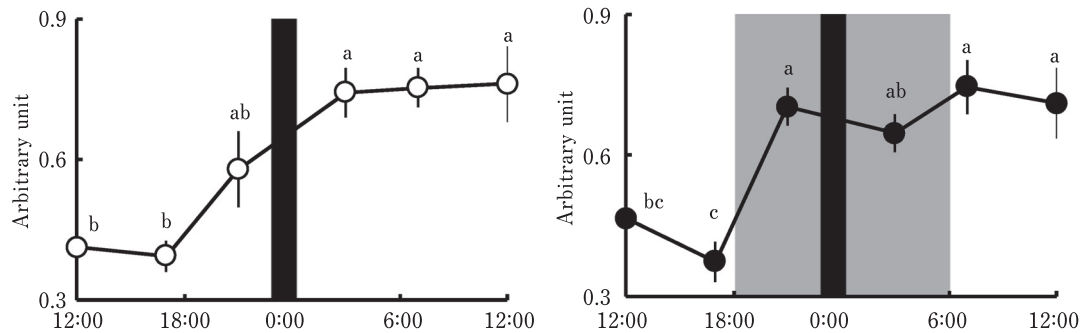
12 時間の明暗周期で飼育されたニワトリヒナにおいては、暗期から明期に変わる時点で血中コルチコステロン濃度が一時的に上昇するが、23 時間明 1 時間暗の明暗周期で飼育された場合には、暗期から明期に変わる時点でむしろ一時的に低下することが報告されている (Lauber *et al.*, 1987)。本研究の 23 時間照明区においても、血中コルチコステロン濃度は暗期後に一時的な低下を示した。しかしながら、青色照明導入区においては有意な変化は見られなかった。また、HPA 軸を介して血中コルチコステロン濃度を制御するとされる CRF の mRNA 量は、両試験区間で同様の変化を示した。これらの結果から、照明色或いは照明時間の違いは HPA 軸非依存的に、血中コルチコステロン濃度に影響を及ぼすことが示唆された。ニワトリにおいては、コルチコステロンは骨格筋タンパク質の分解や体脂肪蓄積を誘導するホルモンとされている (Scanes, 2009)。それ故、照明色とその点灯時間を工夫することによって、血中コルチコステロン濃度を低く制御することができれば、鶏肉生産にとって望ましいと判断される。

本研究の結果から、照明色の変化によって、ニワトリの行動、時計遺伝子発現の概日リズム、及び血中コルチコステロン濃度を制御できる可能性が示された。ニワトリの敵対行動の増加や時計遺伝子発現の概日リズムの破綻、さらには血中コルチコステロン濃度の上昇は、肉用鶏の産肉量や生存率に悪影響を及ぼす可能性が高いと判断される。それ故、今後は照明色とその点灯時間の調整によって鶏肉の生産性向上を可能とする照明プログラムの開発が課題になると判断された。

## 謝 辞

本研究は農研機構生研センター「攻めの農林水産業の実現に向けた革新的技術緊急展開事業」において行われた。

## CRF



## コルチコステロン

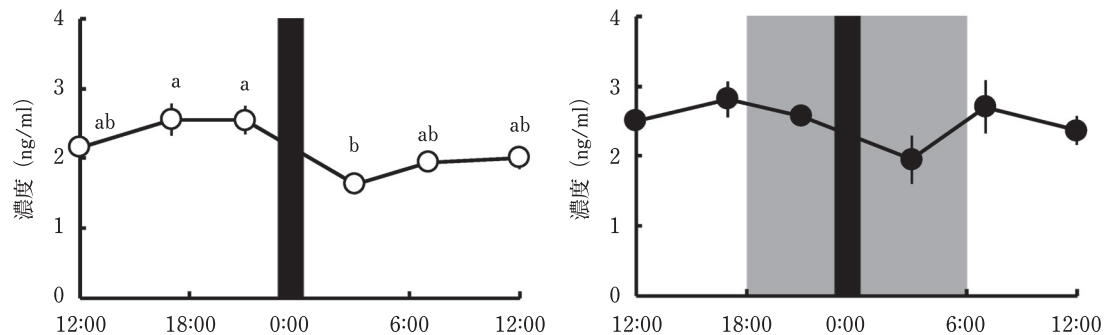


図 4. 青色照明の導入がブロイラーの視床下部副腎皮質刺激ホルモン放出因子 (CRF) の mRNA 量及び血漿コルチコステロン濃度に及ぼす影響  
図の黒色領域は暗期を、灰色領域は青色照明点灯期間を示す。データは平均値±標準誤差を示す ( $n=6$ )。異なる符号は危険率 5% 未満で有意差が有ることを示す。

## 引用文献

- Bass J and Lazar M. Circadian time signatures of fitness and disease. *Science*, 354 : 994-999. 2016.
- Brickett KE, Dahiya JP, Classen HL, Annett CB and Gomis S. The impact of nutrient density, feed form, and photoperiod on the walking ability and skeletal quality of broiler chickens. *Poultry Science*, 86 : 2117-2125. 2007a.
- Brickett KE, Dahiya JP, Classen HL and Gomis S. Influence of dietary nutrient density, feed form, and lighting on growth and meat yield of broiler chickens. *Poultry Science*, 86 : 2172-2181. 2007b.
- Chowdhury VS, Tomonaga S, Ikegami T, Erwan E, Ito K, Cockrem JF and Furuse M. Oxidative damage and brain concentrations of free amino acid in chicks exposed to high ambient temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A : Molecular and Integrative Physiology*, 169 : 70-76. 2014.
- Girotti M, Weinberg MS and Spencer RL. Diurnal expression of functional and clock-related genes throughout the rat HPA axis: system-wide shifts in response to a restricted feeding schedule. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 296 : E888-E897. 2009.
- Griffett K and Burris TP. The mammalian clock and chronopharmacology. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23 : 1929-1934. 2013.
- Hasan S, van der Veen DR, Winsky-Sommerer R, Dijk DJ and Archer SN. Altered sleep and behavioral activity phenotypes in PER3-deficient mice. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 301 : R1821-R1830. 2011.
- Honda K, Kondo M, Hiramoto D, Saneyasu T and Kamisoyama H. Effects of continuous white light and 12 h white-12 h blue light-cycles on the expression of clock genes in diencephalon, liver, and skeletal muscle in chicks. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Molecular & Integrative Physiology*, 207 : 73-78. 2017.
- Karaganis SP, Bartell PA, Shende VR, Moore AF and Cassone VM. Modulation of metabolic and clock gene mRNA rhythms

- by pineal and retinal circadian oscillators. *General and Comparative Endocrinology*, 161 : 179–192. 2009.
- Kuenzel W and Masson M. *A Stereotaxic Atlas of the Brain of the Chick (Gallus domesticus)*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, 1988.
- 公益社団法人畜産技術協会. アニマルウェルフェアの考え方に対応した肉用鶏の飼養管理指針 (改訂版). 東京. 2016.
- 神戸大学動物実験実施規則. <http://www.kobe-u.ac.jp/documents/research/system/animal-experiments/regulations-animal-experiments.pdf>
- Laubert JK, Vriend J and Oishi T. Plasma corticosterone in chicks reared under several lighting. *Comparative Biochemistry and Physiology A, Comparative Physiology*, 86 : 73–78. 1987.
- Man K, Loudon A and Chawla A. Immunity around the clock. *Science*, 354 : 999–1003. 2016.
- Musiek ES and Holtzman DM. Mechanisms linking circadian clocks, sleep, and neurodegeneration. *Science*, 354 : 1004–1008. 2016.
- Panda S. Circadian physiology of metabolism. *Science*, 354 : 1008–1015. 2016.
- Parvin R, Mushtaq MMH, Kim MJ and Choi HC. Light emitting diode (LED) as a source of monochromatic light : a novel lighting approach for behaviour, physiology and welfare of poultry. *World's Poultry Science Journal*, 70 : 543–556. 2014.
- Prayitno DS, Phillips CJ and Omed H. The effects of color of lighting on the behavior and production of meat chickens. *Poultry Science*, 76 : 452–457. 1997.
- Renden JA, Bilgili SF and Kincaid SA. Comparison of restricted and increasing light programs for male broiler performance and carcass yield. *Poultry Science*, 72 : 378–382. 1993.
- Scanes GC. Perspectives on the endocrinology of poultry growth and metabolism. *General and Comparative Endocrinology*, 163 : 24–32. 2009.
- Schwean-Lardner K, Fancher BI, Gomis S, Van Kessel A, Dalal S and Classen HL. Effect of day length on cause of mortality, leg health, and ocular health in broilers. *Poultry Science*, 92 : 1–11. 2013.
- Schwean-Lardner K, Vermette C, Leis M and Classen HL. Basing Turkey Lighting Programs on Broiler Research : A Good Idea? A Comparison of 18 Daylength Effects on Broiler and Turkey Welfare. *Animals*, 6 : 27. 2016.
- Sørensen P, Su G and Kestin SC. The effect of photoperiod : scotoperiod on leg weakness in broiler chickens. *Poultry Science*, 78 : 336–342. 1999.
- Tachibana and Tsutsui. Neuropeptide control of feeding behavior in birds and its difference with mammals. *Frontiers in Neuroscience*, 10 : 485. 2016.
- Takumi T, Taguchi K, Miyake S, Sakakida Y, Takashima N, Matsubara C, Maebayashi Y, Okumura K, Takekida S, Yamamoto S, Yagita K, Yan L, Young MW and Okamura H. A light-independent oscillatory gene mPer3 in mouse SCN and OVLT. *EMBO Journal*, 17 : 4753–4759. 1998.
- Yasuo S, Watanabe M, Okabayashi N, Ebihara S and Yoshimura T. Circadian clock genes and photoperiodism : Comprehensive analysis of clock gene expression in the mediobasal hypothalamus, the suprachiasmatic nucleus, and the pineal gland of Japanese Quail under various light schedules. *Endocrinology*, 144 : 3742–3748. 2003.
- Yang YF, Jin SF, Zhong ZT, Yu YH, Yang B, Yuan HB and Pan JM. Growth responses of broiler chickens to different periods of artificial light. *Journal of Animal Science*, 93 : 767–775. 2015.

## Effects of Blue Light at Night on Behavior, Expression of Clock Genes, and the Hypothalamus-pituitary-adrenal-axis in Broiler Chicks

Daichi Hiramoto, Kazuhisa Honda, Makoto Kondo, Takaoki Saneyasu and Hiroshi Kamisoyama

Graduate School of Agricultural Science, Kobe University, Kobe 657-8501, Japan

In the present study, the effects of blue light at night on behavior, expression of clock genes, and the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis in broiler chicks were examined. One day old broiler chicks (Ross308) were maintained under 23 h light-1 h dark cycles (23L1D group) or 12 h light-5 h blue light-1 h dark-6 h blue light cycles (BL group) for 13 days. Significant changes were observed in the number of locomotions from 13 to 14 days of age in the 23L1D group, but not in the BL group. The mRNA levels of Bmal1 and Cry1 showed different changes between groups, whereas the mRNA levels of Per3 changed in a similar manner between groups. The mRNA levels of corticotropin-releasing factor in the diencephalon tended to increase after 18 : 00 in both groups. Plasma corticosterone concentrations were significantly changed in the 23L1D group, but not in the BL group. These results suggest that a change in light color can be used to regulate behavior, circadian changes in the expression of clock genes, and the plasma corticosterone concentration in broiler chicks.

(*Japanese Journal of Poultry Science*, 54 : J37–J43, 2017)

**Key words** : blue light, broiler, circadian rhythm, clock gene