

うど系統の DNA マーカーによる分類

1. 試験のねらい

うどは、遺伝資源収集に際し、外観形質だけでは特性の評価がしにくく、育種母本の分類が難しい。そこで、DNA マーカーを利用して、うどの品種および系統を分類し、類縁関係を明らかにすることにより、育種の効率化に資する。

2. 試験方法

(1) 供試材料

県内で収集した 16 系統（地区ごとに A、B、C および D に区分）

県外で収集した 20 系統（E に区分） 計 36 系統

(2) 方法

各系統の未展開葉（100mg）を液体窒素中で粉碎し、Nucleon Phytopure 抽出キット（Amersham 社）を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA は RAPD（Random Amplified polymorphic DNA）法により 37 種類のランダムプライマー（operon: OPA-1、2、7、15、19、OPB-3、5~8、10~20、OPC-1、2、4~6、9~16、18~20；ニッポンジーン：A6、8、22、31）を用い PCR を行った。PCR 条件は、95 で DNA を 3 分間変性後、熱変性 93 ・1 分、アニーリング 40 ・1 分、伸長反応 72 ・1 分を 40 サイクル行い、最後に 72 で 5 分間伸長反応を行った。得られた PCR 増幅産物は、1.5% アガロースゲルで電気泳動した後、30 分間エチジウムブロマイドで染色した。検出された 0.3~2.2kbp の範囲にある増幅バンドについて、UPGMA 法によるクラスター分析（解析ソフト：Real octan ver. 2.0）を行った。

3. 試験結果および考察

(1) 37 種類のランダムプライマーを用いて PCR を行った結果、0.3~2.2kbp の範囲で増幅バンドが 127 個得られた。そのうち 42 個の増幅バンドが系統間差異を示した（図-1）。

(2) 127 個の増幅バンドを用いてクラスター分析を行った結果、系統間の類似係数はほぼ 0.9 以上を示し、遺伝的に類似していることが推察された（図-2）。また、収集地区ごとに検討した結果、A 地区の 4 系統（A-2、5、7 および 8）は類似係数が 1.0 であり、同一の可能性が示唆された。

4. 成果の要約

県内 16 系統、県外 20 系統のうどを収集し、合計 36 系統の類縁関係を明らかにした。本試験に使用した系統間の類似係数は高く、供試系統は遺伝的に類似していると推察された。得られた系統樹は今後育種の基礎データの一部として、育種母本の選定に活用する。

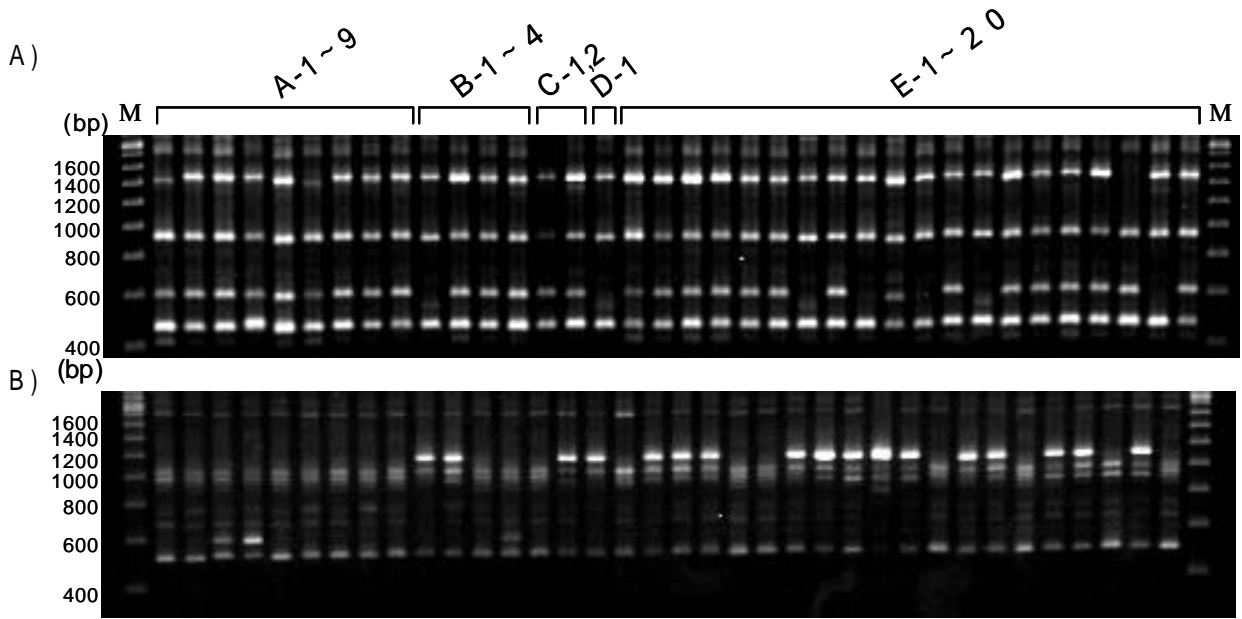


図 - 1 RAPD 法によるうど系統間差異
 使用プライマー：A)OPB6, B)OPC8 M：分子量マーカー（200bp ladder）
 矢印は多型を示す。

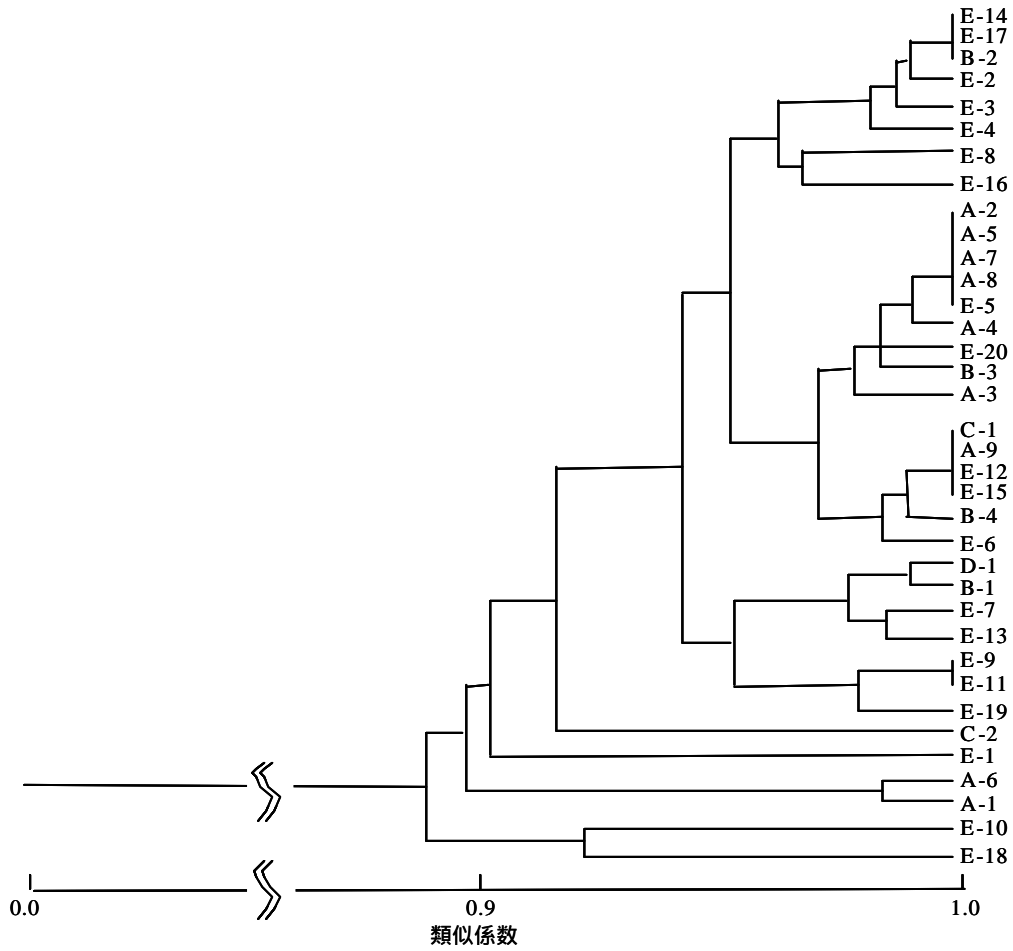


図 - 2 UPGMA 法によるうど系統樹