

イチゴ炭疽病耐病性遺伝子の機能解析に用いる 2 倍体野生種系統の選定

1. 試験のねらい

いちごの遺伝子機能解析には 8 倍体の栽培種ではなく、解析が容易な 2 倍体を用いることが有用と考えられる。一方で、炭疽病耐病性に関連する遺伝子は品種特異的であり、その様な普遍的でない遺伝子を解析するためには、可能な限り栽培種と遺伝的に近縁であることが望ましい。そこで、炭疽病耐病性遺伝子候補の機能を解析するため、形質転換系に用いる炭疽病耐病性が低く栽培種と遺伝的に近縁な 2 倍体野生種系統を選定する。

2. 試験方法

(1) 炭疽病菌の接種は、いちご 2 倍体野生種 16 系統および 8 倍体栽培種 5 品種を供試し (図-1)、 1.0×10^5 個/ml に調整したイチゴ炭疽病菌 (*Glomerella cingulate*, OTT512 菌株) 分生子懸濁液を噴霧した。発病調査は、発病指数 0 : 発病なし、1 : 斑点型病斑を形成、2 : 分生子層または葉柄に黒褐色の陥没病斑を形成、3 : 萎凋、4 : 枯死の基準で行い、下記の計算式に従って発病度を算出した。なお、接種は平成 19 年および 20 年に実施し、各系統・品種とも 10 株ずつ供試した。

$$\text{発病度} = \left[\frac{\sum (\text{発病指数} \times \text{発病指数別株数})}{4 \times \text{調査株数}} \right] \times 100$$

(2) 供試系統の倍数性は、フローサイトメーター (partec 社製 PA) を用い、各供試系統の蛍光強度を対照のとちおとめと比較して推定した (表)。
(3) 遺伝的類縁関係は、DNA マーカーを用いたクラスター分析によって推定した。DNA マーカーは、栃木農試で作出した 8 倍体栽培種用の SSR プライマーおよび AFLP プライマー各 10 ペアを供試し、各供試系統および栽培種のとちおとめといちご中間母本農 2 号を PCR 増幅した (図-2)。

3. 試験結果および考察

(1) 炭疽病耐病性検定の結果、2 年間とも罹病性の対照品種に比較し発病度が高かった系統は、Alexandria、シロバナノヘビイチゴ C、C3 および Alba であった (図-1)。
(2) 供試系統の倍数性は、フレスカが 8 倍体と推定された以外 2 倍体と推定された (表)。
(3) SSR プライマーおよび AFLP プライマー各 10 ペアを用いた PCR 増幅の結果、それぞれ 85 種類および 97 種類の DNA マーカーが検出された。
(4) 得られた DNA マーカーを供試してクラスター分析を行った結果、*Fragaria vesca* は他のクラスターとは独立した 1 つのクラスターを形成した。また、種名が分からないワイルドイエローワウンダーは *F. vesca* のクラスター内に、8 倍体と推定されたフレスカは 8 倍体栽培種と同じクラスターに位置付けられた。シロバナノヘビイチゴ A~C とエゾクサイチゴは同じクラスターに分類され、8 倍体栽培種から離れて位置付けられた (図-2)。
(5) 以上の結果から、炭疽病耐病性が低く、8 倍体栽培種と遺伝的に近い Alexandria、C3 および Alba を、形質転換系に用いる 2 倍体野生種系統として選定した。

4. 成果の要約

炭疽病耐病性検定、倍数性調査および遺伝的類縁関係の調査結果から、イチゴ炭疽病耐病性遺伝子候補を導入して機能を解析するための、2 倍体野生種に属する 3 系統を選定した。

(担当者 生物工学研究室 高野純一*、生井潔)

*現 塩谷南那須農業振興事務所

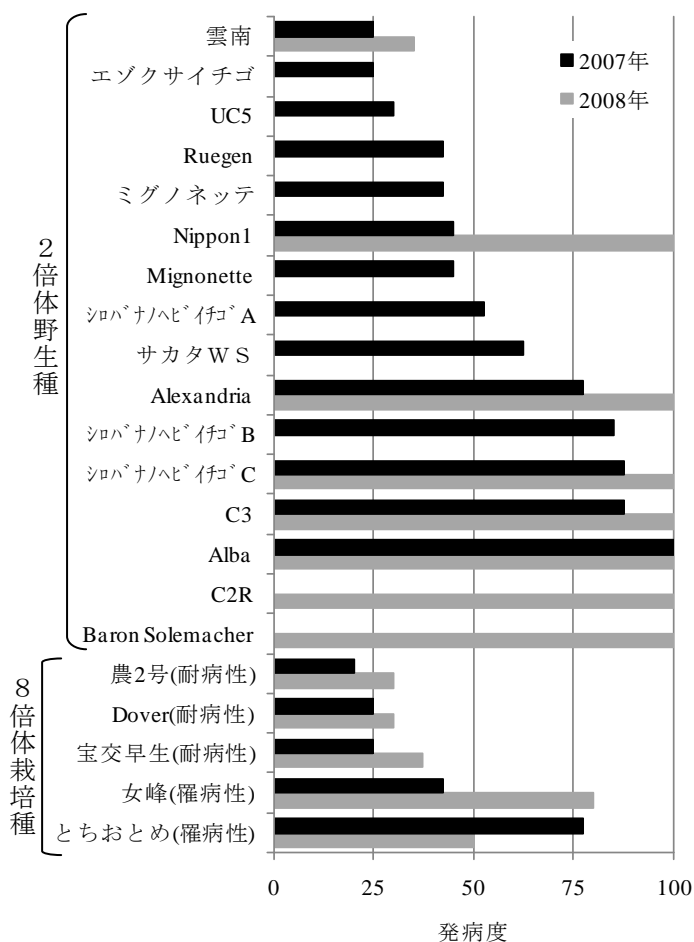


図-1 炭疽病菌接種 40 日後における各供試系統の発病度

- 注 1. 農 2 号はいちご中間母本農 2 号を示す。
 2. 8 倍体栽培種の耐病性および罹病性は、炭疽病に対する反応を示す。

表 倍数性調査結果

種名および系統名	倍数性
<i>Fragaria vesca</i>	
Vesca	2x
UC-5	2x
Mignonette	2x
Reugen	2x
Alexandria	2x
Alba	2x
Nippon1	2x
C2R	2x
C3	2x
Super Baron Solemacher	2x
Baron Solemacher	2x
サカタWS	2x
ワイルドストロベリーA	2x
ワイルドストロベリーB	2x
ミグノネッテ	2x
フレスカ	8x
<i>F. nipponica</i>	
シロバナノヘビイチゴA	2x
シロバナノヘビイチゴB	2x
シロバナノヘビイチゴC	2x
<i>F. iinumae</i>	
ノウゴウイチゴ	2x
<i>F. yezoensis</i>	
エゾクサイチゴ	2x
<i>F. nilgerrensis</i>	
雲南	2x
不明	
ワイルドイエローワンダー	2x
<i>F. × ananassa</i> (8倍体栽培種)	
とちおとめ	

注. 種名は分譲時または購入時の付帯情報による。

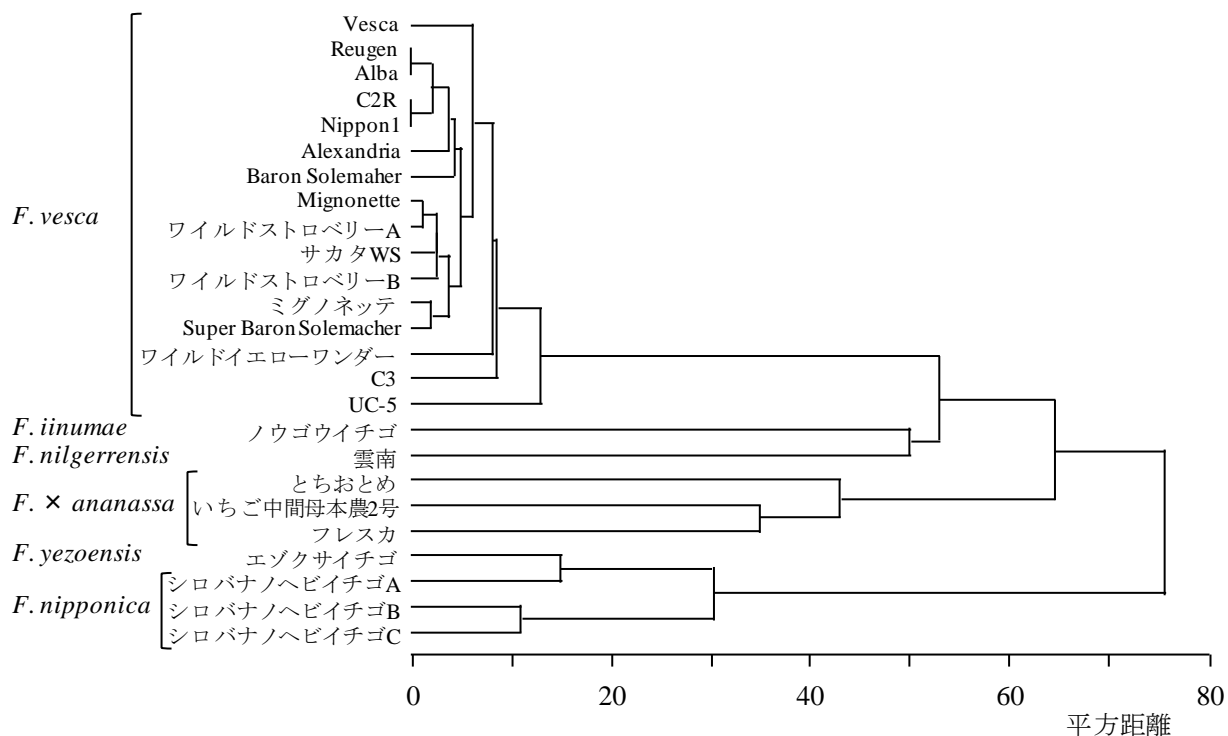


図-2 DNA マーカーによる遺伝的類縁関係の推定結果