

AFLP 法による日本ウズラ選抜系統の遺伝的特性の分析

朴 君・下桐 猛¹⁾・前田芳實¹⁾・岡本 悟²⁾

鹿児島大学大学院連合農学研究科, 鹿児島市郡元 890-0065

¹⁾ 鹿児島大学農学部, 鹿児島市郡元 890-0065

²⁾ 佐賀大学農学部, 佐賀市本庄町 840-8502

本研究は、当研究室で日本ウズラの 6 週齢体重を指標として選抜・造成した体重大系統 (LL) と体重小系統 (SS) 及び対照閉鎖集団として 33 年間維持してきた無作為交配集団 (RR) の 3 系統について、それらの系統の遺伝子構成と 3 系統間の遺伝的近縁関係を明らかにすることを目的として、AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism: 増幅断片長多型) 法を用いて解析を行った。

選択的プライマー 15 組合せのうち 14 組において明瞭な AFLP バンドが検出された。AFLP バンドの総数は、計 328 本であり、177 本の多型バンドと 151 本の非多型バンドが確認された。多型バンドのうち、45 本は系統特異的なバンドであった。さらに体重選抜系統 (LL・SS) は、体重に関わる遺伝子群が両極端にホモ化している可能性があり、AFLP 分析で得られた多型バンドのうち、系統固有のバンドは 14 座位が確認された。多型座位の割合は RR が 0.548 で一番高く、次は SS が 0.503 で、LL が 0.441 で一番低かった。

プライマーの組合せ 14 種類で得られた多型座位 177 座位から求められた Band Sharing (BS) 値は系統内では、LL 系が 0.817、SS 系が 0.810、RR 系が 0.740 で、系統間では LL と SS 間が 0.563、SS と RR 間が 0.536、LL と RR 間が 0.503 であった。

各系統における遺伝距離 ($D=1-BS$) に基づいて平均距離法 (UPGMA) で描いたデンドログラムでは、ウズラ 3 系統が系統ごとにクラスターを構成し、3 つのグループに分けられた。これらの結果は、80 世代以上もの間、閉鎖集団として維持されてきた歴史を示唆するものである。また、系統間の位置関係は LL と SS がクラスターを組み、RR がアウトグループとして描かれた。これは、前述した系統間で得られる BS 値の平均値を反映しているが、3 系統間の BS 値はほぼ同じ値であるので、分析個体数を増やすことによりさらに追究する必要があると考えられる。

キーワード: AFLP 法, 遺伝的構造, 選抜系統, 日本ウズラ

緒 言

特定の経済形質に対する選抜は、世代の更新に伴い着実に能力の改善が行われ、新しい特性を有する系統が作出される。そのような能力の変化には、当然のことながら、選抜形質に関与している遺伝子構成の変化や相関反応としての間接選抜形質にも変化が起こる (前田ら、

1993)。これまでウズラの選抜に伴う遺伝子構成の変化に関して多くの研究成果 (前田ら, 1978; Maeda *et al.*, 1980; Maeda *et al.*, 1981; Ardiningsasi *et al.*, 1993; 万年ら, 1993; Maeda *et al.*, 1997, 1999) が発表されている。

Ardiningsasi ら (1993) 及び万年ら (1993) は、本研究と同一ウズラ系統 (LL, SS 及び RR) についてそれぞれ蛋白質多型及び DNA フィンガープリント法を用いて遺伝子構成を解析している。しかしながら、LL と RR 及び SS の 3 系統間の遺伝的關係はこれらの 2 報告間で一致した結果が得られていない。

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism: 増幅断片長多型) 法は、1995 年に Vos らによって開発された DNA フィンガープリント法である。本法は、ゲノム DNA を 2 種類の制限酵素で断片化し、人工

2002 年 9 月 19 日受付 2002 年 11 月 22 日受理
連絡者: 朴 君

住所: 〒840-8502 佐賀県佐賀市本庄町 1 番地
佐賀大学農学部, 動物生産学研究室

Tel : 0952-28-8734

Fax : 0952-28-8735

Email : kd0107@edu.cc.saga-u.ac.jp

アダプターを付加した後、その中から特定の配列を持つものだけを選択的に PCR 増幅させる方法である。従って ① 時間と手間がかからない上、一度に得られる情報が多い、② 事前に塩基配列などの情報を必要とせず、ゲノムワイドな解析が行える、③ 得られるデータの再現性が高い、④ サンプルが微量ですむ、⑤ 既知のゲノム情報が必要でなく基本的にどんな生物種にも適用できるといった特徴がある、などの利点がある。それゆえ、AFLP 法は、マイクロサテライトなどの DNA マーカーの開発が他の家畜に比べて非常に遅れているウズラには、非常に優れた有用な多型検出法であると考えられる。

本研究は、多型性の検出に優れた AFLP 法により、当研究室で日本ウズラの 6 週齢体重を指標として選抜・造成した体重大系統と体重小系統及び対照閉鎖集団として維持してきた無作為交配集団、3 系統の遺伝子構成を明らかにすると共に、3 系統間の遺伝的類縁関係について検討を行った。

材料及び方法

1. 供試ウズラ及び AFLP 法

本実験では長期間の選抜により選抜限界に達していると思われる体重大系統 82 世代、体重小系統 83 世代及び閉鎖集団として長期間維持してきた無作為交配集団 83 世代から各系統とも家系当たり雄 1 羽ずつ計 8 羽を用いた。DNA は血液（赤血球）から抽出し、Knorr (1999) の手法を参考に O.D. 測定で得た結果をもとに DNA の濃度を 100 ng/μl に調整した。濃度を一定に調整したゲノム DNA を特定の 6 塩基を認識する *EcoR* I (TOYOBO) と 4 塩基を認識する *Taq* I (New England Biolabs) の両制限酵素で切断処理してアダプターをライゲーションさせた。アダプターを接続した制限酵素処理産物をプライマー E11 と T11 及び E11 と T12 の 2 組合せで 1 次 PCR (pre-selective PCR) 増幅を行った。そこで、もう 2 塩基（合計 3 塩基）付加したプライマーを用いて、本実験では 15 組合せで 2 次選択 PCR (selective PCR) を行った。1 次と 2 次 PCR に使われたプライマーの塩基配列を表 1 に示した。

PCR 産物のバンドパターンを得るためポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) を行った。ゲルは尿素を変性剤として加えた縦 40 cm×横 35 cm の 6% 変性ポリアクリルアミドゲルを用い、日本エードー社製の電気泳動装置でゲル温度 32℃ 以下に保ちながら定電力 40 W で約 2 時間半電気泳動した。サイズマーカーには 100 bp ladder marker を使用した。

2. 分析方法

系統内及び系統間の遺伝的類似性の指標として Band

表 1. pre-selective PCR と selective-PCR で用いたプライマー

Table 1. Primer used in pre-selective PCR and selective-PCR

Primer	Sequence
<i>EcoR</i> I-E11	5' gac tgc gta cca att ca
<i>EcoR</i> I-E1	5' gac tgc gta cca att caa c
<i>EcoR</i> I-E2	5' gac tgc gta cca att caa g
<i>EcoR</i> I-E3	5' gac tgc gta cca att cac a
<i>Taq</i> I-T11	5' gat gag tcc tga ccg aa
<i>Taq</i> I-T12	5' gat gag tcc tga ccg ac
<i>Taq</i> I-T1	5' gat gag tcc tga ccg aaa c
<i>Taq</i> I-T2	5' gat gag tcc tga ccg aaa g
<i>Taq</i> I-T3	5' gat gag tcc tga ccg aac a
<i>Taq</i> I-T4	5' gat gag tcc tga ccg aca c
<i>Taq</i> I-T5	5' gat gag tcc tga ccg aca g

Sharing (BS) 値を用いた。BS 式は次式であらわされる [(Dunnington ら, 1990), (BS=2Nab/(Na+Nb))]. ここで Nab は個体 a と個体 b に共通する多型バンド数、Na と Nb は個体 a と b のそれぞれの多型バンドの総数である。つまり、2 個体間で全バンドが共通であれば BS 値は 1 となり、逆に共通なバンドを全く持たなければ BS 値は 0 となる。

また、系統間の遺伝的類縁関係は、BS 値をもとにデンドログラムを作成して評価した。デンドログラムの作成には、遺伝距離を求める必要があるが、その遺伝距離には BS 値から求められる D 値を採用した。D 値は、以下の式で与えられる、(D=1-BS)。

この値に基づいて、平均距離法 (UPGMA) によりデンドログラムの作成を行った。デンドログラムの作成は分子進化遺伝学解析ソフトウェアである MEGA version 2.1 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) を用いた (Kumar *et al.*, 2001)。

Ppoly は全多型バンド数に対する系統内で多型があったバンド数の割合で求めた。

結 果

1) AFLP の結果

体重選抜ウズラ 2 系統 (SS 及び LL) と対照閉鎖集団 (RR) から得られた AFLP 像を図 1 に示した。AFLP バンドが選択的プライマー 15 組合せのうち 14 組において検出された。それらを纏めると表 2 と表 3 のとおりである。AFLP バンドの総数は、計 328 本であり、1 組あたりの平均バンド数は 22 本であった。このうち、全バンド

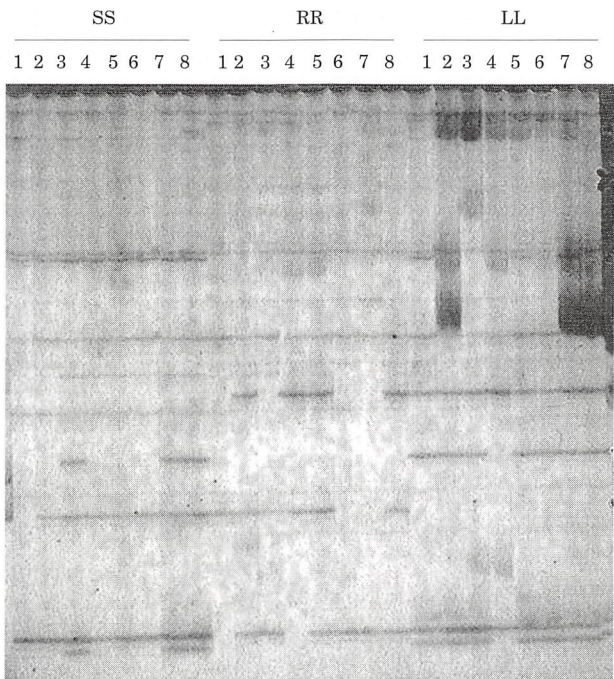


図 1. SS, RR 及び LL の 3 系統から得られた AFLP 像

Fig 1. Results of electrophoresis by AFLP method in SS, RR and LL lines.
SS : 体重小系統, Small line RR : 無作為交配集団, Randombred population LL : 体重大系統, Large line
1~8 : 各系統内の個体番号, Code of individual bird in line.

数の 54% に相当する 177 本の多型バンドと 151 本の非多型バンドが確認された。1 プライマー組合せあたりの多型バンド数は *EcoR* I-*E3-Taq* I-T1 における 30 本が最多であり、平均 11.8 本であった。多型座位の割合 (*Ppoly*) は RR が 0.548 で一番高く、次は SS が 0.503 で、LL が 0.441 で一番低かった。

2) 系統内及び系統間での BS 値の比較

プライマーの組合せ 14 種類で得られた多型座位 177 座位から求められた Band Sharing (BS) 値を表 4 に示した。系統内での BS 値は、LL が 0.817 ± 0.039 、SS が 0.810 ± 0.028 となり、ほぼ同値を示したのに対して、RR で 0.740 ± 0.037 と少し低い傾向が見られた。一方、系統間の BS 値についてみると、LL-SS 間で 0.563 ± 0.046 、SS-RR 間で 0.536 ± 0.035 、LL-RR 間で 0.503 ± 0.034 となり、両選抜系統と RR の比較で少し低い傾向があるが、標準偏差を考慮するとほぼ同値であると考えられ、3 系統は互いにほぼ等しく離れた系統になっていると考えられる。

3) デンドログラムの作成

各系統における遺伝距離 $D = 1 - BS$ に基づいて

UPGMA で描いたデンドログラムを図 2 に示した。図 2 に示されるように、本実験で供したウズラ 3 系統が系統ごとにクラスターを構成し、3 つのグループに分けられた。これらの結果は、80 世代以上もの間、閉鎖集団として維持されてきた歴史を示唆するものである。また、系統間の位置関係は LL と SS がクラスターを組み、RR がアウトグループとして描かれた。これは、先述した BS 値の系統間で得られる BS 値の平均を反映しているが、先述のように 3 系統間で BS 値はほぼ同値であるので、この関係は個体数を増やすなどの更なる調査の余地があると考えられる。

4) 系統特異的なマーカーの検索

本研究で用いたウズラ 3 系統は 80 世代以上もの間、閉鎖集団として維持されており、さらに LL と SS は体重で選抜されてきているので、各系統に特異的に検出されるか、あるいは検出されないマーカーがあると考えられる。そこで、表には示していないが、多型座位 177 座位のうち系統特異的なバンドを調べた結果、13 組合せで合計 45 本の系統特異的なバンドが確認された。そのうち SS が 26 本で最も多く、次は RR が 11 本で、LL が 8

表 2. 各プライマーにおける多型バンド数と非多型バンド数
Table 2. Nos. of polymorphic and non-polymorphic bands in each primer

プライマーの組合せ Combination of primer	多型バンド数 No. of polymorphic band	非多型バンド数 No. of non-polymorphic band	総バンド数 Total bands
<i>EcoR</i> I <i>E1-Taq</i> I T1	14	13	27
<i>EcoR</i> I <i>E1-Taq</i> I T2	9	14	23
<i>EcoR</i> I <i>E1-Taq</i> I T3	12	17	29
<i>EcoR</i> I <i>E2-Taq</i> I T1	10	17	27
<i>EcoR</i> I <i>E2-Taq</i> I T2	12	5	17
<i>EcoR</i> I <i>E2-Taq</i> I T3	6	13	19
<i>EcoR</i> I <i>E3-Taq</i> I T1	30	11	41
<i>EcoR</i> I <i>E3-Taq</i> I T2	13	2	15
<i>EcoR</i> I <i>E3-Taq</i> I T3	22	17	39
<i>EcoR</i> I <i>E1-Taq</i> I T4	0	0	0
<i>EcoR</i> I <i>E1-Taq</i> I T5	9	9	18
<i>EcoR</i> I <i>E2-Taq</i> I T4	10	9	19
<i>EcoR</i> I <i>E2-Taq</i> I T5	11	6	17
<i>EcoR</i> I <i>E3-Taq</i> I T4	5	14	19
<i>EcoR</i> I <i>E3-Taq</i> I T5	14	4	18
合計 (Total)	177	151	328

表 3. AFLP 法による主な結果
Table 3. Main results by the AFLP method

多型バンドが得られたプライマーの組合せの数 No. of combination of primer which was detected polymorphism	14/15
全 15 組から得られた合計バンド数 Total bands which was detected in all combination of primer	328
平均バンド数/1 組合せ Average no. of bands per combination of primer	22
合計バンドに対する多型バンドの割合 Proportion of polymorphic bands to total bands	54.0% (177/328)
最多多型バンド数/1 組合せ Largest no. of polymorphic bands per combination of primer	30
平均多型バンド数/1 組合せ Average no. of polymorphic bands per combination of primer	11.8
多型座位の割合 (<i>Ppoly</i>) Proportion of polymorphic bands	SS : 0.503, RR : 0.548, LL : 0.441

本で一番少なかった。

さらに、体重選抜系統は、体重に関わる遺伝子群が両極端にホモ化している可能性があり、AFLP 分析で得られた多型のうち系統間で系統固有に固定されたマーカーがあれば、それら遺伝子群に繋がりと考えられる。

そこで、体重選抜系統間で両極端に固定されたマーカーを調べた。つまり、このマーカーとは、分析に供した LL (SS) の 8 個体全てでバンドが認められるのに対して、もう一方の SS (LL) の 8 個体ではバンドが認められないような多型マーカーである。その結果、SS で劣性ホモ

表 4. 各系統及び系統間における BS 値の平均値及びその標準偏差

Table 4. BS value and standard deviation within line and between lines

系 統 (Line)	SS	RR	LL
SS	0.810±0.028 ^a		
RR	0.536±0.035 ^b	0.740±0.037 ^a	
LL	0.563±0.046 ^b	0.503±0.034 ^b	0.817±0.039 ^a

SS：体重小系統, Small line RR：無作為交配集団, Randombred population LL：体重大系統, Large line
BS 値±標準偏差 BS Value±S.D
異符号間に 1% 水準で有意差あり。
Means with different superscripts are statistically significant difference at 1% level among lines (a, b).

型に固定されたマーカーは、全多型マーカー 177 座位中 4 座位のみであり、他方、LL で劣性ホモ型に固定されたマーカーは 10 座位確認された。

考 察

本実験で使用した体重大小系統は、長期間の選抜より LL が SS に比較して雌雄とも 6 週齢体重でおよそ 5 倍大きく、顕著な体重差が認められる。このような長期間の選抜が系統内あるいは系統間で遺伝的にどのように反映されるのであろうか？ そこで、ゲノムワイドに多型性の検出ができる AFLP 法により LL, RR 及び SS 系統の遺伝子構成を調べた。

その結果、14 組の選択的プライマーの組合せにより 177 本の多型バンドを得た。万年ら (1993) の体重選抜ウズラにおける DNA フィンガープリント像による分析では、3 系統間だけではなく、同一系統内ですら同じパターンを示すのは認められなかったと報告しているが、本研究でもそれが支持され、さらに、短期間で 150 以上もの多型座位を検出できたことは、AFLP 法がウズラの遺伝的特性の分析には、特に有効な手法であることを示唆している。

BS 値の系統内の平均値は、LL で 0.817±0.039, SS で 0.810±0.028 となり、ほぼ同値であったのに対して、RR で 0.740±0.037 と少し低い傾向が見られた。Lee ら (2000) はニワトリの近交系 8 集団について AFLP 法で類縁関係を調べているが、系統内の BS 値を 0.91~0.97 と推定しており、我々の結果に比べて高く推定している。この原因としては、おそらく、我々の供試したウズ

ラは、4 世代に遡って近交を回避した交配が以前から行われていることが反映されているためだと考えられる。事実、万年ら (1993) は、DNA fingerprint 法で本実験と同じ 3 系統を解析し、系統内の BS 値が LL で 0.62±0.12, SS で 0.79±0.10, RR で 0.57±0.16 と報告しており、本実験の結果もこれを支持している。

さらに、興味深いことは、SS と LL の BS 値が RR の BS 値よりも高い値を示す点である。供試したウズラ 3 系統は同じ交配システムで閉鎖的に維持されているので、ほぼ同じ BS 値になることが予想される。それにも関わらず、両選抜系統の BS 値が RR より高くなったことの理由として 2 つの原因が考えられる。その 1 つは体重の大小方向への選抜により、特定のバンドの固定が進んだこと、もう 1 つは Random drift による固定である。しかしながら、この推測はさらに追究する必要がある。

AFLP 分析で得られた多型座位 177 座位のデータから描かれたデンドログラムは、SS と RR 及び LL が系統ごとに一つのクラスターを構成し、3 グループに分けられた。これらの結果は万年ら (1993) の報告と一致しており、これらは 3 系統とも系統内交配で長期間、閉鎖的に選抜、維持されてきた歴史が反映された結果であると考えられる。さらに、系統間の類縁関係は、SS と LL が近くに位置付けられ、RR が離れている結果となった。この結果は、万年ら (1993) の報告とも Ardiningsasi ら (1990) のタンパク質多型を解析した報告とも異なっていた。しかしながら、本研究で得られた 3 系統間の BS 値は、LL-SS 間で 0.563 ± 0.046, SS-RR 間で 0.536 ± 0.035, LL-RR 間で 0.503±0.034 となり、標準偏差を考慮するとほとんど差が認められない。つまり、これらの 3 系統は遺伝的にはほぼ等しく離れた集団となっており、それゆえ選抜実験によって、系統の遺伝的構成に違いが認められたと推察される。

本実験で得られた多型マーカーのうち、LL 及び SS で見られるそれぞれの系統固有のバンドは体重大小方向へ長期間選抜した結果、固定されたものと考えられるが、これらのバンドの出現が体重大小の原因とどのような関係にあるかは不明である。しかし、体重選抜系統 (LL・SS) 間で系統固有に固定された合計 14 座位のマーカーが認められ、体重選抜系統は、体重に関わる遺伝子群が両極端にホモ化している可能性があり、これらマーカーが体重に関与する遺伝子群の情報に繋がりと考えられる。ただし、ゲノム配列の 95% 以上はイントロンやスパーサーといった遺伝情報をもたない配列であり、興味のある情報になることは少ないと予想されるので、体重に関与する有効なマーカーをもっと得なければならない。しかしながら、このような多型バンドを回収、

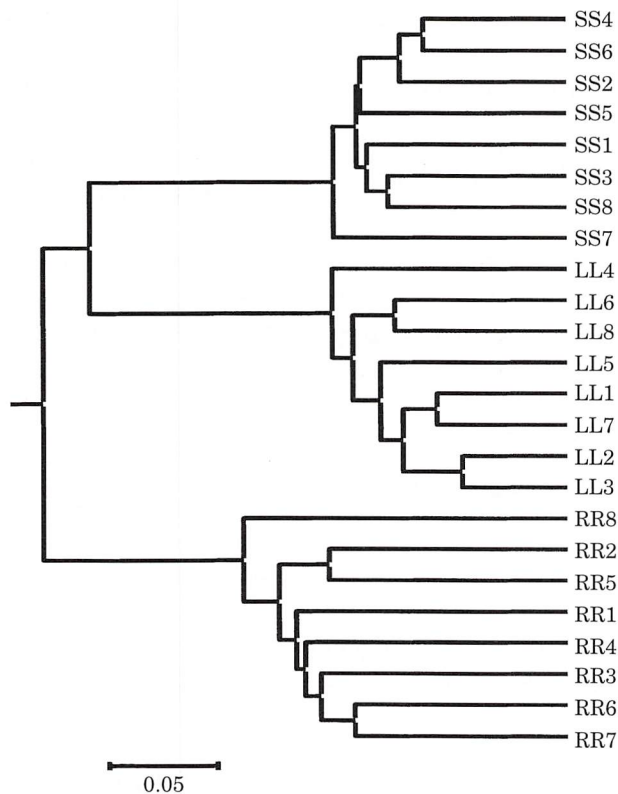


図 2. AFLP から得られた 3 系統のデンドログラム
AFLP 分析で得られた多型座位の有無により描かれたデンドログラムである。遺伝距離は $D=1-BS$ を、系統樹作成は UPGMA 法を用いた。図 1 を参照

Fig 2. Dendrogram constructed from AFLP data in 3 lines
The dendrogram was constructed by UPGMA method based on genetic distance. D value ($D=1-BS$) was used for the genetic distance. See Fig. 1.

サブクローニング及び塩基配列情報を得て既知のマーカーとして、各系統に遺伝子が固定されているのか、あるいはそれらマーカーの染色体上の位置などを検索することにより体重に関与する遺伝子群の情報をつかめるのかもしれない。

引用文献

- Ardiningsasi SM, Maeda Y, Okamoto S, Okamoto S and Hashiguchi T. Protein polymorphisms in the quail lines selected for large and small body weight. *Japanese Poultry Science*, 30 : 123-128. 1993.
- Dunnington EA, Gal Y, Plotsky Y, Haberfeld A, Kirk T, Goldberg A, Lavi U, Cahaner A, Siegel PB and Hillel J. DNA fingerprints of chicken selected for high and low body weight for 31 generations. *Animal Genetics*, 21 : 247-257. 1990.
- Knorr C, Cheng HH and Dodgson JB. Application of AFLP markers to genome mapping in poultry. *Animal Genetics*, 30 : 28-35. 1999.
- Kumar S, Tamura K, Jakobsen IB and Nei M. MEGA 2: Molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics*, 17 : 1244-1245. 2001.
- Lee EJ, Mannen H, Mizutani M and Tsuji S. Genetic analysis of chicken lines by amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Animal Science*, 71 : 231-238. 2000.
- Maeda Y, Washburn KW and Marks HL. Protein polymorphism in quail populations selected for large body size. *Animal Blood Grps Biochemical Genetics*, 11 : 251-260. 1980.
- Maeda Y, Minvielle F and Okamoto S. Changes of protein polymorphism in selection program for egg production in Japanese quail, *Coturnix*

- coturnix japonica*, 1) Gene constitution of initial generation. Japanese Poultry Science, 34 (4): 263-272. 1997.
- Maeda Y, Minvielle F, Okamoto S and Hashiguchi T. Changes of protein polymorphism in selection program for egg production in Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*, 2) Gene constitution of 8 th and 13th generations. Japanese Poultry Science, 36 (2): 83-95. 1999.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Por J, Peleman J, Kuiper M and Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research, 23: 4407-4414. 1999.
- 前田芳實・井 博視・橋口 勉・武富萬治郎. 近交系ウズラにおける蛋白質多型の特徴—ヘテロ有利性の検討. 日本畜産学会報, 49 (8): 607-613. 1978.
- 前田芳實・伊集院正敏・橋口 勉・武富萬治郎. ウズラの近交系作出の試み. 日本家禽学会誌, 18 (2): 86-97. 1981.
- 前田芳實・岡本 悟・橋口 勉. 選抜育種に伴う代謝制御の変化の解析. 家畜育種研究報告, 2: 1-18. 1993.
- 万年英之・辻 莊一・岡本 悟・前田芳實・山下秀次・向井文雄・後藤信男. 体重選抜ウズラ系統におけるDNA フィンガープリント像による遺伝的構造の分析. 日本家禽学会誌, 30: 66-71. 1993.

Analysis of Genetic Traits by AFLP in the Japanese Quail Lines Selected for Large and Small Body Weight

Jun Piao, Takeshi Shimogiri¹⁾, Yoshizane Maeda¹⁾ and Satoru Okamoto²⁾

The United Graduate School of Agricultural Science, Kagoshima University, Kagoshima 890-0065

¹⁾ Graduate School of Agriculture, Kagoshima University, Kagoshima 890-0065

²⁾ Graduate School of Agriculture, Saga University, Saga 840-8502

Present study was conducted on quails to analyze the genetic property of two selected lines and a based population. A divergent selection for 6-week body weight was performed for a long-term 83 generations in our laboratory. Following 3 lines were established : LL and SS lines were selected for large (LL) and small (SS) body weight. RR line was produced by random mating in a closed population(RR) as a control for the 33 years. In this research, the three lines, LL, SS and RR lines were compared by the AFLP method, which is effective for detecting the genetic diversity in the base sequence.

In fourteen of fifteen combined primer clearer AFLP bands have been detected. The total number of bands was 328, including 177 bands of genetic polymorphism and 151 bands of genetic non-polymorphism. In 177 bands of genetic polymorphism, 45 bands with line specificity were found. Further for the selected lines of LL and SS, because of the possibility of homozygote both extremes in genetic subgroups owing to body weight, 14 loci have been confirmed by investigating the selective marker fixed on both extremes within lines by AFLP method. For the *Ppoly*, that is (namely) proportion of polymorphic bands the highest was 0.548 in RR, 0.503 in SS and the lowest was 0.441 in LL, respectively. The band sharing values (BS), which were calculated from 177 bands of genetic polymorphism for 14 kinds of primer, were 0.817 in LL, 0.810 in SS and 0.740 in RR. BS values between LL and SS were 0.563, 0.536 between SS and RR, and 0.503 between LL and RR.

The dendrogram by UPGMA obtained from the genetic distance (1-BS) among the selected lines, which was constructed from the clusters of three selected lines of Japanese quail, was divided into three groups. These results show that the sustained history of the genetic blocked group over 80 generations. Further, from the positions of genetic distance, LL and SS clustered combined, whereas RR was out-group. The reason might be that the BS values were the averaged values between lines, which were almost the same. Therefore, it is necessary to increase the number of birds for the AFLP method.

(*Japanese Poultry Science*, 40 : J13~J20, 2003)

Key words : AFLP, Gene structure, Selected line, Japanese quail