

サツマイモ組換え体の生物多様性影響評価手法の開発
 (2) サツマイモと日本に自生・帰化する近縁 *Ipomoea* 属植物
 との雑種識別のための DNA マーカーの開発

○岡田吉弘・高畑康浩・田中 勝
 (九州沖縄農研)

【目的】

サツマイモおよびその近縁野生 *Ipomoea* 属植物は、サツマイモとの交雑性から、交雑が可能なものを第 1 群、不可能なものを第 2 群植物と分類されている。また、日本国内には、サツマイモと交雑可能な第 1 群植物は存在しないとされているが詳細は不明であり、また、九州以南、特に沖縄県には多くの自生および帰化 *Ipomoea* 属植物が存在することが知られている。しかしながら日本における自生および帰化 *Ipomoea* 属植物との交雑性に関する知見は皆無であることから、本研究では、サツマイモと日本に自生・帰化する野生 *Ipomoea* 属野生植物との雑種性を識別するための DNA マーカーを開発し、今後のサツマイモ組換え体の生物多様性影響評価に応用する。

【材料および方法】

植物材料には、サツマイモ組換え体および沖縄地域から採集した 12 種の野生 *Ipomoea* 属植物を用いた。葉身から改良 CTAB 法によりゲノム DNA を抽出し、PCR の鋳型として供試した。マーカーの探索には、Tanaka et al. (2005) により報告されているサツマイモ品種識別用プライマーを用い、構造遺伝子のイントロン多型を調査した。次に、サツマイモ組換え体×ソコベニヒルガオの交雑により得られた種子を播種し、実生を用いて PCR により組換え (CP) 遺伝子のジーンフローおよび雑種性の識別を実施し、さらに隔離温室内で育成して形態調査を行った。

【結果および考察】

Tanaka et al. (2005) により報告されている 12 プライマーペアについて、イントロン多型を調査した結果、全てのプライマーペアで PCR 増幅が確認された。また、4 プライマーペアで、PCR 増幅のみでサツマイモ組換え体と野生 *Ipomoea* 属植物間に多型を得ることができた。次に、増幅断片の制限酵素処理により、さらに 2 プライマーペアで多型を得ることができ、最終的に 12 種の全ての野生 *Ipomoea* 属植物とサツマイモとを識別可能な DNA マーカーを得た (図 1)。次に、サツマイモ組換え体とソコベニヒルガオとの交雑により得られた種子を育成し、CP 遺伝子のジーンフローおよび雑種性の DNA マーカーによる雑種性の検定を実施した。その結果、今回得られた後代には CP 遺伝子は検出されたが (図 2A)、雑種性の DNA マーカーでの判別の結果、サツマイモ組換え体 (母本) と同じ増幅パターンを示し、雑種ではないという結果を得た (図 2B)。さらに、形態調査の結果 (図 3) から、雑種ではないという結論が得られた。以上の事から、今回得られたソコベニヒルガオとの交雑種子は、雑種ではなく、何らかの原因によるサツマイモ組換え体の自殖の可能性が高いという結論を得た。しかしながら、本研究で開発した DNA マーカーを用いれば、サツマイモと野生 *Ipomoea* 属植物の雑種性の識別が可能であり、今後のサツマイモ組換え体の生物多様性影響評価に応用できるものと考えられた。

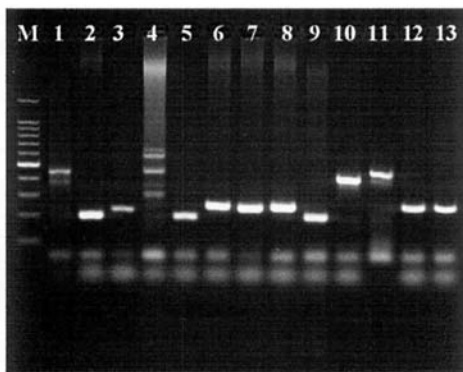


図1. GBSSIイントロン領域を用いたサツマイモ組換え体と野生植物とのPCR多型
 M. 100bpラダー
 1. サツマイモ組換え体EP 5. アメリカアサガオ 10. マメアサガオ
 2. ノアサガオ 6. グンバイヒルガオ 11. ホシアサガオ
 3. ヒメノアサガオ 7. アツバアサガオ 12. ルコウソウ
 4. ソコベニヒルガオ 8. モミジアサガオ 13. マルバルコウ
 9. アサガオ

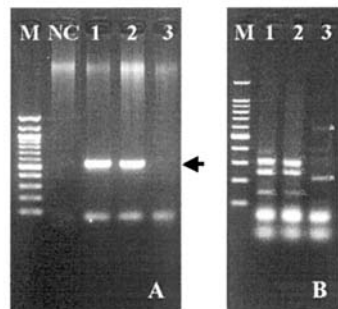


図2. サツマイモ組換え体とソコベニヒルガオとの交雑により得られた後代における組換え遺伝子 (CP) のジーンフローと雑種性の調査
 A: 組換え遺伝子 (CP)
 B: 雑種性の検定
 M. 100bpラダー
 NC. 非組換えサツマイモ
 1. サツマイモ組換え体
 2. 交雑後代
 3. ソコベニヒルガオ
 *: サツマイモ由来バンド
 **: ソコベニヒルガオ由来バンド

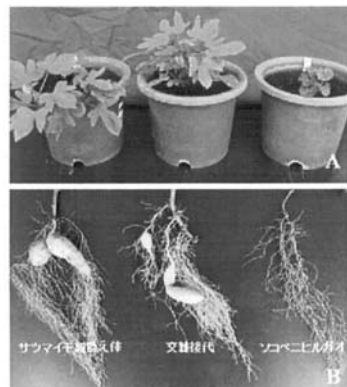


図3. サツマイモ組換え体、ソコベニヒルガオおよび交雑後代の形態的特長
 A: 草型, B: 地下部