

エステラーゼ酵素多型を利用したニラ交雑個体の選抜

1. 試験のねらい

ニラは90%以上が単為生殖を行う植物であると推定されており、交雑育種の大きな障害となっている。そこで、何らかの方法によりF₁個体の選抜を加えることが、育種効率の向上に資するものと考えられた。このため、活性が安定しており、多型が得られるエステラーゼ酵素を指標とした交雑個体の選抜法を検討した。

2. 試験方法

供試材料

小山在来 a、小山在来 b (カルス経由再分化個体)、小山在来 c (カルス経由再分化個体の中から選抜した抽苔株)、たいりょう、きぬみどりを交配親とし、当场野菜部の慣行法により平成5年及び平成6年度に交配を行い得られたF₁個体 (以下93、94交雑系という) を供試した (表-1)。

等電点電気泳動条件

新葉30mgを採取し、可溶性タンパク質の分離・抽出を行い電気泳動用試料とした。泳動はファルマシア製の等電点電気泳動装置 (MultiphoreII) を使用し、両性電解質としてpI4~6のキャリアアンフォライン (LKBファルマシア製) を7.5%(v/v)加えたポリアクリルアミドゲルによる等電点電気泳動を行い、タンパク質の分離を行った。

エステラーゼ酵素の活性染色条件

泳動の終了したゲルは Tanksly らの方法に従い直前に調整した染色液に浸漬し、エステラーゼ酵素の活性染色を行った。その後、5%酢酸溶液に移して染色反応を停止し、出現したバンドを解析した。図-1に実際の染色像の様子を示した。

3. 試験結果および考察

F₁個体の出現頻度は0~31.4%と組合せにより差が認められた。特に小山在来 (aまたはc) ×たいりょうは3つの集団で約30%の個体がF₁であると推定され、小山在来の潜在的な有性生殖率は30%以上であると考えられた。また、94交雑系の小山在来c×たいりょうは15.2%と低い頻度であったが、93交雑系では同一の株で30%が交雑しているという結果が得られていることから、年次間差かあるいは供試個体数が少なかったことが影響したものと考えられた。この逆の交配では93、94交雑系とも4.4%の交雑しか認められなかった。小山在来が母親の場合にのみ有性生殖頻度が高いという結果は、単為生殖性が母親の形質に依存することを示唆している。また、生育調査によるF₁選抜と酵素多型による選抜とを比べたところ、酵素多型選抜によって得られた株数は圧倒的に多く、なおかつ圃場選抜個体は酵素多型選抜結果とあまり一致しないという結果が得られた (表-1)。このことから、本方法をニラの育種現場、特に定植前の苗養成期間中の個体に適用することにより、選抜効率や圃場の利用効率或いは育種の労力を大幅に省力化することが可能であると思われる。

4. 成果の要約

酵素多型により推定された交雑率は組合せ毎に異なっており、特に小山在来×たいりょうの組合せで約30%が交雑していた。しかし、その逆の組合せでは交雑率は4.4%と低く、単為生殖が母親の性質に強く依存していることが明らかとなった。また、酵素多型による選抜と従来の圃場での選抜とを比較したところ、圃場選抜は逸脱する株数が多く、選抜株中には誤認した株も含まれていることから、酵素多型選抜の有用性が明らかとなった。

(担当者 生物工学部 天谷正行)

表-1 エステラーゼ酵素多型によるF₁個体選抜結果

交配組合せ	93交雑系			94交雑系		
	供試株数	酵素多型選抜F ₁ 株数(%)	圃場選抜F ₁ 株数(IEFとの一致株数)	供試株数	酵素多型選抜F ₁ 株数(%)	圃場選抜F ₁ 株数(IEFとの一致株数)
小山在来a×たいりょう*				285	79 (27.7)	17 (14)
小山在来c×たいりょう	317	97 (30.6)	18 (12)	46	8 (17.4)	1 (0)
たいりょう×小山在来a	113	5 (4.4)	3 (2)	91	4 (4.4)	0 (0)
きぬみどり×小山在来a	137	4 (2.9)	7 (1)			
小山在来b×きぬみどり				75	10 (13.3)	4 (2)
小山在来c×きぬみどり	58	1 (1.7)	2 (1)			
きぬみどり×たいりょう	67	1 (1.5)	5 (0)	85	0 (0.0)	0 (0)
たいりょう×きぬみどり	86	8 (9.3)	4 (2)	67	2 (3.0)	0 (0)
小山在来bセルフ				89	1 (1.1)	0 (0)
小山在来cセルフ	58	1 (1.7)	1 (0)			
たいりょうセルフ				36	1 (2.8)	0 (0)

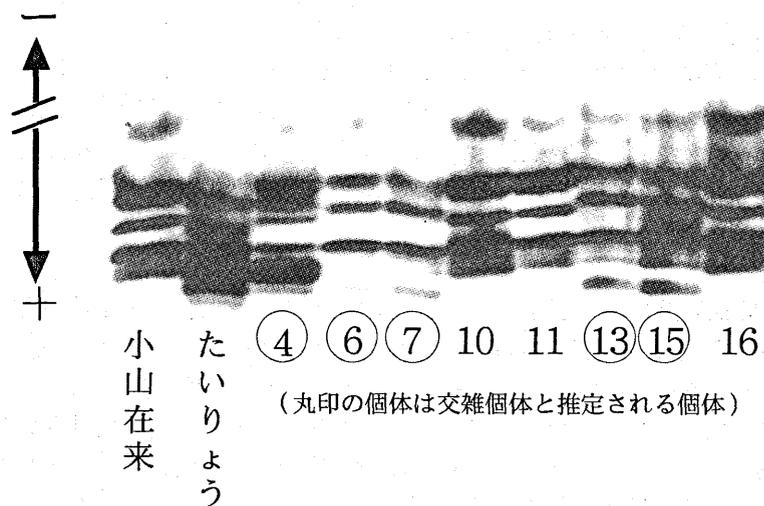


図-1 小山在来a×たいりょうF₁個体の等電点電気泳動 (pI 4~6)によるエステラーゼアイソザイム型