

## にら複相大孢子形成性連鎖マーカーの開発

### 1. 成果の要約

にら単為生殖性の要因の 1 つである複相大孢子形成性が分離した集団を用い、複相大孢子形成性と適合率が高い SSR (単純反復配列：品種によって反復回数が異なることを利用して DNA マーカーとする) マーカー nr2902\_267、nr4199\_265 および nr0045\_172 を選抜した。これら 3 マーカーについて連鎖解析を行った結果、複相大孢子形成因子を挟んで位置しており、マーカー nr2902\_267 および nr4199\_265 は複相大孢子形成性を識別するマーカーとして有効であると考えられた。

### 2. キーワード

SSR マーカー、単為生殖性、両性生殖性系統、単為発生性連鎖マーカー

### 3. 試験のねらい

にらは単為生殖性を有するため、交雑育種が難しい作物であるが、当场では両性生殖性系統と単為発生性連鎖マーカーを組み合わせた画期的なにら育種システムを構築し、交雑育種を可能とした。にらの単為生殖性は 2 つの要因から成り、その一方である複相大孢子形成性を有していないと、もう一方の単為発生性は発現しないことが示唆されている。にらの種子生産は単為生殖性を前提としているため、安定した種子生産には単為発生が必須であり、そのためには複相大孢子形成性の発現が重要となる。そこで、にら複相大孢子形成性を簡易に識別できる DNA マーカーを開発する。

### 4. 試験方法

にら複相大孢子形成性に関する分離集団 [H12C2 (97-12-102) × 97-11-7] F<sub>1</sub> 97 系統を用いて、にら SSR プライマー 740 組 (RNA-seq 由来 612 組、SSR 濃縮ライブラリー由来 120 組、EST 由来 8 組) から複相大孢子形成に連鎖する DNA マーカーを選抜した。まず、両親間で多型が認められるプライマーを選抜した (一次選抜)。一次選抜で多型が得られたプライマーについて、複相大孢子形成性 7 系統、非複相大孢子形成性 7 系統における多型検出を行い、適合率 78.5% 以上となった SSR マーカーを選抜した (二次選抜)。二次選抜で適合率が高かったマーカーについて、未検定の系統における多型検出を行い、最終的に分離集団全 97 系統で適合率 80% 以上となったマーカーを選抜した。また、適合率 80% 以上となったマーカーについて、複相大孢子形成因子との連鎖解析を行った。

### 5. 試験結果および考察

- (1) SSR プライマー 740 組を供試して一次選抜を行ったところ、202 組で両親間多型が確認された。
- (2) 14 系統を用いた二次選抜において、プライマー 7 組から増幅される適合率 78.5% 以上の 7 マーカーを選抜した。
- (3) (H12C2 × 97-11-7) F<sub>1</sub> 集団 97 系統の多型検出結果から、適合率 80% 以上であったマーカー nr2902\_267 (適合率 97.9% : 図-1)、nr4199\_265 (適合率 91.8% : 図-2)、nr0045\_172 (適合率 83.5%) の 3 マーカーを選抜した。
- (4) (3) の 3 マーカーについて連鎖解析を行った結果、nr2902\_267 は複相大孢子形成因子から 2.1cM に位置し、因子を挟んで反対側 8.3cM に nr4199\_265、20.9cM に nr0045\_172 が位置した (図-3)。
- (5) マーカー nr2902\_267 および nr4199\_265 の両方を持つ個体は、必ず複相大孢子形成性であったため、複相大孢子形成性を識別する DNA マーカーとして有効であると考えられた。

(担当者 研究開発部 生物工学研究室 若樹睦子\*、田崎公久、生井潔)

\*現芳賀農業振興事務所

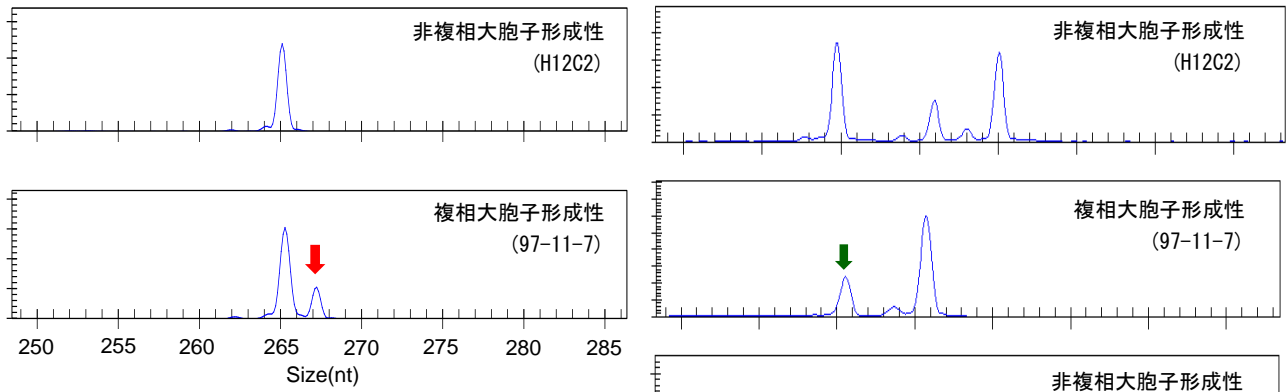


図-1 マーカーnr2902\_267の検出例

↓: 複相大孢子形成性連鎖マーカー  
 図中の ( ) 内は供試にらの系統名

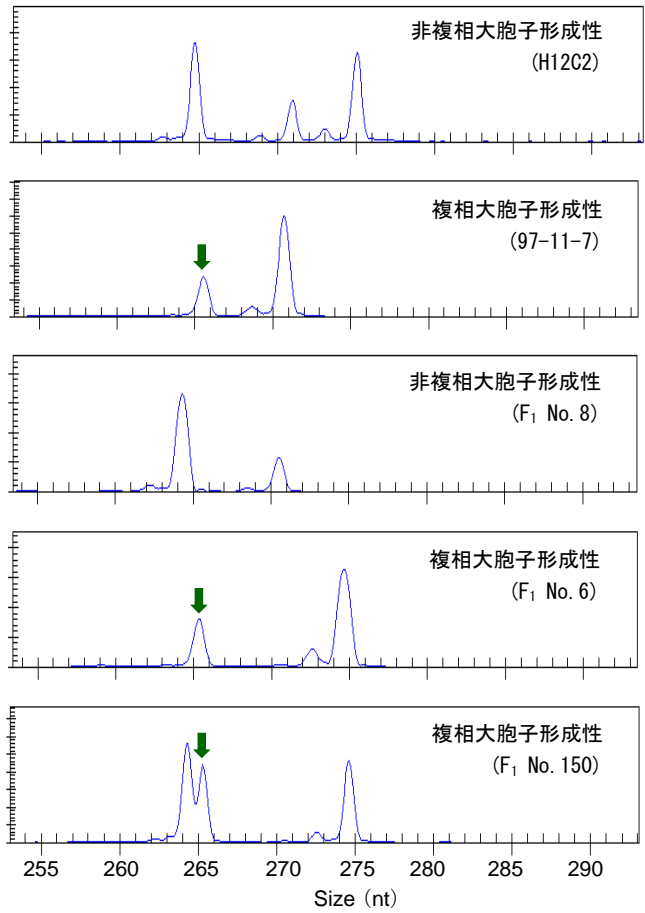


図-2 マーカーnr4199\_265の検出例

↓: 複相大孢子形成性連鎖マーカー  
 図中の ( ) 内は供試にらの系統名

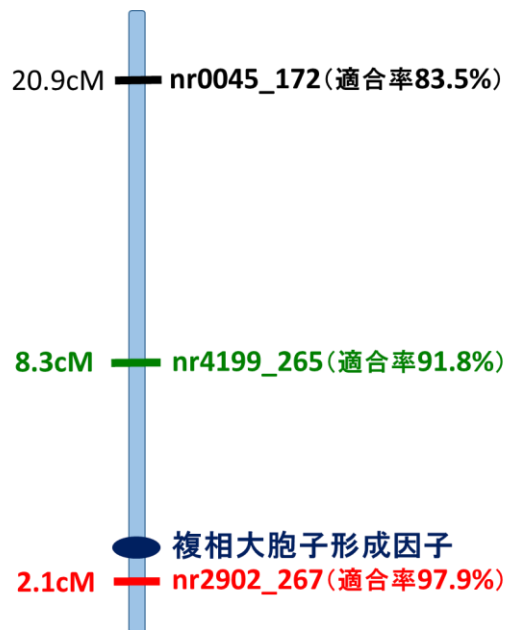


図-3 にらの複相大孢子形成性を識別する DNA マーカーの連鎖地図