

〔トルコギキョウの弱ロゼット性F₁品種育成と中間母本の特性向上〕
トルコギキョウ弱ロゼット性遺伝子に連鎖したRAPDマーカーの検索

宮下千枝子
(商品開発科)

【要 約】トルコギキョウの弱ロゼット性系統No.3と親品種‘天竜乙女’のF₂集団は、夏播き栽培により節間伸長株とロゼット株に分離する。F₂集団のRAPD解析により得られた9本の多型バンドは、弱ロゼット性に連鎖する分子マーカーとして有望である。

【目 的】

大島のトルコギキョウ夏播き用品種の開発に向けて、これまでに中間母本である弱ロゼット性系統No.3(出願品種名‘伊豆大島E3号’)を作出した。本系統を活用した弱ロゼット性育種の効率化を図るために、弱ロゼット性に連鎖する分子マーカーの検索をRAPD解析により行う。

【方 法】

弱ロゼット性の解析には、No.3, 親品種‘天竜乙女’(強ロゼット性)および両品種の交雑後代(F₂系統)を供試した。2004年6月29日に播種して夏期の高温条件で育苗・栽培し、節間伸長株とロゼット株の比率を調査した。次に、No.3(節間伸長株), ‘天竜乙女’(ロゼット株), F₂系統(節間伸長株およびロゼット株)の各々6株から若葉を採取し、total DNAをCTAB法で抽出した。40種類のランダムプライマー(オペロン社)を用いてRAPD解析を行い(表1), 系統間で多型の得られるプライマーを検索した。

【成果の概要】

- 1) 夏播き栽培の結果、F₂集団は節間伸長株とロゼット株に分離した(表2)。分離比は5.2:1であり、弱ロゼット性を一遺伝子支配と仮定した場合の理論的分離比3:1に適合しなかった($\chi^2=4.32$, $p=0.039$)。ただし、強ロゼット性品種‘天竜乙女’の節間伸長株率が約5割と高かったことから、ロゼット化を誘導する高温ストレスが充分でなく、表現型が遺伝子型を完全には反映していないと考えられる。
- 2) No.3と‘天竜乙女’のバルクDNAを用いたRAPD解析の結果、38種類のプライマーで増幅が得られ、このうち10種類のプライマーでは2品種間に多型が認められた(表3)。
- 3) No.3と‘天竜乙女’の間で多型の得られた10種類のプライマーを用いて、F₂集団の節間伸長株およびロゼット株のバルクDNAでRAPD解析を行った結果、5種類のプライマーで9本の多型バンドが認められた(表4)。プライマーOPA-12については、3本の多型バンドが出現し、節間伸長株とロゼット株の各々に優性のバンドが得られた(図1)。
- 4) まとめ: No.3と天竜乙女のF₂集団は、夏期の高温条件により節間伸長株とロゼット株に分離した。RAPD解析を行った結果、異なる表現型集団の間で多型バンドが9本得られた。今後は、F₂集団の個体ごとに解析を行い、弱ロゼット性の分子マーカーとしての有効性を明らかにする。

表1 PCR条件

反応液組成	鋳型DNA5ng, プライマー(5 μ M) 2 μ l, dNTPs(2mM) 2 μ l, DNA合成酵素(Takara Taq)2.5U, 5×buffer 4 μ lを加えて, 滅菌蒸留水で20 μ lに調整
反応条件	94℃のプレヒート2分→94℃の変性 30秒, 40℃のアニーリング 1分, 72℃の伸長反応1分, 35サイクル→72℃の伸長反応5分

表2 夏播き栽培におけるF₂系統の節間伸長株率

品種・系統	調査株数	節間伸長株率(%)	ロゼット株率(%)	分離比
No.3×天竜乙女 F ₂	56	84	16	5.2 : 1
No.3	67	90	10	
天竜乙女	36	47	53	

2004年6月29日に播種し, 夏期の高温で育苗後, 9cmポットに鉢上げした。播種後14週目に調査した。

表3 No.3と天竜乙女の間で多型の検出されたプライマー

多型の有無	プライマー名	プライマー数
多型あり	OPA-06, OPA-12, OPA-15, OPA-16, OPA-17, OPF-03, OPF-06, OPF-07, OPF-14, OPF-15	10
増幅するが多型無し	OPA-01, OPA-02, OPA-03, OPA-04, OPA-05, OPA-07, OPA-08, OPA-09, OPA-10, OPA-11, OPA-13, OPA-14, OPA-18, OPA-19, OPA-20, OPF-01, OPF-02, OPF-04, OPF-05, OPF-08, OPF-09, OPF-10, OPF-11, OPF-12, OPF-13, OPF-16, OPF-19, OPF-20	28
増幅無し	OPF-17, OPF-18	2

表4 F₂系統の節間伸長株とロゼット株の間で検出されたRAPDマーカー

プライマー	バンドサイズ(bp)	多型の有無	
		節間伸長株	ロゼット株
OPA-06	1800	+	-
	1000	+	-
OPA-12	2300	+	-
	1800	-	+
	1200	+	-
OPA-17	2100	+	-
	600	+	-
OPF-07	3200	+	-
OPF-15	3300	+	-

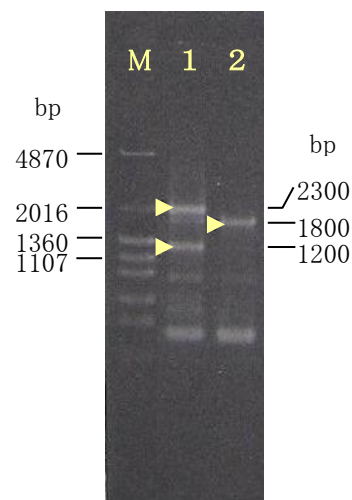


図1 OPA-12を用いたF₂系統のRAPD解析における多型
M:pHYマーカー, 1:節間伸長株, 2:ロゼット株