

イグサ品種「ひのみどり」の RAPD マーカー

飯牟禮和彦・深浦壯一・斉藤 彰¹⁾
 (熊本県農業研究センター・¹⁾九州沖縄農業研究センター)

Kazuhiko Imure, Souichi Fukaura and Akira Saito:
 RAPD Marker of Mat Rush Cultivar "Hinomidori"

茎が細く、茎色のムラや着花が少ないという特性を有するイグサ品種「ひのみどり」は、畳表にすると表面が滑らかで美しい状態に仕上がる¹⁾。熊本の高級畳表ブランド「ひのさらさ」は、この品種を使った畳表であり、今回この品種を識別する RAPD マーカーが得られたので報告する。

1. 材料および方法

材料として生茎と乾燥茎を用いた。生茎は、「ひのみどり」を含む国内の主な12栽培品種の30cm程度に伸ばした比較的若い茎を、乾燥茎は、「ひのみどり」と「岡山3号」の2000年産120cm以上の泥染めした茎を用いた。DNA抽出は生茎・乾燥茎とも CTAB 法でおこなった。

DNAの状態を調べるために、TAE 溶液中でエチジウムブロマイドを含む1.0%アガロースゲルによる電気泳動を行った。その後、ゲルを紫外線照射下でポラロイドカメラを用いて撮影した。

PCR 反応に用いる TaqDNA ポリメラーゼは宝酒造製 (TaKaRa Ex TaqTM) を、プライマーは10塩基任意配列のオペロン社製を60種類用いた。PCR 反応液は25 μ lで、終濃度は鋳型 DNA 0.8ng/ μ l、プライマー 0.2 μ M、Taq DNA ポリメラーゼ 0.025U/ μ l、dNTP 混液 0.2mM とした。dNTP 混液とバッファーはポリメラーゼに添付されているものを使用した。PCR の1サイクルは、熱変成 (94 $^{\circ}$ C 30秒)、アニーリング (42 $^{\circ}$ C 2分) および伸長反応 (72 $^{\circ}$ C 3分) からなり、これをサーマルサイクラー (GeneAmp PCR System 9600, Perkin Elmer 社製) で35サイクル行った。

PCR 反応後、DNAの状態を調べるときと同様の方法で電気泳動・撮影を行い、増幅 DNA 断片の電気泳動パターンを調査した。

2. 結果および考察

生茎からの DNA 抽出では、生茎 1g 当たり 100 μ g 程度の DNA を得ることができた。乾燥茎からの抽出では、茎の部位で抽出量が大きく異なり地際部に近いほど少なく (第1図)、高分子の DNA が少なかった。最大で乾燥茎 1g 当たり 40 μ g 程度の DNA を得ることができた。

これらの結果の理由として、イグサを乾燥する際、イグサの束を縦詰めにして下から熱風を送るため、地際部がもっとも温度が高くなり熱による破壊が進むためではないかと考えられた。

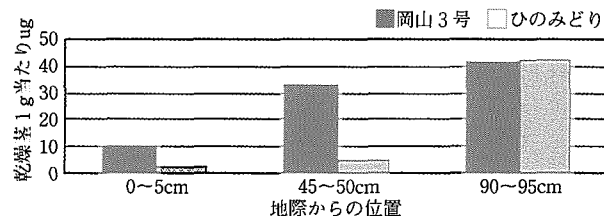
生茎から抽出した DNA を鋳型にして PCR 反応を実施したところ、1種類のプライマーが「ひのみどり」と他の11品種を識別できた。識別できた DNA 断片は約 3 kbp であり「ひのみどり」には存在せず、他の11品種にはすべて存在するものであった (第2図)。この「ひのみどり」を識別できるプライマーで乾燥茎から抽出した DNA を鋳型に PCR 反応を実施した。生茎の場合で識別

できた同じ位置の DNA 断片の有無で「ひのみどり」と「岡山3号」が識別可能であった (第3図)。

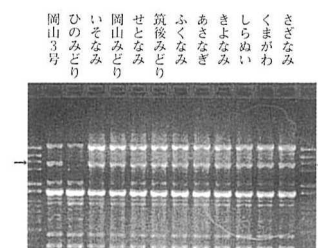
これまでに RAPD マーカーを利用したイグサの品種識別が試みられてきたが、栽培品種間では識別されていない²⁾³⁾。それは、栽培品種の親となった在来種間の遺伝的変異が小さく、品種の育成方法も突然変異を利用していることによると考えられる。今回、「ひのみどり」が識別できたのは、この品種が人工交配によって育成された品種であることが大きな原因ではないかと考えられた¹⁾。

引用文献

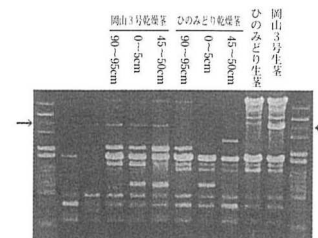
- 1) 中澤芳則・手塚隆久・飯牟禮和彦・定平正吉・赤木豊樹・濱田四郎・大川浩史：日作九支報 65, 44-45, 1999.
- 2) 飯牟禮和彦・中澤芳則・宮崎 力・斉藤 彰：九農研 59, 16, 1997.
- 3) 飯牟禮和彦・中澤芳則・斉藤 彰・宮崎 力：日作九支報 66, 12-14, 2000.



第1図 乾燥茎からの部位別 DNA 抽出量



第2図 「ひのみどり」の RAPD マーカー
 (生茎から抽出した DNA を鋳型とした)
 注) 両端はマーカー (λ Hind II / III)



第3図 「ひのみどり」の RAPD マーカー
 (乾燥茎から抽出した DNA を鋳型とした)
 注) 両端はマーカー (λ Hind II / III)