

培養変異を利用した3倍性ワケギの育種

第1報 ワケギを構成するシャロットの染色体各々に座乗するRAPDマーカーの探索

中島寿竜・田代洋丞¹⁾・石松弘樹・森 欣也・田中政信 (佐賀県農業試験研究センター¹⁾ 佐賀大学農学部)

Toshiki NAKASHIMA, Yosuke TASHIRO, Hiroki ISHIMASTU, Kinya MORI and Masanobu TANAKA :

Breeding of triploid wakegi by mutation in callus culture

1 Development of RAPD markers to distinguish each shallot chromosomes included in wakegi genome

ネギのゲノム2組 (FF) とシャロットのゲノム1組 (A) を有する3倍性のワケギ品種「さが乙女」(2n = FFA = 24) からシャロットの染色体を数本欠失させることにより、結球性等の形質の改良を行う。本報では、染色体が欠失した変異体の早期選抜技術を確認するために、「さが乙女」に含まれるシャロットゲノムの染色体 (A = 8) 各々に座乗する RAPD マーカーの探索を行った。

1. 材料および方法

試験1「さが乙女」において既知のシャロット染色体座乗マーカーの確認を行った。マーカーとして Shigyo ら(1997) が報告した8種類のRAPDマーカーを用いた。

試験2 OPERON のプライマークセット H, I, K, O を用い、シャロットの第3および第8染色体に座乗する RAPD マーカーの探索を行った。まず、ネギにシャロットの第3あるいは第8染色体を添加した異種染色体添加系統 (2n = FF + An = 17) とネギの RAPD を比較し、添加系統だけで特異的なバンドが得られるプライマーカーを1次選抜した。つぎに、他の染色体を添加した系統で RAPD を行い、1次選抜したバンドが生じないプライマーカーを2次選抜した。さらに、ワケギ品種「熊本在来」および「さが乙女」で RAPD を行い、2次選抜したバンドが得られるプライマーカーを最終選抜した。

試験3「さが乙女」の変異体においてシャロット染色体座乗マーカーの有無と染色体数を調査した。変異体として、「さが乙女」のカルス由来の再生植物で得られた矮

性、晩抽苔性、非結球性の変異体を用いた。染色体数はフォイルゲン染色 押しつぶし法で調査した。

2. 結果および考察

試験1「さが乙女」においてシャロットの第1, 2, 4, 5, 6, 7染色体のマーカーは認められたが、第3および第8染色体のマーカーは認められなかった(第1表)。これらのマーカーは片親となった「熊本在来」でも認められなかったことから、ワケギの起源となったシャロットは現在のシャロットと比べてゲノムの内容が若干異なると考えられた。

試験2 第3染色体座乗マーカーの探索では、供試した40プライマーの内K-13とO-15の2種類で得られたバンドが第3染色体添加系統だけで生じ、またワケギにおいても認められた(第2表)。第8染色体座乗マーカーの探索では、供試した76プライマーの内I-01で得られたバンドが第8染色体添加系統だけで生じ、またワケギにおいても認められた。これらのバンドを「さが乙女」の第3および第8染色体座乗マーカーとした。

試験3 矮性の変異体では全てのマーカーが認められ、染色体数は2n = 24であった(第3表)。晩抽苔性の変異体では全ての染色体座乗マーカーが認められたが、染色体数は2n = 24と2n = 25の個体があり、異数性変異が認められた。非結球性の変異体では全てのマーカーが認められず、染色体数は2n = 16の2倍体となっており、シャロットの染色体8本全てが欠失した変異体であると考えられた。

第1表 「さが乙女」における染色体座乗マーカーの有無

マーカー	有無	マーカー	有無
A1	○	A5	○
A2	○	A6	○
A3	×	A7	○
A4	○	A8	×

注) An はシャロットの染色体 No

第2表 ワケギのゲノムに含まれるシャロットの第3および第8染色体に座乗した RAPD マーカーの探索

目的染色体	プライマー数				最終選抜 プライマー No
	供試	1次選抜	2次選抜	3次選抜	
第3染色体	40	3	2	2	K-13, O-15
第8染色体	76	10	3	1	I-01

注) 1次選抜 ネギに目的染色体を添加した系統とネギの RAPD 比較
2次選抜: 他の染色体添加系統でマーカーが生じないプライマーの選抜
3次選抜 ワケギにおいてマーカーが生じるプライマーの選抜

第3表 「さが乙女」の種々の変異体における各染色体座乗マーカーの有無と染色体数

変異体 ²⁾	供試個体数	各染色体座乗マーカーの有無 ¹⁾								染色体数
		A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	
矮性	1	○	○	○	○	○	○	○	○	24
晩抽苔性	3	○	○	○	○	○	○	○	○	24, 25
非結球性	7	×	×	×	×	×	×	×	×	16

注) 2) 変異体は、3~6ヶ月間培養したカルスより再生した植物の中から選抜した

1) 染色体は、A1; シャロット第1染色体~A8; シャロット第8染色体で示した。また、マーカーの有無は○×で示した