

# にらの単為発生性に連鎖する DNA マーカーの開発

## 1. 試験のねらい

にらでは両性生殖性系統（本試験では非単為発生性と同義）を母親に利用することで、 $F_1$ を得ることが可能となったが、花粉親に単為発生性品種を用いる限り、後代では単為発生性個体が分離してしまう。従って、自家採種が可能な単為発生性品種を育成するには、2年株が開花してから胚珠観察によって生殖型を判定する必要がある。そこで、本試験では実生苗の段階で単為発生性の判定を行うことで育種の効率化を図るため、単為発生性を判定するための DNA マーカーを開発する。

## 2. 試験方法

### (1) マーカー開発に使用した系統

H12C2（非単為発生性）×テンダーポール（単為発生性）および H12C2（非単為発生性）×成都（単為発生性）のそれぞれ  $F_1$  集団を作製し、胚珠観察によって単為発生性を調査した。

### (2) 単為発生性の判定に利用する DNA マーカーの検索

非単為発生性個体（単為発生率 0%）と、高度な単為発生性個体（単為発生率 100%）を 5~10 個体選び、それぞれ DNA を混合してバルク DNA を作製した。1,400 種類の合成プライマーを利用して RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 法によりマーカー多型を検出し、バルク DNA 間で比較を行い、高度な単為発生性個体に特有なマーカーを選抜した。

### (3) 選抜したマーカーの汎用性確認試験

野菜研究室が平成 19 年度に交配した 4 組合せの  $F_1$  実生について、単為発生性連鎖マーカーの有無を確認し、併せて胚珠観察による単為発生性について調査した。

## 3. 試験結果および考察

(1) H12C2（非単為発生性）×テンダーポール（単為発生性）の試験から 2 個の単為発生性に連鎖する DNA マーカーが得られ、PLM1 および PLM3 と命名した（図 - 1）。これらは、約 97% の精度で単為発生性個体か否かを判定できた（表 - 1）。PLM1 および PLM3 は、野菜研究室が保存している単為発生性にら遺伝資源のほとんどが有していたが、「成都」には無いことが調査の結果判明した。

(2) H12C2（非単為発生性）×成都（単為発生性）を材料として、同様にマーカー検索を行った結果、1 個の DNA マーカーを選抜し、PLM4 と命名した。PLM4 で単為発生性を判定することで、H12C2（非単為発生性）×成都（単為発生性）の集団を約 96% の精度で判定できた。

(3) 平成 19 年度に野菜研究室が交配した系統 (07-1~4) の一部について、PLM1 および PLM3 のマーカー型と胚珠観察による表現型との適合度を調査した結果、100% 一致していた（表 - 2）。このことから、本マーカーは「テンダーポール」以外の単為発生性品種でも利用可能なことが示された。PLM4 と併せて利用することで、より多くの単為発生性品種の交配に対応可能であると推察された。

## 4. 成果の要約

にらの単為発生性に連鎖する 3 個の DNA マーカーを開発した。本マーカーは多くのにら品種に適応可能であり、これらを利用することで開花期を待たずに単為発生性の有無を判定可能である。非単為発生性個体と併用することで、にらの品種育成を効率的に行うことが可能となった。

（担当者 生物工学部 遺伝子工学研究室 天谷正行、中澤佳子、松本紀子\*、飯村一成）

\*現 栃木県農業大学校

表-1 { H12C2 (非単為発生性) × テンダーポール (単為発生性) } F<sub>1</sub> における DNA マーカー型と表現型 (単為発生型) との適合率

マーカー名	表現型別のマーカー型分離				表現型とマーカー型の適合率(%)	$\chi^2$ (50:40) <sup>1)</sup>	P
	単為発生		非単為発生				
	マーカー有	マーカー無	マーカー有	マーカー無			
PLM1	49	1	3	37	95.6	0.245	0.5<p<0.75
PLM3	48	2	0	40	97.8	0.08	0.75<p<0.9

注. 単為発生性個体 50 個体、非単為発生性個体 40 個体に対するマーカー型の観察結果をカイ二乗検定した。

表-2 PLM1 および PLM3 の汎用性調査結果

交配No.	母	父	PLM1,PLM3有り		PLM無し		適合率(%)
			単為発生	非単為発生	単為発生	非単為発生	
07-1	H12C2	04-4-43	10	0	0	4	100
07-2	H12C2	パワフルグリーンベルト	12	0	0	7	100
07-3	H12C2	杭州ニラ	9	0	0	12	100
07-4	00-03-81	漢中冬ニラa	-	-	0	6	100

注 1. 交配は全て、母は非単為発生系統、父は単為発生品種・系統を使用している。

2. 各交配集団から無作為に株を選び、20 個以上の胚珠について観察を行った。

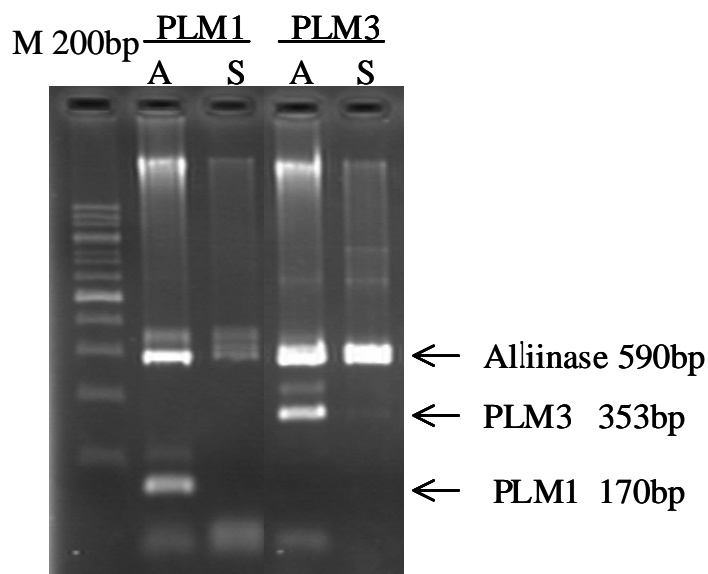


図-1 単為発生性連鎖マーカーによる判定例

注). A:単為発生性 DNA、S:非単為発生性 DNA、  
M:分子量マーカー、Alliinase:コントロール DNA