No. 774 (平成 29 年 5 月) 分類コード 12-07 熊本県農林水産部

## イグサ品種「涼風」の DNA 識別が容易になる識別マーカーの改良

これまで「涼風」の品種識別に用いたマーカーを改良し、アガロースゲル電気泳動で識別を可能にした。10本以内ならば茎をひとまとめに DNA を抽出しても、肉眼では「涼風」と識別が困難な主要 21 品種・系統中に混入した「涼風」を識別できる。

農業研究センター農産園芸研究所バイオ育種研究室(担当者:飯牟禮和彦)

## 研究のねらい

種苗法による育成者権や国内生産の保護を図るためには、本県が育成した品種の DNA 識別技術を開発することが不可欠であり、イグサ品種「涼風」について開発した品種識別技術(農業成果情報 No. 677)を一般的に利用されているアガロースゲル電気泳動により識別が可能となるようマーカーを改良する。

## 研究の成果

- 1. 従来の SSR (単純反復配列: simple sequence repeat) マーカーを改良したことにより、アガロースゲル電気泳動で「涼風」がもつ 2 本のバンドが明瞭に識別できる(図 1 、2 )。
- 2. 単独の茎あるいは単一品種・系統の茎から抽出した DNA を用いる場合、「KS001002」(「沖縄太い」自殖種子由来系統、「涼風」の花粉親)を除いて「涼風」はバンドが 2 本、他の 22 品種・系統はバンドがいずれか 1 本となるため明確に識別できる(図 2)。
- 3. 由来の不明な茎を複数本まとめてから抽出した DNA を用いる場合、「KS001002」「沖縄太い  $S_1$ 」(「沖縄太い」自殖種子由来系統)を除いた 21 品種・系統の DNA 中に「涼風」の DN A が 10%以上混入していれば、「涼風」の 2 本のバンドのうち、分子量が小さい固有のバンドが確認できる(図 3)ため、抽出茎数(茎長は均一)を 10 本以内とするならば「涼風」の混入が確実に識別できる。

## 普及上の留意点

- 1. このマーカーでは「KS001002」との識別及び「涼風」と「沖縄太い  $S_1$ 」が混在した DNA からの識別は不可能である(図 2)。ただし、「KS001002」「沖縄太い  $S_1$ 」はいずれも「涼風」と比較して明らかに茎が太いため肉眼による観察で容易に識別できる。
- 2. このマーカーは、平成25年度に九州大学から譲渡されたSSRマーカーセットの1つを改良したものである。
- 3. 詳細な識別方法については、必要に応じて担当部署から個別対応により情報提供する。

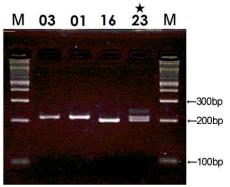


図1 改良前マーカーによる主な品種のバンドパターン

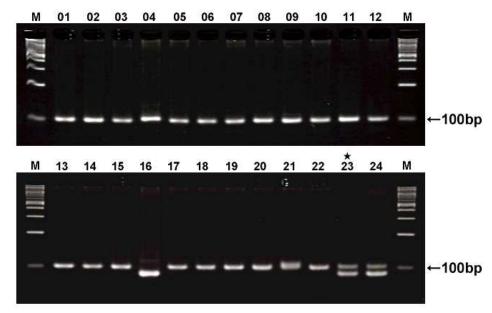


図2 改良後マーカーによる各品種のバンドパターン

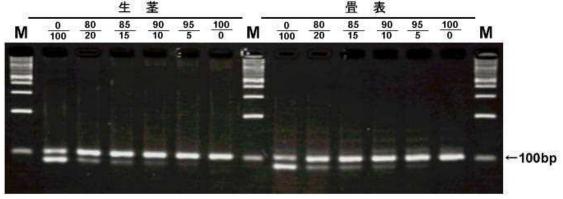


図3 「涼風」と「岡山3号」の DNA 混合割合によるバンドパターンの変化

- 注 1:各数字上段は「岡山 3 号」、下段は「涼風」の DNA 混合割合(%)
- 注 2: 畳表から抽出した DNA は、い業研究所早刈生産力検定本試験(平成 25 年産)由来である。
- \*上記図1、2の数字は以下の品種等を示す。
  - 01 ひのみどり、02 夕凪、03 岡山 3号、04 ひのはるか、05 くまがわ、06 しらぬい、07 きよなみ、08 あさなぎ、09 いそなみ、10 ふくなみ、11 せとなみ、12 さざなみ、13 岡山みどり、14 千丁在来、15 下増田在来 A、16 沖縄太い S<sub>1</sub>、17 文政在来、18 大原 4号、19 高須在来 A、20 岡山 F 系、21 熊本 3号、22 広系 21002、23 涼風、24 KS001002
- \*上記図1,2では各品種の生茎から抽出したDNAを供試した。
- \*上記図1、2、3とも 4% Agarose SFR(amresco 社製)、0.5×TBE による電気泳動である。 M 100bp ラダー