

## 羽性遺伝子型の違いによる名古屋種雄の羽性形質の特徴

中村明弘<sup>1</sup>・神作宜男<sup>2</sup>・近藤 一<sup>1</sup>・野田賢治<sup>1</sup><sup>1</sup> 愛知県農業総合試験場畜産研究部, 愛知県愛知郡長久手町岩作 480-1193<sup>2</sup> 麻布大学獣医学部, 神奈川県相模原市中央区淵野辺 252-5201

本研究は名古屋種雄における遅羽性 ( $K$ ) および速羽性 ( $k^+$ ) 遺伝子が育成期の羽根の伸長に及ぼす影響を明らかにするため、遅羽性・ホモ接合体 ( $K/K$ ), 遅羽性・ヘテロ接合体 ( $K/k^+$ ) および速羽性 ( $k^+/k^+$ ) の遺伝子型間で認められる羽根の長さの差異について調査した。さらに、同じ遅羽性を示す  $K/K$  と  $K/k^+$  の間で顕著な差がみられる羽性形質を指標にして、 $K/K$  だけを効率的に区分できる手法について検討した。

試験 1, 2 では、それぞれの遺伝子型の雄について孵化時の第 2 副翼羽と 2~12 週齢時の尾羽の長さを調査した。その結果、孵化時の第 2 副翼羽の長さおよび 2~6 週齢時の尾羽の長さは  $K/K$ ,  $K/k^+$ ,  $k^+/k^+$  の順に短く、各遺伝子型間には有意差が認められた ( $P < 0.01$ )。さらに、 $K/K$  と  $K/k^+$  については 8~12 週齢時の尾羽の長さにおいても有意差が検出され ( $P < 0.01$ )、特に、8 および 10 週齢時においては顕著な差が認められた。そこで、試験 3 では、8 および 10 週齢時の尾羽の長さが雄の遅羽性集団から  $K/K$  個体だけを区分するための指標として利用できるか検討した。その結果、8 週齢時に 7 cm 以下の個体は 96.6%, 10 週齢時に 8 cm 以下の個体は 100% の精度で  $K/K$  と判定できた。このように、尾羽の長さによる  $K/K$  と  $K/k^+$  の判定法は容易であるため、DNA 解析技術と組み合わせて利用することで、名古屋種の遅羽性系統の造成や維持が効率的になると期待できる。

キーワード: ヘテロ接合体, ホモ接合体, 名古屋種, 尾羽, 翼羽

## 緒 言

ニワトリ初生雛の主翼羽 (下羽) と覆主翼羽 (上羽) の長さを比較すると、主翼羽の伸長が遅い個体 (遅羽性) と速い個体 (速羽性) がみられる。この形質は Z 染色体上の対立遺伝子である遅羽性 ( $K$ ) 遺伝子と速羽性 ( $k^+$ ) 遺伝子によって支配され、 $K$  は  $k^+$  に対して優性である (Warren, 1925)。速羽性の雄 ( $k^+/k^+$ ) と遅羽性の雌 ( $K/w$ ) の交配で生産されるヒナの遺伝子型は雄では  $K/k^+$  となり、すべて遅羽性を示し、雌では  $k^+/w$  となり、すべて速羽性を示すことから、初生雛の翼羽を確認することで性別判定が可能である。この羽性鑑別の精度は品種や系統による違いはあるが、99% 程度と高く、さらに鑑別技術の習得が容易であることから、現在、この交配様式は世界中の多くの実用鶏種に利用されている (Etches, 1996; 島田, 2002)。一方、愛知県で普及している名古屋種においても  $K$  遺伝子と  $k^+$  遺伝子を保有する個体があることが確認されているため (中村・野田, 2001; 中村ら, 2002)、そのコマーシャル鶏生産において羽性鑑別が導入できれば、ヒナの生産効率が飛躍的に向上すると期待できる。

羽性による雌雄鑑別を導入するには、羽性遺伝子が完全に固定

された遅羽性系統と速羽性系統が必要である。通常、羽性系統を作出する場合、孵化時に主翼羽と覆主翼羽の長さを比較することによって遺伝子型を推定して、羽性遺伝子の固定を図っている。その際、雌では遅羽性が  $K/w$ 、速羽性が  $k^+/w$  となるので、表現型から遺伝子型を容易に推定できる。一方、雄では速羽性であれば  $k^+/k^+$  のため、判定が可能である。しかしながら、遅羽性の雄には  $K$  遺伝子のホモ接合体 ( $K/K$ ) とヘテロ接合体 ( $K/k^+$ ) が存在するため、初生雛の主翼羽と覆主翼羽による遺伝子型の判定は困難である。そのため、これまで遅羽性遺伝子型の判定は  $K/K$  あるいは  $K/k^+$  の雄に速羽性の雌 ( $k^+/w$ ) を交配させる後代検定に頼らざるを得ない状況にある。従って、 $K/K$  と  $K/k^+$  を簡易に判定できる指標がみつければ、遅羽性系統の作出に要する莫大な労力と時間は大幅に節約でき、羽性鑑別の導入も容易になると期待できる。

初生雛の主翼羽と覆主翼羽以外の羽性形質に着目してみると、Siegel *et al.* (1957) はロードアイランドレッドにおいて、孵化時の第 2 副翼羽の長さ、12 日齢時の尾羽の形態、3 および 5 週齢時の体羽の形態に  $K/K$  と  $K/k^+$  の間で差があることを報告している。また、野田ら (2006) は白色レグホーンにおいて、4 週齢時の第 2 副翼羽の形態と 2 週齢時の尾羽の長さおよび形態が  $K/K$  と  $K/k^+$  の判定に有効な指標となることを示している。このように、これらの品種では表現型によって  $K/K$  と  $K/k^+$  を判別できることが明らかにされている。しかしながら、名古屋種においては  $K/K$  と  $K/k^+$  の間でみられる育成期の羽性形質の形態的違いについてこれまでに報告されていない。

2010 年 2 月 3 日受付, 2010 年 4 月 12 日受理

連絡者: 中村明弘

〒480-1193 愛知県愛知郡長久手町大字岩作字三ヶ峯 1-1

Tei: 0561-62-0085

Fax: 0561-63-7856

E-mail: akihiro\_1\_nakamura@pref.aichi.lg.jp

近年の分子生物学的研究の進展により、 $K$  および  $k^+$  遺伝子の DNA 構造はほぼ解明されてきている。Bacon *et al.* (1988) はニワトリ白血ウイルス由来の内在性ウイルス遺伝子 *ev-21* が  $K$  遺伝子と関連していることを確認している。さらに、 $K$  遺伝子の構造は、この *ev-21* の挿入およびプロラクチン受容体遺伝子 (prolactin receptor gene; *PRLR*) と sperm flagellar protein 2 (*SPEF2*) 遺伝子間の領域の重複により生じていることが明らかにされている (Elferink *et al.*, 2008)。また、Smith and Levin (1991) は白色レグホーンとブロイラーのコマーシャル鶏 10 系統を用いて  $K$  遺伝子および  $k^+$  遺伝子近傍領域の制限酵素断片長多型を調査した結果、*Hae*III 消化により遅羽性には 5 種類、速羽性には 3 種類の DNA 多型があることを報告している。さらに、中村ら (2009) は  $K/w$  の白色レグホーン雌と名古屋種雌について、 $K$  遺伝子近傍領域の 1456 bp の塩基配列を解析した結果、12 ヶ所で塩基の違いがあることを確認している。これらの結果は、同じ羽性であっても品種や系統によって塩基配列が異なることがあるため、羽性形質の発現に差が現れる可能性があることを示唆している。

そこで、本研究では名古屋種雄における  $K$  および  $k^+$  遺伝子が育成期の羽根の伸長に及ぼす影響を明らかにするため、 $K/K$ 、 $K/k^+$  および  $k^+/k^+$  の遺伝子型間でみられる羽根の長さの差異について調査した。さらに、同じ遅羽性を示す  $K/K$  と  $K/k^+$  の間で顕著な差がみられる羽性形質を指標にして、 $K/K$  だけを効率的に区分できる手法について検討した。

## 材料と方法

### 1. 羽性遺伝子型と孵化時の第 2 副翼羽の長さ (試験 1)

#### (1) 供試鶏と調査方法

愛知県農業総合試験場で系統造成している名古屋種の遅羽性系統 (系統名: NG6) および速羽性系統 (系統名: NG5) から得られた  $K/K$  の雄ヒナ 102 羽と  $k^+/k^+$  の雄ヒナ 100 羽、さらに遅羽性系統の雄 ( $K/K$ ) と速羽性系統の雌 ( $k^+/w$ ) を交配して得られた  $K/k^+$  の雄ヒナ 132 羽を供試鶏として用いた。これらの供試鶏に

ついて、孵化時に第 2 副翼羽の長さを図 1 (A) のように測定した。

#### (2) 統計処理

孵化時の第 2 副翼羽の長さは、遺伝子型を要因とした一元配置の分散分析を用いて検定した。その後、Tukey 法により多重比較を行い、危険率が 1% 以下になった場合に有意差があるものとした (新城, 1996b)。

### 2. 羽性遺伝子型と育成期の尾羽の長さ (試験 2)

#### (1) 供試鶏と調査方法

名古屋種の遅羽性系統 (NG6) および速羽性系統 (NG5) から得られた  $K/K$  の雄ヒナ 79 羽と  $k^+/k^+$  の雄ヒナ 174 羽、さらに遅羽性系統の雄 ( $K/K$ ) と速羽性系統の雌 ( $k^+/w$ ) を交配して得られた  $K/k^+$  の雄ヒナ 145 羽を供試鶏として用いた。これらの供試鶏について、2 週齢から 12 週齢まで 2 週間毎に尾羽の長さを測定した。なお、尾羽は体の前後軸から見て中央に位置する羽根のうち最長のものを選び、図 1 (B) のように、羽根の付け根から先端までの長さを測定した。

#### (2) 統計処理

育成期の尾羽の長さは、試験 1 と同様な方法で統計処理を行った。

### 3. 育成期の尾羽の長さによる $K/K$ の判別 (試験 3)

#### (1) 供試鶏と調査方法

試験 2 で得られた結果をもとに尾羽の長さを指標にして、 $K/K$  および  $K/k^+$  が混在する集団から  $K/K$  だけを効率的に判別できるか検討するために、以下の調査を行った。

名古屋種の遅羽性系統 (NG6) の雄 ( $K/K$ ) と速羽性系統 (NG5) の雌 ( $k^+/w$ ) を交配して得られた遅羽性の雄 ( $K/k^+$ ) に遅羽性の雌 ( $K/w$ ) を交配し、これにより得られた遅羽性の雄ヒナ ( $K/K$  か  $K/k^+$  は不明) 107 羽を供試鶏として用いた。これらの供試鶏について、2 週齢から 12 週齢まで 2 週間毎に尾羽の長さを測定した。

#### (2) 遅羽性雄の遺伝子型の判定

供試鶏の遅羽性雄は、12 週齢時の測定後、中村ら (2009) が報

(A)



(B)



図 1. 羽根の長さの測定方法

(A) 孵化時の第 2 副翼羽の測定, (B) 8 週齢時の尾羽の測定

告した PCR-RFLP 法によって個体毎の遅羽性遺伝子型 ( $K/K$  と  $K/k^+$ ) を判定した。

血液は 12 週齢時に供試鶏の翼下静脈から採取された。血液のゲノム DNA の抽出は DNAzol™ BD (Molecular Research Center, Cincinnati, OH, USA) を用いて行い、抽出した DNA は滅菌蒸留水に溶解した。

用いたプライマーはフォワードプライマーが GS-9 (5'-AATGGTACTACAGAGAAGGTAGGAATATC-3', 29mer), リバースプライマーが GS-10 (5'-CCTAGAACACTGGACATGGTATGATATCTCAGCC-3', 34mer) を用いた (Iraqi and Smith, 1994; 中村ら, 2009)。PCR 反応液 25  $\mu$ l は 50 ng ゲノム DNA, 1.5 mM  $Mg^{2+}$  含 1 $\times$ PCR バッファー (ニッポンジーン, 東京), 200  $\mu$ M 各 dNTP, 0.4  $\mu$ M の各プライマーおよび 0.5 U Gene Taq (ニッポンジーン) の組成で調製した。反応条件は 94 $^{\circ}$ C (熱変性) 45 秒, 56 $^{\circ}$ C (アニーリング) 1 分, 72 $^{\circ}$ C (伸長) 1 分を 40 サイクル行った。PCR 産物は *Mbo* I で消化した後, 1 $\times$ TAE (40 mM Tris, 40 mM 酢酸, 1 mM EDTA) に溶解して作成した 2% アガロースゲルで電気泳動し, エチジウムブロミド染色で確認した。

### (3) 尾羽の長さによる $K/K$ の判別

2~12 週齢時に測定した尾羽の長さについて度数分布図を作成した。これらのうち, 双峰性の分布が確認された週齢の図から, 尾羽の長さが短い集団の最頻値 ( $M_1$ ) および長い集団の最頻値 ( $M_2$ ) を求めた。そして,  $M_1$  と  $M_2$  の間を 4 等分した時の  $M_1$  に近い側の 4 分の 1 の位置にある値を次式のように求め, 遅羽性雄の集団から  $K/K$  の個体を判別するための基準 (C) とした。

$$C = M_1 + 1/4 \times (M_2 - M_1)$$

さらに, 双峰性の分布を示した週齢の尾羽の長さについて,  $K/K$  と  $K/k^+$  によって区分した度数分布表を作成し, 判別基準の適合率を確認した。

### (4) 統計処理

育成期の尾羽の長さについては *t* 検定により平均値の差の検定を行った (新城, 1996a)。

### 4. 飼養管理

供試鶏は餌付けから 4 週齢までは電熱式バッテリー育雛器で育雛し, 4~12 週齢時は中大雛用群飼ケージ (間口 90.0 cm  $\times$  奥行 60.0 cm  $\times$  高さ 45.0 cm) に 10 羽ずつ収容して育成した。給与飼料は, 市販飼料 (日清丸紅飼料, 東京) を用い, 0~4 週齢時は CP 20%

-ME 2,950 kcal/kg (商品名: MN 幼すう), 4~12 週齢時は CP 14.5%-ME 2,800 kcal/kg (商品名: MN 大すう) の飼料を用い, 全期間を通して自由摂取させた。光線管理は餌付けから 1 週齢までは終夜点灯を行い, 1~12 週齢時は自然日長で行った。

## 結 果

### 1. 羽性遺伝子型と孵化時の第 2 副翼羽の長さ (試験 1)

$K/K$ ,  $K/k^+$  および  $k^+/k^+$  における孵化時の第 2 副翼羽の長さを表 1 に示した。その結果, 第 2 副翼羽は  $K/K$ ,  $K/k^+$ ,  $k^+/k^+$  の順に短く, その長さは各遺伝子型間で有意差が認められた ( $P < 0.01$ )。

### 2. 羽性遺伝子型と育成期の尾羽の長さ (試験 2)

$K/K$ ,  $K/k^+$  および  $k^+/k^+$  における 2~12 週齢時の尾羽の長さを表 2 に示した。その結果, 2~6 週齢時の尾羽は  $K/K$ ,  $K/k^+$ ,  $k^+/k^+$  の順に短く, その長さは各遺伝子型間で有意差が認められた ( $P < 0.01$ )。さらに,  $K/K$  と  $K/k^+$  の間および  $K/K$  と  $k^+/k^+$  の間には 8 週齢以降でも有意差が確認された ( $P < 0.01$ )。一方,  $K/k^+$  と  $k^+/k^+$  の尾羽の長さは 8 週齢以降, ほぼ同程度であった。

### 3. 育成期の尾羽の長さによる $K/K$ の判別 (試験 3)

PCR-RFLP の解析結果から, 供試鶏の遅羽性遺伝子型は 60 羽が  $K/K$ , 47 羽が  $K/k^+$  と判定された。その判定結果をもとに,  $K/K$  と  $K/k^+$  の遺伝子型で分けて, 2~12 週齢時の尾羽の長さを比較した結果, 試験 2 と同様に, 12 週齢まで  $K/K$  の尾羽は  $K/k^+$  に比べて有意に短いことが確認された ( $P < 0.01$ ) (表 3)。

供試鶏 ( $K/K$  と  $K/k^+$  が混在) の尾羽の長さを用いて作成した各週齢の度数分布図を図 2 に示した。その結果, 尾羽の長さの分布は週齢が増すにつれて, 広がる傾向がみられた。さらに, 8 および 10 週齢の図には明確な双峰性の分布が確認された。そのため,

表 1.  $K/K$ ,  $K/k^+$  および  $k^+/k^+$  の名古屋種雄初生雛における第 2 副翼羽の長さ (mm) (試験 1)

遺伝子型	長さ
$K/K$ (n=102)	1.4 $\pm$ 1.1 <sup>C</sup>
$K/k^+$ (n=132)	4.7 $\pm$ 1.3 <sup>B</sup>
$k^+/k^+$ (n=100)	11.3 $\pm$ 1.5 <sup>A</sup>

平均値  $\pm$  標準偏差

<sup>A-C</sup> 異符号間に有意差あり ( $P < 0.01$ )

表 2. 育成期の  $K/K$ ,  $K/k^+$  および  $k^+/k^+$  の名古屋種雄における尾羽の長さ (cm) (試験 2)

遺伝子型	週 齢					
	2	4	6	8	10	12
$K/K$ (n=79)	0.2 $\pm$ 0.3 <sup>C</sup>	2.2 $\pm$ 0.4 <sup>C</sup>	4.6 $\pm$ 0.5 <sup>C</sup>	6.2 $\pm$ 0.8 <sup>B</sup>	7.7 $\pm$ 1.5 <sup>C</sup>	10.2 $\pm$ 1.7 <sup>B</sup>
$K/k^+$ (n=145)	1.1 $\pm$ 0.6 <sup>B</sup>	3.5 $\pm$ 0.9 <sup>B</sup>	6.9 $\pm$ 1.1 <sup>B</sup>	10.2 $\pm$ 1.0 <sup>A</sup>	12.6 $\pm$ 0.9 <sup>A</sup>	14.5 $\pm$ 0.9 <sup>A</sup>
$k^+/k^+$ (n=174)	2.8 $\pm$ 0.6 <sup>A</sup>	6.0 $\pm$ 0.7 <sup>A</sup>	8.3 $\pm$ 1.0 <sup>A</sup>	10.0 $\pm$ 1.2 <sup>A</sup>	11.9 $\pm$ 1.4 <sup>B</sup>	14.2 $\pm$ 1.7 <sup>A</sup>

平均値  $\pm$  標準偏差

<sup>A-C</sup> 同週齢内の異符号間に有意差あり ( $P < 0.01$ )

表 3. 育成期の  $K/K$  および  $K/k^+$  の名古屋種雄における尾羽の長さ (cm) (試験 3)

遺伝子型	週 齢					
	2	4	6	8	10	12
$K/K$ (n=60)	0.0±0.1	1.3±0.6	3.6±1.0	5.6±1.4	7.0±1.8	9.4±2.3
$K/k^+$ (n=47)	0.4±0.4	3.1±1.1	6.7±1.5	9.9±1.6	12.4±1.3	14.3±1.3
有意差	**	**	**	**	**	**

平均値±標準偏差

\*\*同週齢内の遺伝子型間に有意差あり ( $P<0.01$ )

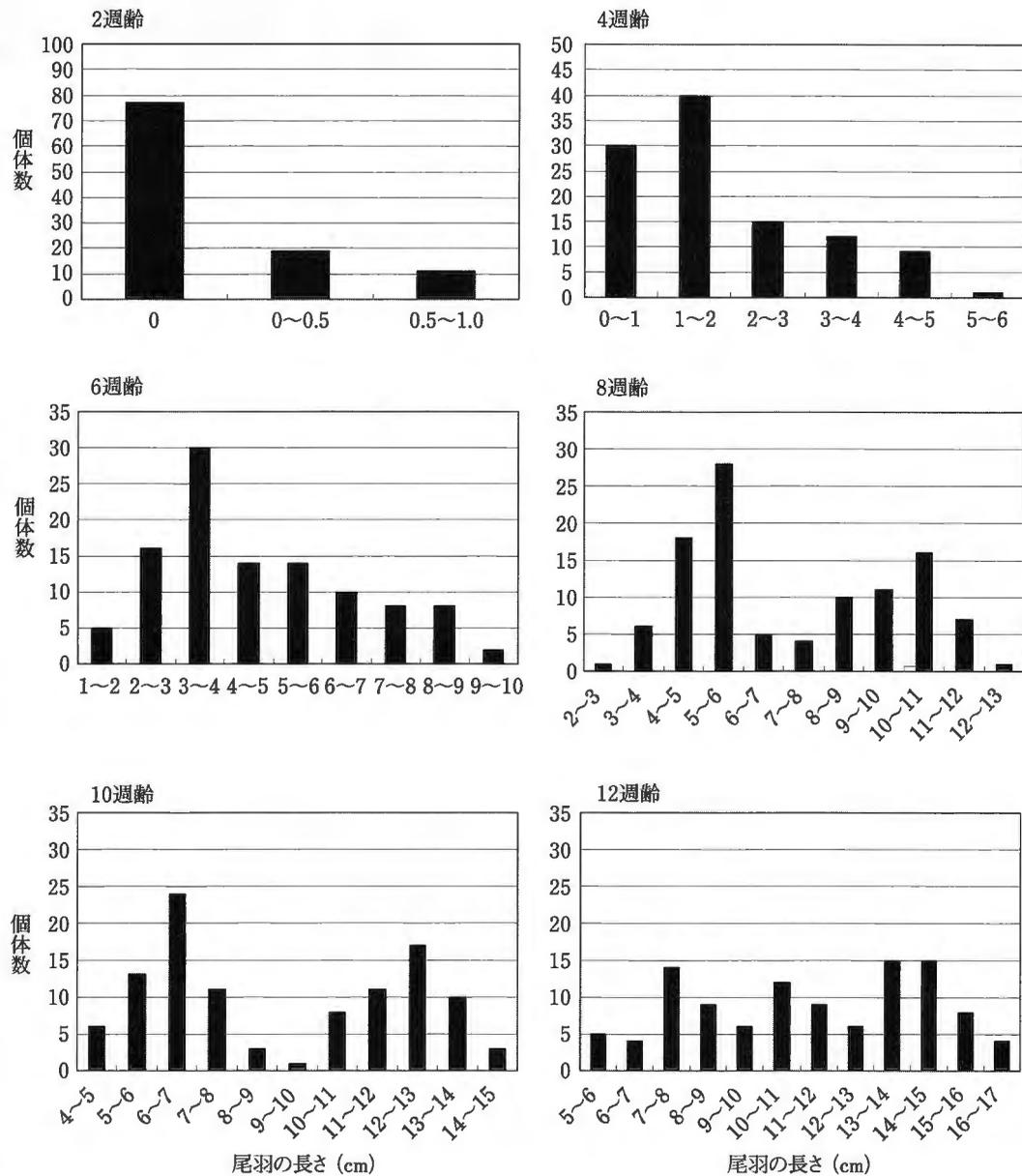


図 2. 2~12 週齢時の名古屋種雄 ( $K/K$  と  $K/k^+$  が混在) における尾羽の長さの度数分布 (試験 3)

表 4. 8 週齢の  $K/K$  および  $K/k^+$  の名古屋種雄における尾羽の長さの度数分布 (試験 3)

長さ (X : cm)	遺伝子型	
	$K/K$	$K/k^+$
2 < X ≤ 3	1	
3 < X ≤ 4	6	
4 < X ≤ 5	18	
5 < X ≤ 6	26	2
6 < X ≤ 7	5	0
7 < X ≤ 8	0	4
8 < X ≤ 9	1	9
9 < X ≤ 10	2	9
10 < X ≤ 11	1	15
11 < X ≤ 12		7
12 < X ≤ 13		1

数値は個体数

表 5. 10 週齢の  $K/K$  および  $K/k^+$  の名古屋種雄における尾羽の長さの度数分布 (試験 3)

長さ (Y : cm)	遺伝子型	
	$K/K$	$K/k^+$
4 < Y ≤ 5	6	
5 < Y ≤ 6	13	
6 < Y ≤ 7	24	
7 < Y ≤ 8	11	
8 < Y ≤ 9	2	1
9 < Y ≤ 10	0	1
10 < Y ≤ 11	0	8
11 < Y ≤ 12	1	10
12 < Y ≤ 13	3	14
13 < Y ≤ 14		10
14 < Y ≤ 15		3

数値は個体数

8 週齢時の尾羽の長さ (X) と 10 週齢時の尾羽の長さ (Y) を指標にして、 $K/K$  だけを効率的に判別できるか、以下の検証を行った。

8 週齢時の度数分布図から、尾羽の長さが短い集団の最頻値 ( $M_1$ ) および長い集団の最頻値 ( $M_2$ ) を求めると、 $M_1$  は  $5 < X \leq 6$  cm,  $M_2$  は  $10 < X \leq 11$  cm となった。さらに、これらの数値から  $K/K$  の判別基準を求めると、 $6 < X \leq 7$  cm と算出された。そのため、この基準以下を  $K/K$  として判別すると、供試鶏 107 羽中 58 羽が  $K/K$  と推定された。

8 週齢時の尾羽の長さについて  $K/K$  と  $K/k^+$  の遺伝子型で分けて作成した度数分布表を表 4 に示した。表 4 と図 2 を比較すると、 $K/K$  集団の最頻値は  $M_1$  と、 $K/k^+$  集団の最頻値は  $M_2$  と一致していることが確認された。さらに、表 4 から、尾羽の長さが 7 cm 以下を示した 58 羽のうち、56 羽の遺伝子型が  $K/K$  のため、判別の適合率は 96.6% であった。しかしながら、尾羽が 7 cm よ

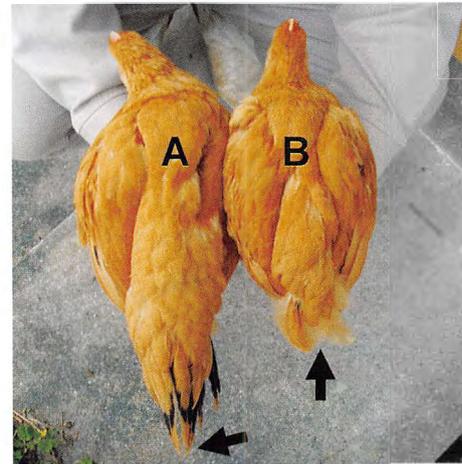


図 3. 8 週齢の名古屋種雄の羽装  
A はヘテロ接合体 ( $K/k^+$ ) の名古屋種雄, B はホモ接合体 ( $K/K$ ) の名古屋種雄を示し、矢印は尾羽を示す。

り長い  $K/K$  の 4 羽については、この判別基準によって選ぶことができなかった。

一方、10 週齢では、度数分布図から  $M_1$  は  $6 < Y \leq 7$  cm,  $M_2$  は  $12 < Y \leq 13$  cm となり、 $K/K$  の判別基準は  $7 < Y \leq 8$  cm と算出された。この基準以下を  $K/K$  として判定すると、54 羽が  $K/K$  と推定された。

10 週齢時の尾羽の長さについて  $K/K$  と  $K/k^+$  の遺伝子型で分けて作成した度数分布表を表 5 に示した。表 5 と図 2 から、 $M_1$  と  $M_2$  はそれぞれ  $K/K$  と  $K/k^+$  集団の最頻値と一致していることが確認できた。さらに、表 5 から、尾羽の長さが 8 cm 以下を示した 54 羽の遺伝子型はすべて  $K/K$  であったため、その適合率は 100% であった。しかしながら、尾羽が 8 cm より長い  $K/K$  の 6 羽についてはこの基準により選ぶことができなかった。

以上の結果から、8~10 週齢時の尾羽の長さは遅羽性集団から  $K/K$  個体だけを高率に判別する指標として有効であることが確認できた。一方、図 3 に示したように、この時期の  $K/K$  の尾域では羽根が未発達なため、 $K/K$  と  $K/k^+$  の間に形態的な違いも認められた。

## 考 察

本研究で調査された孵化時の第 2 副翼羽および育成期の尾羽の長さには  $K/K$ ,  $K/k^+$  および  $k^+/k^+$  の間に差が認められた (表 1, 2)。これらの結果が示すように、 $K$  遺伝子を 2 個保有する  $K/K$  は 1 個だけ保有する  $K/k^+$  に比べて羽根の伸長が抑制されていることが明らかになった。従って、ロードアイランドレッド (Siegel *et al.*, 1957) や白色レグホーン (野田ら, 2006) と同様に、名古屋種においても  $K$  遺伝子による羽根の伸長の抑制作用は完全優性ではなく、不完全優性であることが示された。

Siegel *et al.* (1957) はロードアイランドレッドにおいて孵化時の第 2 副翼羽の長さには  $K/K$  と  $K/k^+$  の間に差があることを報告している。そして、第 2 副翼羽の長さが 2 mm 以下の個体を  $K/$

$K$ , 2mm より長い個体を  $K/k^+$  と判定すると, 82% の精度で  $K/K$  と  $K/k^+$  を判定できることを確認している。今回調査した名古屋種でも同様に, 第2副翼羽の長さには  $K/K$  と  $K/k^+$  の間で差があることを確認した(表1)。しかしながら, 孵化時の第2副翼羽はその周りが体毛で覆われていて, 長さの測定がしにくいので, 多数の個体を短時間に判定することは困難であった。さらに, その長さはヒナの孵化日の違いによって影響されることも報告されている(Siegel *et al.*, 1957)。そのため, これらのことから判断すると, 孵化時の第2副翼羽の長さは  $K/K$  を判別するための指標として利用することが難しいと考えられた。

野田ら(2006)は, PCR-RFLP法で  $K/K$  と  $K/k^+$  を判定した白色レグホーンの雄ヒナを用いて調査した結果, 2週齢以降の尾羽の伸長に顕著な差がみられることを確認した。そして, 2週齢時の尾羽の長さが  $K/K$  と  $K/k^+$  を判定するための有効な指標になりうることを示唆した。また, Siegel *et al.* (1957) はロードアイランドレッドにおいて12日齢時の尾羽の長さによって80%の確率で  $K/K$  と  $K/k^+$  を判定できることを報告している。しかしながら, 名古屋種では白色レグホーンやロードアイランドレッドと異なり, 2週齢時の尾羽の長さでは  $K/K$  と  $K/k^+$  の分布が明確に分かれてなく, この時期における両者の判別は難しいことが確認された(図2)。そこで, 本研究では, 名古屋種において  $K/K$  と  $K/k^+$  の分布が明確に分かれた8および10週齢時の尾羽の長さを指標にして  $K/K$  の判別ができるか検証した。その結果, 尾羽の短い集団と長い集団の分布の最頻値から算出した基準(尾羽の長さが8週齢時で7cm以下, 10週齢時で8cm以下)により,  $K/K$  だけを高率に判別できることが証明された。

これまでの研究で, *ev-21* 末端の long terminal repeat (LTR) 上にプライマーを設定したPCR法によって *ev-21* の挿入を検出することで, 名古屋種の遅羽性と速羽性を正確に判定できることを確認した(中村ら, 2002)。さらに, 制限酵素断片長多型に基づくPCR-RFLP法によって, 名古屋種雄の  $K/K$  と  $K/k^+$  を迅速かつ正確に区分できる方法を確立してきた(中村ら, 2009)。これらのDNA解析技術は遅羽性系統の造成や維持を容易にできるが, 系統内の全個体のDNA検査は費用がかかるため, 羽性の表現型で  $K/K$  だけを簡易にスクリーニングできる手法の確立も望まれている。本研究で提案した尾羽の長さによる  $K/K$  と  $K/k^+$  の判定法は, 100%の精度で判定できないが, 検査作業が容易なため, 名古屋種の遅羽性系統の造成や維持にとって有効に利用できる。例えば, 遅羽性系統を造成する場合は8週齢もしくは10週齢時に尾羽の長さを測定して,  $K/K$  の判別基準以下の個体だけを選抜し, その後, PCR-RFLP法によりそれらの遺伝子型を決定すれば, 短期に, かつ低コストに遅羽性遺伝子の固定が可能となる。

以上のことから, 名古屋種雄ヒナにおいて孵化時の第2副翼羽および育成期の尾羽の長さには  $K/K$ ,  $K/k^+$  および  $k^+/k^+$  の遺伝子型間で差があることが確認できた。さらに, 遅羽性を示す名古屋

種雄ヒナにおいて, 8および10週齢時の尾羽の長さは遅羽性集団から  $K/K$  個体だけを高率に判別するための有効な指標となることが明らかとなった。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり, ご協力頂きました愛知県農業総合試験場畜産研究部家きんグループの方々に感謝の意を表します。

## 引用文献

- Bacon LD, Smith E, Crittenden LB and Havenstein GB. Association of the slow feathering (*K*) and an endogenous viral (*ev21*) gene on the Z chromosome of chickens. *Poultry Science*, 67 : 191-197. 1988.
- Elferink MG, Vallée AAA, Jungerius AP, Crooijmans RPMA and Groenen MAM. Partial duplication of the *PRLR* and *SPEF2* genes at the late feathering locus in chicken. *BMC Genomics*, 9 : 391. 2008.
- Etches RJ. Growth and sexual maturation. In : *Reproduction in poultry*. pp. 74-105. CAB INTERNATIONAL. Wallingford. 1996.
- Iraqi F and Smith EJ. Determination of the zygosity of *ev21-K* in late-feathering male White Leghorns using the polymerase chain reaction. *Poultry Science*, 73 : 939-946. 1994.
- 中村明弘・小林正直・野田賢治・近藤 一・神作宜男. PCR-RFLP法を用いた名古屋種雄の遅羽性遺伝子型判定. *日本家禽学会誌*, 46 : J9-J15. 2009.
- 中村明弘・野田賢治. 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. 2001.
- 中村明弘・野田賢治・宮川博充・水野銈一郎・梅澤吉孝. 内在性ウイルス遺伝子 *ev-21* をマーカーに用いたPCR法による名古屋種の羽性判定. *愛知県農業総合試験場研究報告*, 34 : 213-217. 2002.
- 野田賢治・中村明弘・大島啓太郎・梅澤吉孝. 白色レグホーン種における優性伴性遅羽性遺伝子(*K*)保有ヒナの羽装の特徴. *日本家禽学会誌*, 43 : J153-J160. 2006.
- 島田清司. 種卵で雌雄を見分けることができるか: 日本の伝統的雌雄鑑別から近代技術まで. *日本家禽学会誌*, 39 : J172-J176. 2002.
- 新城久久. 2群(標本)の平均値の比較—*t*検定—. *新版生物統計学入門* 35-45頁. 朝倉書店. 東京. 1996a.
- 新城久久. 3群(標本)以上の平均値の比較—分散分析—. *新版生物統計学入門* 46-83頁. 朝倉書店. 東京. 1996b.
- Siegel PB, Mueller CD and Craig JV. Some phenotypic differences among homozygous, heterozygous, and hemizygous late feathering chicks. *Poultry Science*, 36 : 232-239. 1957.
- Smith EJ and Levin I. Application of a locus-specific DNA hybridization probe in the analysis of the slow-feathering endogenous virus complex of chickens. *Poultry Science*, 70 : 1957-1964. 1991.
- Warren DC. Inheritance of rate of feathering in poultry. *The Journal of Heredity*, 16 : 13-18. 1925.

## Characteristics of Feathering Traits by Feathering Genotype in Nagoya Breed Males

Akihiro Nakamura<sup>1</sup>, Norio Kansaku<sup>2</sup>, Hajime Kondo<sup>1</sup> and Kenji Noda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Animal Husbandry Research Division, Aichi Agricultural Research Center, Yazako, Nagakute, Aichi 480-1193, Japan

<sup>2</sup> Laboratory of Animal Genetics and Breeding, Azabu University, Fuchinobe, Chuo-ku, Sagamihara 252-5201, Japan

This study was conducted to evaluate the influence of the dominant sex-linked late feathering gene ( $K$ ) and early feathering gene ( $k^+$ ) on the phenotypic differences of  $K/K$ ,  $K/k^+$ , and  $k^+/k^+$  chicks in Nagoya breed males, and to investigate whether the feathering genotype of  $K/K$  can be identified based on the phenotypic differences.

In experiments 1 and 2, the length of the number 2 secondary feather at hatching and the length of the tail feather from 2 to 12 weeks of age were measured in  $K/K$ ,  $K/k^+$ , and  $k^+/k^+$  males. The number 2 secondary feather at hatching and the tail feather from 2 to 6 weeks of age in  $K/K$  were the shortest, followed by  $K/k^+$  and then  $k^+/k^+$ . Significant differences among these genotypes existed ( $P < 0.01$ ). The tail feather in  $K/K$  was significantly shorter than in  $K/k^+$  up to the age of 12 weeks ( $P < 0.01$ ). The marked phenotypic differences between  $K/K$  and  $K/k^+$  regarding the length of the tail feather at 8 and 10 weeks of age were noted. In experiment 3, further investigation was performed to confirm whether the homozygous ( $K/K$ ) and heterozygous ( $K/k^+$ ) genotypes in late feathering Nagoya breed males can be differentiated by measuring the length of the tail feather at 8 and 10 weeks of age. As a result, the probabilities of being  $K/K$  were 96.6% when the tail feather at 8 weeks of age was 7 cm or less in length, and 100% when the tail feather at 10 weeks of age was 8 cm or less. Thus, determination of the homozygous ( $K/K$ ) and heterozygous ( $K/k^+$ ) genotypes on the basis of tail feather development is straightforward and useful for the establishment and maintenance of a late feathering line in the Nagoya breed when used in combination with DNA analysis.

(*Japanese Journal of Poultry Science*, 47 : J78-J84, 2010)

**Key words** : heterozygous, homozygous, Nagoya breed, tail feather, wing feather