

いちご品種を識別できる DNA マーカーの開発

1. 試験のねらい

種苗法による育成者権の保護や JAS 法による農産物の表示義務等により、DNA レベルでの品種識別技術の開発が重要となっている。いちごにおいても、流過程でのチェックや食品加工時における材料の確認等に利用されることが想定され、より簡易で効率的な識別方法および品種特異的なマーカーの開発が必要である。そこで、本県育成いちご品種である「とちおとめ」および「とちひめ」を含むいちご品種等が簡易に識別可能な DNA マーカーを開発する。

2. 試験方法

(1) 供試材料

とちおとめ、女峰、さちのか、とよのか、章姫、さがほのか、福岡 S6 号（あまおう）、アスカルビー、レッドパール、とちひめ、栃の峰、はるのか、濃姫、紅ほっぺ、麗紅、久留米 49 号、莓香（メイヒャン、韓国育成品種） 計 17 品種・系統

(2) RAPD による多型検出

上記品種・系統から抽出した DNA を、465 種類のランダムプライマーを用いて、PCR を行い、増幅する RAPD マーカーを検出した。

(3) RAPD マーカーの視認性・再現性向上のための STS 化

品種識別が可能な RAPD マーカーは、バンドを切り出し、TA クローニング後、塩基配列を決定した。得られた塩基配列情報をもとにプライマーを設計し、17 品種・系統の DNA を用いて STS 化マーカーの増幅の有無を検討した。

3. 試験結果および考察

(1) 465 種類のランダムプライマーを用いて PCR 増幅を行った結果、384 プライマーで RAPD マーカーの増幅が認められた。品種識別に用いることができる明瞭なマーカー 33 個を選抜した。

(2) 33 個の RAPD マーカーについて STS 化を行い、品種識別に用いることができる 13 個の STS 化マーカーを作製した（表 1）。国内主要 8 品種（とよのか、とちおとめ、女峰、さちのか、章姫、さがほのか、福岡 S6 号（あまおう）、アスカルビー）内を識別する場合、3 種類のプライマーセット（RAPD-STS-6、7、13-F・R または RAPD-STS-7、8、13-F・R）で識別が可能となった（表 2）。17 品種・系統の識別は、6 種類のプライマーセット（RAPD-STS-5、6、7、8、10、13-F・R または RAPD-STS-6、7、8、10、11、13-F・R）で識別が可能となった（表 2）。

(3) 「とちおとめ」を 1 回の PCR で識別できる条件を検討した結果、3 種類のマーカー（RAPD-STS-1,2 および PCR の成否を判定するマーカー）を一度に検出することができた（表 1、図 1-A）。

(4) 「とちひめ」に関しては、プライマー RAPD-STS-3 または RAPD-STS-4 により 1 回の PCR で識別が可能となった（表 1、図 1-B）。

(5) いちご 17 品種・系統を個別に識別可能なマーカー組合せを決定した（表 2）。

4. 成果の要約

国内主要いちごを含む 17 品種等を識別できる DNA マーカーを開発した。特に、本県育成品種である「とちおとめ」および「とちひめ」に関しては 1 回の PCR で簡易に識別することが可能となった。いちごの流過程で使用することにより、他品種の混入チェックや違法流通の抑止に貢献できる。

（担当者 生物工学部 遺伝子工学研究室 田崎公久）

表 1 いちご 17 品種・系統における識別マーカーの有無

プライマー	とちおとめ	とちひめ	女峰	栃の峰	久留米49号	麗紅	さちのか	とよのか	はるのか	章姫	紅ほっぺ	レッドパール	濃姫	アスカルビー	あまおう	さがほのか	莓香
RAPD-STS-1-F・R	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
RAPD-STS-2-F・R	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
RAPD-STS-3-F・R	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RAPD-STS-4-F・R	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RAPD-STS-5-F・R	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+
RAPD-STS-6-F・R	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
RAPD-STS-7-F・R	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
RAPD-STS-8-F・R	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+
RAPD-STS-9-F・R	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+
RAPD-STS-10-F・R	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
RAPD-STS-11-F・R	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+
RAPD-STS-12-F・R	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
RAPD-STS-13-F・R(1)	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-
(2)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(3)	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+
(4)	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-

注) +はバンド有、-はバンド無を示す

表 2 イチゴ品種・系統間を識別するプライマーの最少組合せ

プライマー	主要8品種 ¹	17品種・系統	とちおとめ	とちひめ	女峰	栃の峰	久留米49号	麗紅	さちのか	とよのか	はるのか	章姫	紅ほっぺ	レッドパール	濃姫	アスカルビー	あまおう	さがほのか	莓香	
RAPD-STS-1-F・R																				
RAPD-STS-2-F・R																				
RAPD-STS-3-F・R																				
RAPD-STS-4-F・R																				
RAPD-STS-5-F・R																				
RAPD-STS-6-F・R		*2																		
RAPD-STS-7-F・R		*2																		
RAPD-STS-8-F・R																				
RAPD-STS-9-F・R																				
RAPD-STS-10-F・R																				
RAPD-STS-11-F・R																				
RAPD-STS-12-F・R																				
RAPD-STS-13-F・R																				

*1: とよのか、とちおとめ、女峰、さちのか、章姫、さがほのか、福岡36号(あまおう)、アスカルビー

*2: RAPD-STS-6-F・RまたはRAPD-STS-7-F・Rを用いる。

*3: RAPD-STS-5-F・RまたはRAPD-STS-11-F・Rを用いる。

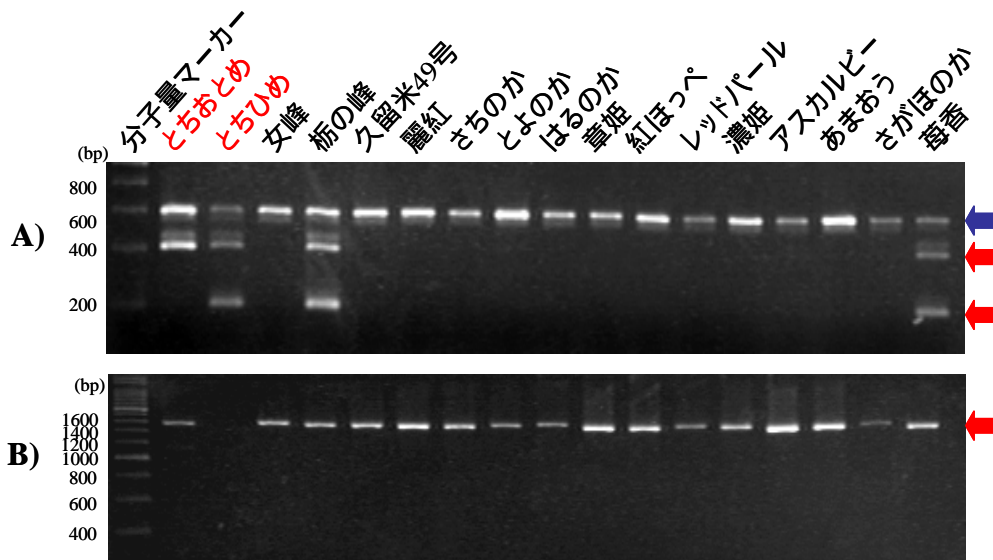


図1 「とちおとめ」および「とちひめ」識別マーカー

A) 「とちおとめ」識別マーカー：赤矢印のマーカーの組み合わせにより「とちおとめ」が識別できる

(とちおとめ：マーカー1個、とちひめ・栃の峰・莓香：マーカー2個)

B) 「とちひめ」識別マーカー：「とちひめ」のみマーカーが検出されない。

プライマー：A) RAPD-STS-1-F・R、RAPD-STS-2-F・R、positive control (pectate lyaseより設計)

B) RAPD-STS-3-F・R

分子量マーカー：200bp ladder

←：識別マーカー、←：PCRの成否を判定するマーカー