

秋輪ギク「新神」のDNAマーカーによる品種識別

○白尾 吏・上野敬一郎¹⁾・松山知樹²⁾・市田裕之²⁾・阿部知子²⁾
 (鹿児島バイオ研・¹⁾鹿児島農総七熊毛支場・²⁾理化学研究所)

【目的】

秋輪ギク品種「神馬」にイオンビームを照射し突然変異を誘発することにより育成した品種「新神」について、鹿児島県は平成17年度から県外許諾を開始しているが、種苗法に違反した栽培や海外からの不法な輸入を防止する必要があり、DNAマーカーによる品種識別技術の開発が求められている。しかしながら、突然変異誘発によって育成された品種は原品種と遺伝情報がほとんど同一であるため、塩基配列の変異に基づく品種識別技術の報告はほとんどない。筆者らは、植物のゲノム中に多数存在する散在型の反復配列であるレトロトランスポゾン配列に着目し、PCR法を用いた品種識別技術の開発を試みた。

【材料および方法】

供試品種には、「神馬」の栽培系統「神馬1号」「神馬2号」, 「神馬」の枝変わり品種「吉良の馬」「旭神」, 「神馬」にイオンビームを照射して育成した品種「今神」「新神」及び系統「B02-1-1」, そして夏秋輪ギクの「フローラル優香」「精雲」を用いた。キク・ジプシー型レトロトランスポゾンCMRE1とトウモロコシ・レトロトランスポゾンのPPT領域からプライマーを設計してPCRを行い、「新神」と他品種との間でPCR産物の増幅量に差が見られるDNA断片を検索した。次に、増幅量に差が見られたDNA断片をクローニングし、塩基配列を決定した。得られた配列より新たなプライマーを設計し、品種間で多型を示すプライマーの組み合わせを解析した。また、現地（鹿屋市大始良、垂水市新城、鹿屋市串良）から採取した「新神」個体を用いて開発したDNAマーカーの安定性を検定した。さらに「新神」に再度イオンビームを照射して低温開花性を付与した新品種「新神2」についても調査を行った。

【結果および考察】

「新神」と他品種の間で増幅量に差が見られた2536bpのDNA断片はキクレトロトランスポゾン部分配列であった。この配列からプライマーを設計しPCRを行ったところ、「神馬」及び「神馬」系品

種では410bpと640bpの2本のDNA断片が増幅され、「新神」では410bpの1本のDNA断片のみが増幅されるプライマーの組み合わせが得られた(図1)。夏秋輪ギク品種についても2本のDNA断片が増幅され、640bpのDNA断片の有無により、「新神」と他の輪ギク品種を識別することができた。さらに、現地から採取した「新神」個体についても、410bpの1本のDNA断片のみが増幅され、本DNAマーカーの安定性を確認した(図2a)。

また、「新神」の葉片に再度イオンビームを照射し再生させた変異誘発個体の中から、低温開花性を有する系統として選抜した「新神2」についても、「新神」と同様の増幅パターンを示した(図2b)。このことから、「新神」由来の枝変わり品種や選抜系統についても、本DNAマーカーにより「神馬」系品種と識別することが可能であると考えられる。

以上のことから、イオンビーム等の物理的変異原による突然変異誘発によって育成した品種のDNAマーカー開発において、散在型の反復配列を利用した多型解析が有効であることが示された。

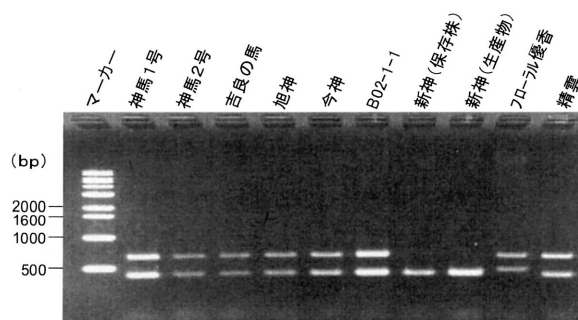


図1 DNAマーカーによるキク品種の識別

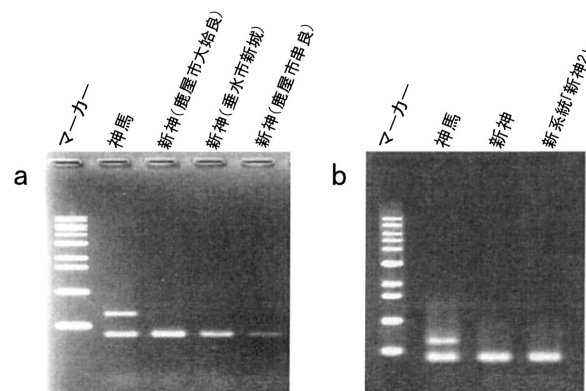


図2 DNAマーカーによる検定

a 現地から採取した個体の検定

b 「新神」由来の低温開花性系統の検定