

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) マーカーによるニラの品種識別

1. 試験のねらい

ニラは高度に単為生殖する性質があるため、交配による育種においてはF₁交雑個体の早期選抜法を確立することが必要である。このため、現在では、エステラーゼ酵素多型の違いを利用してF₁個体の選抜を行っているが、当场が有するニラ遺伝資源のうち68%が同一の酵素多型を有することから、この方法に代わる識別精度の高い方法の確立が望まれていた。そこで近年様々な植物において利用されているDNAの増幅パターンの違いによる識別法の確立を試みた。

2. 試験方法

材料として野菜部が有するニラ遺伝資源38品種を供試した。各品種の葉身組織からCTAB法により高分子DNAを抽出し、任意に合成されたプライマー(12mer48種、10mer20種)により遺伝子増幅反応を行った。増幅されたDNA断片をエチジウムブロマイドによって染色して確認し、品種間で多型を示したものについて分子サイズを推定してRAPDマーカーとした。各プライマー毎に得られたRAPDマーカーの情報からクラスター分析(nearest neighbour法)により品種間の遺伝的距離を計算した。

3. 試験結果および考察

- (1) 68種の合成プライマーのうち48種において増幅断片が確認されたが、品種間であまり差異の検出できなかったものや、不明瞭な増幅パターンのものを除くと、識別に使用が可能なプライマーは22種であった。(図-1 a, b)。この結果、236個のRAPDマーカーを同定することができた。
- (2) RAPDマーカーの内、再現性の高い181個から得られた品種毎の多型情報をクラスター分析したところ、エステラーゼ酵素多型では識別不可能であったグループは2つのクラスターを形成していることが明らかとなった。また、RAPDマーカーによりこれらを識別することが可能であった。また、不抽だい性品種である小山在来と大分在来がほとんど同一の品種であることが明らかとなった(図-2)。

4. 成果の要約

RAPDマーカーを利用することで、エステラーゼ酵素多型では区別できなかったニラ遺伝資源の識別を行うことができた。また、クラスター分析の結果からニラの遺伝的背景を推定することができた。

(担当者 生物工学部 天谷正行)

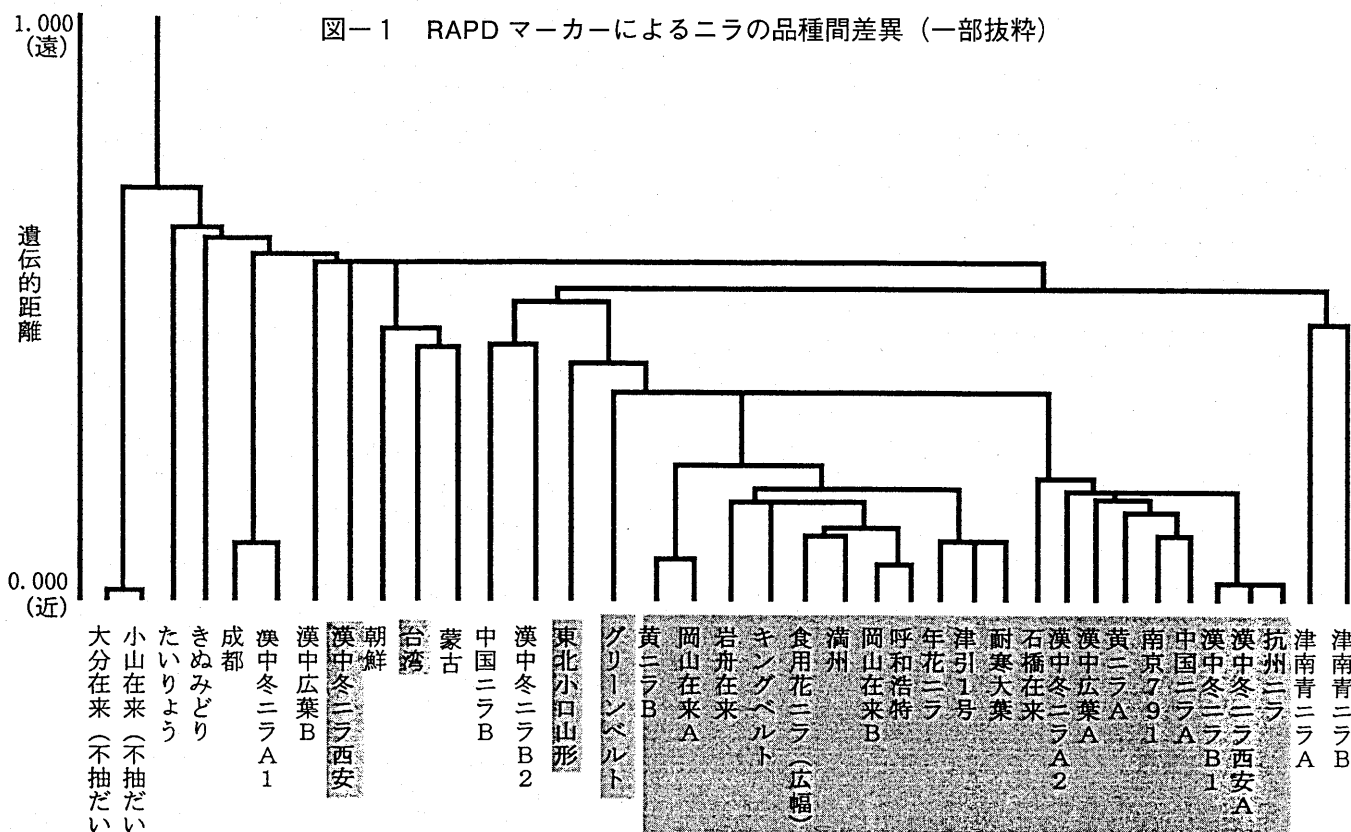
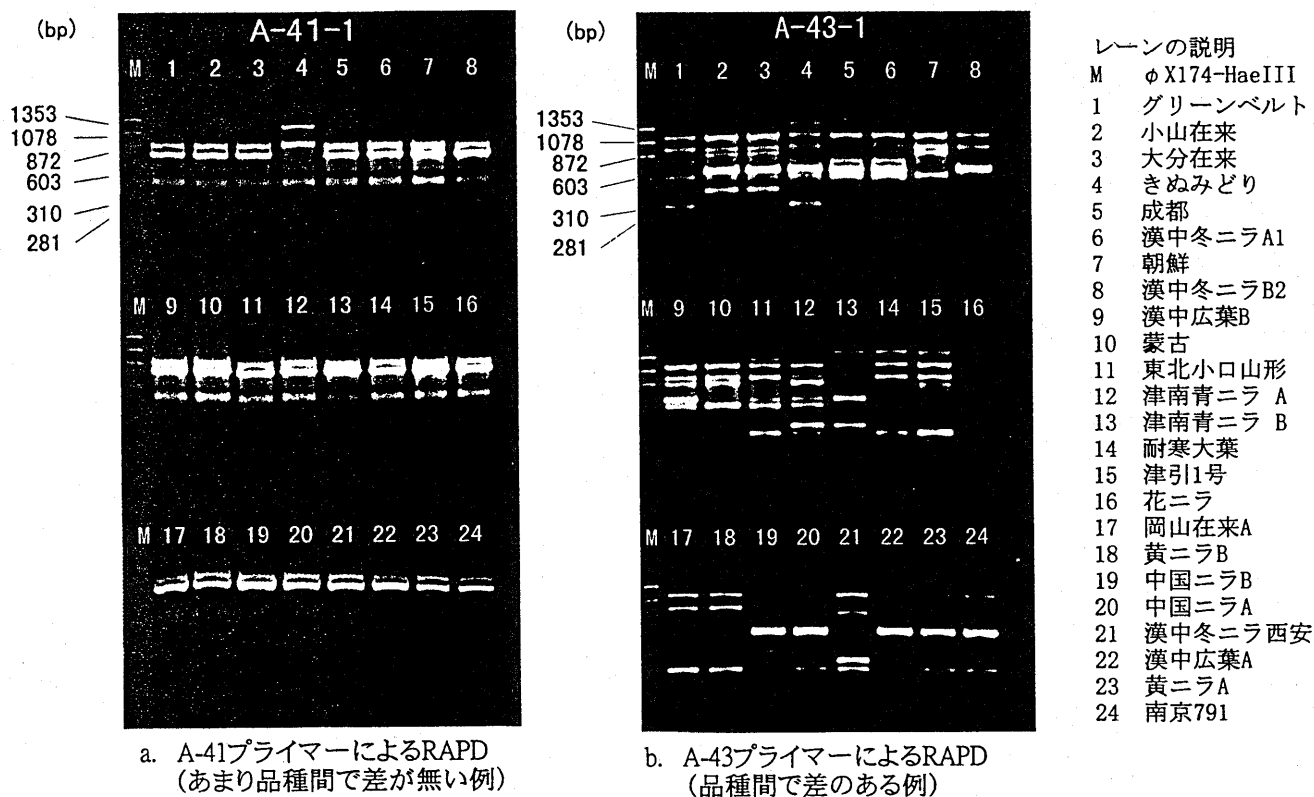


図-2 RAPD マーカーから推定されたニラ遺伝資源の遺伝的距離

DISTANCE METRIC IS 1-PEARSON CORRELATION COEFFICIENT
SINGLE LINKAGE METHOD (NEAREST NEIGHBOUR)
SAMPLE = 37, RAPD marker = 181 (19primers)
□の品種は同一のエステラーゼ酵素多型を持つグループ