

AFLP 法によるイチゴ新品種 ‘福岡 S 6 号’ の品種識別

下村克己・三井寿一・藤田幸一・佐藤公洋
(福岡県農業総合試験場)Katsumi Shimomura, Hisakazu Mitsui, Kouichi Fujita and Kimihiro Satoh :
Identification of Strawberry Cultivar ‘Fukuoka S 6’ (*Fragaria* × *Ananassa* Duch.)
by Amplified Fragment Length Polymorphism

福岡県では、イチゴ新品種 ‘福岡 S 6 号 (商標名: あまおう)’ を育成した。一方、近年、国内で育成されたイチゴや大豆等の栽培品種が育成者の許諾を受けることなく、生産、逆輸入される事例が増加傾向にあり、この抑止は、育成者権益の保護とともに、国内農業の振興を図る上で、重要な課題となっている。米を始めいくつかの作物については、当該品種の生産についての違法性を証明するために、DNA による品種識別が既に行われている。しかし、イチゴは、米や大豆などの主要穀類と比較して遺伝解析が不十分であるため、遺伝情報が不要で、再現性が高いとされる AFLP 法による品種識別について検討した。

1. 材料および方法

供試品種は、最近の我が国の主要なイチゴ品種 ‘とよのか’、‘さちのか’、‘さがほのか’、‘章姫’、‘レッドパール’、‘とちおとめ’、‘女峰’、‘アスカルビー’、‘アイベリー’ および当場で育成した ‘福岡 S 6 号’ の計 10 品種とした。DNA の抽出は、上記品種の未展開葉またはガク片 0.05g を破碎後、0.1% β-メルカプトエタノールを添加した 50mM Tris-HCl 緩衝液 (5mM EDTA, 350mM Sorbitol, 10% PEG 含む) を加え攪拌し、4℃下、6,000rpm、5分間遠心した後、上清を除去して、DNA 抽出キット Nucleon PHYTO Pure (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて行った。AFLP 法は、PE Applied Biosystems 社製 AFLP スタートアップモジュール (レギュラー用) および PRISM 310 ジェネティックアナライザーを用いて実施し、解析用ソフト GeneScan を用いて解析した。

2. 結果および考察

まず、‘福岡 S 6 号’ およびこの交配親株の育成に利用した ‘とよのか’、‘さちのか’ の 3 品種間の AFLP 法による品種識別を試みたところ、64通りのセレクトイブプライマー組合せ中 53 組合せで多型が検出された (データ略)。このうち、*MseI* 側プライマーに *MseI*-CAA または *MseI*-CTA を用いた組合せで、供試した 3 品種に単独の多型が多く認められたことから、*MseI* 側プライマーにこれらを用いた組合せを用いて、供試した全品種の多型検出を実施した。その結果、すべての組合せで多

型が検出された (データ略)。なかでも、[*MseI*-CAA, *EcoRI*-AGC] の組合せでは、これによって得られる 8 個のマーカにより、供試した 10 品種の識別が可能であった (第 1 表)。

一方、Soller.M. and J.S.Beckmann²⁾ によると、品種同定の目的において、比較品種 *n* が互いに異なるマーカ型を持つ品種の割合 *R* は、

$$R = \frac{a^k C_n \cdot n!}{a^{nk}} = \frac{n! a^k!}{a^{nk} \cdot n! (a^k - n)!} = \frac{a^k!}{a^{nk} \cdot (a^k - n)!}$$

(ただし、*a*: アリル数、*k*: ローカス数)

で表される。

よって、供試したイチゴ 10 品種の場合、*a* = 2 であるので、*R* = 0.999 以上とすると、*k* ≥ 16 となる。

以上のことと識別精度の確保を考慮した上で、最終的に 7 つのプライマー組合せを用いた AFLP によって得られる 20 個のマーカを選抜した (第 1 表)。

また、ある持ち込まれた品種に対し、比較品種中に 1 品種以上の同一マーカ型が、偶然存在する確率 *P*₁ は、 $P_1 = 1 - (1 - P_0^k)^n$

ただし、 $P_0 = \exp[1/k \sum \log(p_i)]$ 、*k*: マーカ数*p*_{*i*}: *i* 番目ローカスのアリル頻度とする。

で表される¹⁾。したがって、ある品種が今回行った 10 種の比較品種中の ‘福岡 S 6 号’ のマーカ型と偶然一致する確率 *P*₁ は、*n* = 10、*k* = 20 であるから、*P*₁ = 0.0000006 となる。よって、もしマーカ型が一致するものが見られた場合は、‘福岡 S 6 号’ である可能性が非常に高いと判断できる。

今回の結果から、本県で育成した ‘福岡 S 6 号’ を含むイチゴ 10 品種の識別は、AFLP 法により可能と考えられた。しかし、新たに育成あるいは流通する品種の識別については、今後検討する必要がある。

引用文献

- 1) DNA 品種識別検討委員会編: 植物の DNA 品種識別についての基本的留意事項, 2003.
- 2) Soller.M. and J.S.Beckmann: *Theor.Appl. Genet.* 67, 25-23, 1983.

第 1 表 AFLP 法により検出されたイチゴの品種別多型

品種名	マーカ番号, 増幅サイズ (bp) およびプライマー組合せ																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	96	186	190	195	265	283	289	306	165	127	167	249	97	187	293	119	127	137	209	317
	<i>MseI</i>	CAA			CAA			CAA	CAA	CAA	CTA	CTA	CTA	CTA	CTA					
	<i>EcoRI</i>	AGC			AAC			AAC	ACC	ACG	ACT	ACA	ACC							
福岡 S 6 号	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
とよのか	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-
さちのか	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
女峰	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
とちおとめ	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
アスカルビー	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-
レッドパール	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-
さがほのか	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-
章姫	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
アイベリー	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+

注) +: バンド有り, -: バンド無し。