

いちごゲノム情報解析による 新規四季成り性連鎖 DNA マーカーの開発

1. 成果の要約

いちご四季成り性に関する新たな連鎖 DNA マーカー FAN-indel-21 及び Fvb-indel-H を開発し、このうち FAN-indel-21 を用いて実生苗選抜における適用性を検証した。本マーカーは、本県の四季成り性育種におけるほぼ全ての交配組合せに利用可能であり、既存マーカーよりも適用範囲が広く、四季成り性判定時の識別性に優れる。

2. キーワード

DNA マーカー、いちご、四季成り性、品種育成、ポストラベル法

3. 試験のねらい

四季成り性いちごの品種開発の効率化・加速化を図ることを目的として、本県の四季成り性育種の交配組合せなどに幅広く利用可能かつ高い識別性を有する四季成り性連鎖 DNA マーカーを開発し、四季成り性品種開発における実生苗選抜における適用性を明らかにする。

4. 試験方法

供試材料は、いちご研究所育成四季成り性系統 12-53-1、一季成り系統 14-6-12 及び 12-53-1×14-6-12 F₁ 集団 104 個体 (No.96 集団) を用いた。季性調査は、定植直後から約 3 か月間電照により 24 時間日長条件とし、その後約 1 か月の通常栽培で計 4 か月間のうちに開花した系統を四季成り性と判定した。シーケンスライブラリーは、12-53-1 及び 14-6-12 のそれぞれの DNA、四季成り性 F₁ 及び一季成り性 F₁ 各々 20 個体の DNA をそれぞれバルク化し、合計 4 種類の DNA を供試して作製した。四季成り性連鎖マーカーを検索するため、公開されているイチゴゲノムデータベース ①FAN_r2.3 (Shirasawa ら, 2021) 及び ②Fragaria x ananassa Camarosa Genome Assembly v1.0.a1 (Edger ら, 2019) をリファレンスゲノムとして、一季成り性ライブラリーに共通かつ四季成り性ライブラリーに特異的な DNA 多型 (InDel) を抽出した。各品種・系統の DNA 多型は、PCR 産物をポストラベル法で標識し、DNA シーケンサーにより検出した。上記親系統に加え、四季成り性の栃木素材 3 号、08-58-5、一季成り性の 98-7-3、栃木 26 号、古都華、かおり野の計 8 品種・系統の DNA 多型を調査し、四季成り性連鎖マーカー候補を選定した後、交配集団 (No.96 集団及び No.92 集団: 11-82-4×14-1-2 F₁ 107 個体) における DNA 多型を調査した。また、いちご研究所新品種育成試験の 2022 年交配親及び実生苗 986 個体について、FAN-indel-21 を用いて検定を実施した。

5. 試験結果および考察

- (1) 四季成り性連鎖マーカーの検索を行った結果、①の結果から FAN-indel-21、②の結果から Fvb-indel-H を見出した。これらは、四季成り性である 12-53-1、栃木素材 3 号、08-58-5 にのみ共通したアレルが検出され、かつ四季成り性アレルの識別性が高いという特徴を有していた (表-1)。
- (2) No.96 集団における季性適合率は、双方とも 95.2% であり、これまでの選抜に使用していたマーカー FAN4Bib_330 と同等であった。No.92 集団における季性適合率は、双方とも 96.3% であり、FAN4Bib_330 よりわずかに高い結果であった (表-2)。また、2022 年品種育成試験の交配親における FAN-indel-21 の 311 アレル (四季成り性連鎖アレル) の保有状況を調査した結果、四季成り性 7 品種・系統の全てで検出された。一方、一季成り性品種・系統については、8 品種・系統全てで検出されなかった。
- (3) 2022 年交配実生苗のマーカー選抜の結果、986 個体のうち、四季成り性連鎖アレルを有する個体は 532 個体と判定した (表-3)。なお、5 交配組合せ全てで理論分離比に適合 ($p>0.05$) した。

※本研究は宇都宮大学との共同研究により実施した。

(担当者 研究開発部 生物工学研究室 阿部朋孝*1、川崎美穂、柏谷祐樹、中澤佳子*2)

*1 現経済流通課 (一社) とちぎ農産物マーケティング協会派遣)、*2 現下都賀農業振興事務所

表-1 四季成り性連鎖マーカーの検索結果

マーカー	12-53-1	14-6-2	栃木素材 3号	08-58-5	98-7-3	古都華	栃木26号	かおり野	最大 アレル数	アレルの 種類
FAN-indel-21	307/ 311	307	307/ 311	307/ 311	307	307	307	307	2	2
Fvb-indel-H	237/ 276	237	237/ 276	237/ 276	237	237	237	237	2	2

注1 下線・太字（色付き）は、四季成り性連鎖アレルを示す

注2 四季成り性品種・系統は網掛け

表-2 交配集団における季性適合率

交配集団	マーカー名	遺伝子型	遺伝子型 による季性	個体数	24時間日長処理		季性 適合率 (%)
					四季成り性 個体数	一季成り性 個体数	
No.96 (12-53-1×14-6-12 F ₁)	FAN-indel-21	307/ 311	四季成り	57	53	4	93.0
		307	一季成り	47	1	46	97.9
		合計・平均		104	54	50	95.2
	(参考) FAN4Bib_330	143/ 144	四季成り	57	53	4	93.0
		143/146	一季成り	47	1	46	97.9
		合計・平均		104	54	50	95.2
No.92 (11-82-4×14-1-2 F ₁)	FAN-indel-21	307/ 311	四季成り	54	52	2	96.3
		307	一季成り	53	2	51	96.2
		合計・平均		107	54	53	96.3
	(参考) FAN4Bib_330	143/ 144	四季成り	27	27	0	100.0
		143/ 144 /146	四季成り	26	24	2	92.3
		143	一季成り	1	1	0	0.0
合計・平均		107	54	53	95.3		

注1 下線・太字（色付き）は、四季成り性連鎖アレルを示す

表-3 2022年度交配実生苗の四季成り性判別結果

選抜マーカー	交配 番号	交配組合せ ^{注1}		調査 個体数	判別結果（マーカーの有無）			理論値 ^{注2}		χ^2 検定 p値
		♀	♂		有 (四季)	無 (一季)	判別不能	有 (四季)	無 (一季)	
FAN-indel-21	48	15-52-1	× 栃木40号	273	132	139	2	135.5	135.5	0.67
	50	15-52-1	× 12-12-4	184	86	90	8	88	88	0.76
	51	15-52-1	× 栃木素材4号	181	94	84	3	89	89	0.45
	53	17-80-2	× 栃木39号	166	83	79	4	81	81	0.75
	60	18-81-1	× 14-39-4	182	137	45	0	136.5	45.5	0.93
合計				986	532	437	17			

注1 四季成り性品種・系統は網掛け

注2 調査個体数から判別不能個体を除いて計算