

PCR法を用いたサトウキビの品種判別

氏原邦博・杉本 明・下田 聡 (九州農業試験場)

Kunihiro UJIHARA, Akira SUGIMOTO and Satoshi SHIMODA
Diagnosis of Sugarcane Genotype by PCR method

サトウキビの交配育種は、単交配、多父交配が中心であり、時には自然受粉も行われている。日本のサトウキビ育成品種のうち Ni 1, Ni 6, Ni 9, Ni11 は多父交配、極早期高糖性の Ni12 や鹿児島県の新奨励品種 KY88T-520 等は自然受粉により作出された遺伝子型であり、いずれも花粉親が未知である。

交配育種の効率的な推進には母本の一般組合せ能力を評価するとともに特定組合せ能力を評価し、希望遺伝子型出現頻度の高い優良組合せを明らかにすることが重要である。優良品種 系統の花粉親を特定することは、優良組合せを明らかにすることを意味し、特定組合せ能力を評価することに繋がる。

未知の父本の同定には DNA マーカーの利用が有効であると思われるが、そのためには品種特異的な DNA マーカーの探索が必要である。本研究ではその第一歩として PCR 法を用いて DNA マーカーの検出を試みたところ、プライマーと DNA マーカーの組合せに品種特異性が認められ、対象とした品種が判別できたので報告する。

1. 材料および方法

1) 供試材料

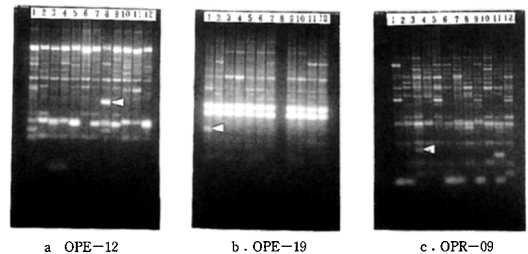
サトウキビ品種 Ni 1, NiN 2, NiF 3, NiF 4, NiF 5, Ni 6, NiN 7, NiF 8, Ni 9, NiTn10, Ni11, Ni12

2) 方法 DNA の精製は針葉樹の方法 (山本ら 1991) を一部改変して行った。精製した DNA は 20ug/ml の濃度に調整後、10mer (OPERON および KURABO) を用いて PCR 反応を行った。PCR 反応は DNA の変性を 94℃ で 30 秒、プライマーのアニーリングを 40℃ で 2 分、DNA の合成を 72℃ で 3 分の条件で 45 サイクル行った。得られた PCR 産物をアガロースゲル上で電気泳動し、バンドの解析を行った。特異的な DNA 断片が認められた場合 3 回の PCR 反応で再現性を確認した。

2. 結果および考察

380 種類のプライマーを供試した結果、Ni 1 では 8 種類のプライマーで他の 11 品種には認められない再現性のある特異的な DNA 断片が認められた。同様に NiN 2, NiF 5, NiF 8, NiTn10 では 5 種類、NiF 3, NiF 4, Ni 6, Ni 9 では 3 種類、NiF 7, Ni11, Ni12 では 4 種類のプライマーで特異的な DNA 断片が認められた。

以上のように、Ni 1 ~ Ni12 の 12 品種の中では PCR 法により特異的な DNA 断片が検出され、品種判別が可能であったが、今回の結果では他の品種集団の中で品種判別が可能であるか否かは明らかでない。今後、品種系統の判別をより正確に行うためには複数のプライマーを用いたタイピングの実施とともに、マーカーとなる DNA 断片を安定的に得るため、STS 化による長鎖プライマーの構築が必要である。また、親子判別は親子関係にある品種 系統にのみ共通する DNA 断片をマーカーとして探索することが必須である。供試した 12 品種のうち NiF 3 は Ni12 の種子親であるが、両品種にのみ共通の DNA 断片が認められた。このことは PCR 法により親子判別が可能であることを示唆している。今後、親子関係が明らかな品種 系統を用いて上述したマーカーの探索を試みる予定である。



第1図 PCRにより得られた品種特異的な DNA 多型
注) 図中の 1 ~ 12 は第1表の Ni 1 ~ Ni12 の品種に対応する

第1表 PCR法によりサトウキビ品種に特異的な DNA 断片が得られたプライマー

品種名	プライマー名
Ni 1	OPC-04, OPC-14, OPE-19, OPF-03, OPH-01, OPH-05, OPI-11, OPR-03
NiN 2	OPA-16, OPB-01, OPC-14, OPC-18, OPF-03
NiF 3	OPB-19, OPJ-07, OPR-09
NiF 4	OPF-15, OPM-02, OPP-03
NiF 5	OPF-09, OPK-02, OPK-17, OPM-18, OPN-07
Ni 6	OPI-01, OPR-06, OPS-12
NiN 7	OPC-11, OPC-15, OPI-01, OPJ-05
NiF 8	OPA-12, OPC-01, OPE-12, OPF-06, OPH-19
Ni 9	OPB-19, OPE-05, OPK-14
NiTn10	OPH-03, OPJ-03, OPM-11, OPM-15, OPP-05
Ni11	K60-07, OPF-16, OPK-17, OPR-09
Ni12	OPD-15, OPF-12, OPG-16, OPF-15