

CAPS マーカーを用いたイチゴ ‘熊研い548’ の品種識別

野田孝博・飯牟礼和彦・國久美由紀¹⁾・松元 哲¹⁾
(熊本県農業研究センター・¹⁾ 野菜茶業研究所)

Takahiro Noda, Kazuhiko Imure, Miyuki Kunihsa and Satoru Matsumoto :
Discrimination of Strawberry ‘Kumaken I 548’ from other Cultivars Using CAPS Makers

1. 目的

食の安全性の高まりによって顔の見える農産物の生産供給が生産者にも要求されている。また、育成者権を無視した不法な栽培や不正な店頭表示により販売されるなどの問題がある。このようななか、消費者の安心と育成者の保護を目的とし、熊本県で育成したイチゴの新品種「熊研い548」についてDNA鑑定による識別を可能にすることを目的とする。

2. 材料および方法

熊本県で育成した新品種イチゴ「熊研い548」および対象として「女峰」「レッドパール」「とよのか」の新葉50mgからDNesy Plant Kit(キアゲン社)を用いてゲノムDNAを抽出した。生物・農業系特定産業技術研究機構野菜茶業研究所により開発されたイチゴの品種間で多型を示す25種類のCAPSマーカーを用い、それぞれに特異的なプライマーでPCR法により目的のDNA断片を増幅した。PCR反応条件は、反応液量20μlにおいて鋳型DNA約2~20ng, 1μM各プライマー, rTaq DNAポリメラーゼ(タカラ)1Unit, 1.5mM MgCl₂, 0.2mM dNTPsとし各反応サイクルは94℃5分, 94℃30秒, 55℃30秒, 72℃30秒, 72℃7分, 35サイクルとした。なおすべてのプライマーにおいて使用前にDenaturationを行った。PCRで増幅した断片は各制限酵素で切断した後1.5%アガロースゲルで電気泳動を行い多型を確認した。得られた多型はジェノタイプングを行い国久

ら^{1,2,3,4)}が示した既知の65品種の多型パターンと比較した。各CAPSマーカーのRFLPsによる遺伝子型(A, B, C, X)は国久ら^{1,2,3,4)}に従った。

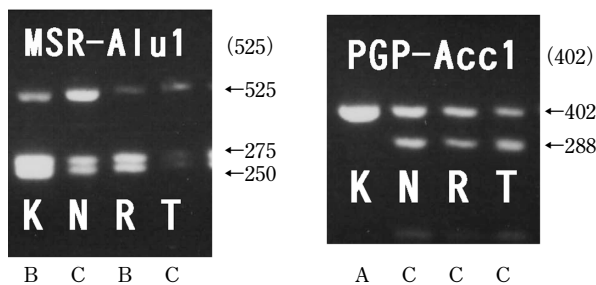
3. 結果および考察

1. 利用した25種のCAPSマーカー(DRF-Hha I, APX-Mlu I, CHI-Pvu II, F3H-Nco I, FEH-Ear I, F3H-Hpa II, F3H-Acc I, F3H-Dde I, F3H2-Acc I, CHI1-Hinf I, MSR-Alu I, PGP-Acc I, PGP-Rsa I, PGP2-Rsa I, APX2-Dra I, APX3-Dra I, APX4-Taq I, AUB-Hha I, OLP-Dde I, CHI2-Mbo I, CYT-BsaB I, PYD-Hea III, PYD-Cfr13 I, PYD2-Hea III, PYD3-Hga I)で熊本県育成新品種イチゴ「熊研い548」の品種判別を可能にする多型を得た(第1表)。

2. PGP-Acc IとMSR-Alu Iの2種のマーカーにより「熊研い548」と主要65品種との識別が可能であった(第2表, 第1図)。

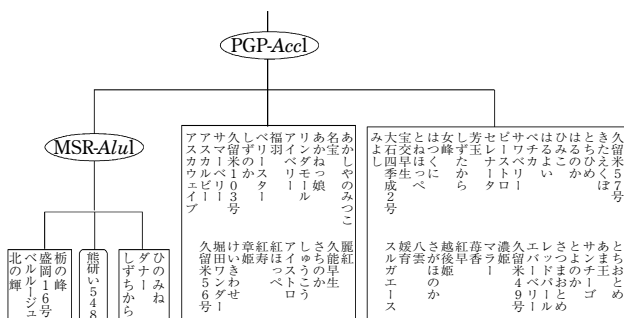
引用文献

- 1) 国久ら: 育種 5. 別 2.74, 2003.
- 2) M. Kunihsa et al., *Euphytica* 134 (2): 209 - 215, 2003.
- 3) 国久: 野菜園芸技術 30 (9) p38, 2003.
- 4) 国久・松元: 農業および園芸 79 (1), 180-184, 2004.



第2図 2種のCAPSマーカーによる「熊研い548」のRFLPsパターン

注) (数字): PCR増幅産物。
←数字: 制限酵素切断断片長。
写真内記号: K「熊研い548」, N「女峰」,
R「レッドパール」, T「とよのか」。
写真下記号: RELPsの遺伝子型。



第1図 2種のCAPSマーカーによる「熊研い548」の識別

第1表 「熊研い548」のCAPSマーカーによるRFLPs遺伝子型

品種	CAPS マーカー ^{a)}																									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
ひのしずく	X	X	A	X	A	A	C	A	C	X	B	A	X	X	A	X	C	X	B	C	A	N	A	A	A	X
女峰	X	A	A	A	A	X	X	X	A	A	C	C	X	A	X	X	C	X	C	A	A	A	C	B	A	X
レッドパール	X	B	A	X	A	A	C	A	C	X	B	C	X	A	X	A	A	A	A	C	X	A	C	C	A	A
とよのか	X	B	A	A	X	A	C	A	C	X	C	C	A	X	X	A	C	A	A	C	A	X	A	A	A	X

注) a) CAPS マーカー名 (増幅した遺伝子断片一切断した制限酵素)。
 1 : DFR-Hhal 2 : APX-MluI 3 : CHI-PvuII 4 : F3H-NcoI 5 : F3H-EarI 6 : F3H-HpaII 7 : F3H-AccI
 8 : F3H-Ddel 9 : F3H2-AccI 10 : CTII-HinfI 11 : MSR-AluI 12 : PGP-AccI 13 : PGP-RsaI 14 : PGP2-RsaI
 15 : APX2-DraI 16 : APX3-DraI 17 : APX4-TaqI 18 : AUB-Hhal 19 : OLP-Ddel 20 : CTI2-MboI 21 : CYT-BsaBI
 22± RNA-FokI 23 : YD-HaeIII 24 : PYD-Cfr13I 25 : PYD2-HasIII 26 : PYD3-HgaI