

2 アテ遺伝資源調査と育種に関する研究(第2報)

予算区分 : 県 単
担当科名 : 生物資源科

研究期間 : 平成 13 ~ 17 年度
担当者名 : 高橋大輔

. 目的

アテ漏脂病の発現には環境要因と遺伝要因の双方が関与していると言われている。本課題では、漏脂病の発現に対する遺伝的な要因の関連性を明らかにし、漏脂病抵抗性個体候補個体の選抜を目的とする。

. 方法

1. 漏脂病被害状況調査 鳳至郡穴水町曾福地内に位置する壮齢アテ人工林内に 20m × 20m の方形プロットを設定し、毎木調査ならびに被害程度区分調査を目視によって行った。被害状況調査後、プロット内の各個体から DNA 抽出用の試料として樹皮の採取を行い - 20℃ にて保存した。

2. RAPD 法によるクローン識別 PCR の反応液量は 15 μl で組成は以下の通りとした。20 mM Tris (pH8.3)、50mM KCl、2.0mM MgCl₂、0.2mM dNTPs、0.4 μM プライマー、1.0unit Taq DNA ポリメラーゼ、20ng 鋳型 DNA。プライマーは 12 塩基のオリゴヌクレオチド(ベックス社製) 10 種類を使用した。また、PCR の反応温度および時間は次の通りとした。熱変性は最初に 94℃ 5 分間行い、各サイクルで 94℃ 1 分間行った。アニリングは 45℃ 1.5 分間行い、伸長反応は 72℃ 1.5 分間行った。反応サイクル数は 35 回とした。PCR 増幅産物をアガロースゲルで電気泳動させ、EtBr 染色によって得られたバンドパターンをもとにクローン識別を行った。

. 結果と考察

RAPD 分析の結果、分析に供した 26 個体は、8 種類の RAPD マーカーによって、16 クローンに区分された。1 クローンあたりの平均構成個体数は、1.6 個体であった。クローン間で被害程度の違いが見られるか検討を行ったところ、分析サンプル数に限りがあり、遺伝的な要因の関連性を十分に証明できる結果は得られなかった。しかしながら、被害が見られない 3 個体および 2 個体から構成されるクローン群が 2 群見出され、この結果は、漏脂病抵抗性育種選抜の可能性を肯定するものであったと考えられた。今後も、分析サンプル数を増やし漏脂病抵抗性候補個体の探索を進めていく必要があると思われる。また、RAPD マーカーより多くの情報が得られる DNA マーカーの開発が求められ、アテの近縁種であるヒノキで開発されたマイクロサテライトマーカーの利用条件などについての検討を行っていく必要があると思われる。