

桜島大根のSSRマーカーによる品種維持のための品種識別

○田中義弘・石田正彦¹⁾・畠山勝徳¹⁾・吉秋斎¹⁾・松元哲¹⁾

(鹿児島農総セ・¹⁾野菜茶研)

【目的】

近年、桜島大根は農水省の「故郷に残したい100選」に選ばれるなど地元でも生産拡大への機運が高まっている。主な用途は漬物であり、漬物生産では横向き（水平方向）に輪切りにされるため加工後は聖護院大根など類似品種が混入した場合、判別が困難である。また、生産農家は漬物歩留まりの高い縦長の桜島大根を好む傾向があり、桜島大根の本来の形質が喪失する可能性もある。

そこで、SSRマーカーを用いて品種維持、保護、偽装防止を目的とした品種識別法確立を検討した。

【材料および方法】

試験1 SSRマーカーのスクリーニング

供試品種は「桜島大根」の自殖2系統、「耐病総太り」、「秋まさり2号」、「理想系」の各自殖系統の計5系統を使用した。各系統の葉片約100mgからDNeasy Plant Mini Kit (キアゲン) を用いてゲノムDNAを抽出した。SSRマーカーには、野菜茶業研究所において開発された*Brassica rapa*に由来するSSRマーカー (BRMSシリーズ) 300個 (蛍光標識96個、未標識204個) を使用した。PCR反応組成は鋳型DNAを2μl、プライマーをそれぞれ10pmol、Taq DNA polymerase (タカラバイオ) を0.25U、付属10×Bufferを1.0μl、dNTP Mixtureを各2.5mM添加し滅菌水で10μlにフィルアップした。94℃を2分後、94℃・1分間、50℃・1分間、72℃・1分間を35サイクル行い、72℃で4分間行った (Tsuru et al., 2003)。2.5%アガロースゲル電気泳動により増幅産物を確認し、その後3730DNAシーケンサで泳動しGeneMapperにより多型の解析を行った。未標識SSRマーカーについては、PCR産物をR110-ddUTPでラベルして解析を行った。

試験2 桜島大根と聖護院大根との識別

聖護院大根は、種苗会社販売の9系統・各2個体、桜島大根は種苗会社販売の8系統、農家自家採種の2系統・各4個体を供試した。PCR反応、多型解析は試験1と同様で行った。

【結果および考察】

試験1 BRMSシリーズ300個を調査した結果、比較的明瞭なPCR産物が得られたマーカーが150個、そのうち供試5系統間で多型がみられたマーカーが23個あった (表1)。自殖系統間で多型を示すSSRマーカー数は、桜島大根系統と他系統間に多く、理想と秋まさりが少なかった。また、桜島大根の系統間の多型数も多かった。このことから桜島大根の集団内変異は耐病総太りや理想系、秋まさりの各自殖系統間よりも大きく、商業品種は多様性が小さいことが示唆された (表2)。

試験2 桜島大根と聖護院大根とを判別できるSSRマーカーを検索した結果、BRMS-005, 060, 175を使用することで両品種を判別することが可能であった (表3)。これらのマーカーによる多型の結果を基にward法によるクラスター分析を行ったところ、聖護院大根と桜島大根に大きく分かれたが、桜島大根の1系統が聖護院大根内のクラスターに位置づけられた (データ省略)。SSRマーカーを用いた識別を確実にするには、さらに多型を示すSSRマーカーの検索が必要であると考えられた。

表1 各系統間で多型を示すSSRマーカー数

SSR	調査数	PCR産物	多型	多型率 (%)
BRMS ¹⁾	96	56	16	28
BRMS ²⁾	204	94	7	7
計	300	150	23	15

1) 連鎖地図上の位置が明らかなマーカー (蛍光標識)

2) 連鎖地図上の位置が不明確なマーカー (未標識)

表2 各系統間で多型を示すSSRマーカー数

品種	理想	耐病	秋	桜島B	桜島C
理想	-	15	10	19	18
耐病		-	14	21	20
秋まさり			-	21	20
桜島B				-	18
桜島C					-

表3 桜島大根と聖護院大根の識別

SSR bp	BRMS005						BRMS060						BRMS175							
	134	137	139	143	145	160	245	251	257	259	262	268	272	234	253	256	259	262	273	276
聖護院大根	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
桜島大根	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	