



日本産バレイシヨ品種と北米品種のRAPD法による遺伝的変異の評価

保坂, 和良
小川, 慶一

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 21(1):39-42

(Issue Date)

1994-01

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/00198254>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00198254>



日本産バレイショ品種と北米品種のRAPD法による 遺伝的変異の評価

保坂和良*・小川慶一**

(平成5年8月10日受理)

Genetic Diversity in Japanese and North American Potato Cultivars Evaluated by RAPD Analysis

Kazuyoshi HOSAKA and Keiichi OGAWA

Abstract

Genetic diversity in Japanese and North American potato cultivars for processing was evaluated by RAPD analysis. Thirty-six polymorphic DNA segments, or RAPDs, were detected by amplification via Polymerase Chain Reaction (PCR) with fourteen decamer primers in eight Japanese and eight North American cultivars. The average numbers of different RAPDs were 14.4 within Japanese cultivars, 13.9 within North American cultivars, and 14.7 between them. Their differences were not significant. Therefore, it is indicated that the genetic diversity is considerably similar in Japanese and North American cultivars.

緒 言

わが国におけるバレイショ育種の歴史は、明治以降欧米からさまざまな品種を導入したことに始まる。1902年に組織的な育種が始まり、1916年に品種間交雑育種、そして1939年には種間交雑育種が始められた⁹⁾。近年、ポテトチップやフレンチフライなどに代表される加工用バレイショの消費が著しく延びている⁷⁾。このため、1976年にはトヨシロがチップ用品種として、また、1981年にはホッカイコガネがフライ用品種として育成された。しかし、原料を低価格で安定して供給するために、依然多くを輸入凍結イモに頼っており、安定多収の加工用品種の育成が急がれている。

長期的視野に立って育種を始める場合、交配母本集団の持つ遺伝的変異が大きいほどその育種効果が期待できる³⁾。そこで、わが国の既存品種と、優良な加工用品種である北米品種の遺伝的変異を比較することは、育種素材の選定のための情報が得られるなど今後の育種を考える上で意義深い。

植物DNAから短鎖任意配列のプライマーを用いてポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を行い、その増幅DNA産物

を電気泳動により分離すると、多型を示すバンドが見られる場合がある。このようなバンドはRAPDと呼ばれ⁴⁾、アイソザイムのように外的環境や栄養状態などの影響を受けず、器官特異性などが無い¹¹⁾。また一度抽出されたDNAは長期間安定で、しかもDNA多型の検出方法が簡便であるなど、RAPD分析法は従来の遺伝的変異の分析法に比べ利点が多い¹¹⁾。加賀ら⁵⁾は、37種類のプライマーを用いてわが国のアズキ12品種について、またHALWARDら⁴⁾は、10種類のプライマーを用いて全世界から収集したラッカセイの27系統についてRAPD分析法を適用し、品種間の遺伝的多様性が小さいことを報告している。また、VIERLINGとNGUYEN¹²⁾は、2倍性コムギの*Triticum monococcum*と*T. urartu*の遺伝的変異をRAPD分析法により比較し、前者の方が遺伝的変異が小さいことを明らかにしている。

本研究では、日本品種8品種と北米品種8品種について、14種類のプライマーを用いてRAPD分析を行い、両品種群の遺伝的多様性について検討した。

材料および方法

本研究では、日本品種として、男爵薯(英名 Irish Cobbler)、メイクイーン(英名 May Queen)、農林1号、デジマ、ワセシロ、トヨシロ、ホッカイコガネ、とうや、の8品種を、また北米品種として、Russet Burbank、

* 附属農場

** カルビーポテト株式会社

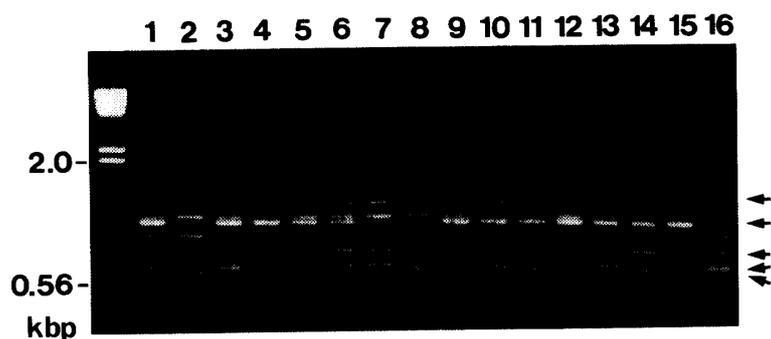


Fig. 1. A photograph of an ethidium bromide-stained agarose gel, in which amplification products by primer No. 84 were electrophoresed. Lane 1, Irish Cobbler; 2, May Queen; 3, Norin No. 1; 4, Dejima; 5, Waseshiro; 6, Toyoshiro; 7, Hokkaikogane; 8, Touya; 9, Russet Burbank; 10, Norking Russet; 11, Atlantic; 12, Snowden; 13, Kanona; 14, Yankee Chipper; 15, Gemchip; 16, ND860-2. The arrowed bands were scored for analysis. The left lane contained *Hind*III digests of lambda DNA and their molecular weights are given on the left in kilo-base-pairs(kbp).

Table 1. Primer sequences and their sources used in this study and the number of scorable bands generated.

Primer No.	Sequence (5' to 3')	Source*	No. of scorable bands
1	TGGTCACTGA	1)	2
21	TGGTACCGA	2)	4
22	TGGTACGGA	2)	2
38	TTCGAGCCAG	3)	2
41	CCGCATCTAC	3)	1
44	GTCCCAGCGA	3)	2
46	CTCACCGTCC	3)	4
51	TGCGTGCTTG	3)	2
58	ACCGCGAAGG	3)	2
68	AGCGCCATTG	3)	3
72	CATCCGTGCT	3)	4
73	AGGGCGTAAG	3)	2
84	AGATGCAGCC	3)	5
130	GTAGACCCGT	3)	1

* Primers were commercially synthesized by 1) Akitsu Keisoku and 2) TOYOBO, or purchased from 3) Operon Technologies.

Norking Russet, Atlantic, Snowden, Kanona, Yankee Chipper, Gemchip, ND860-2, の 8 品種を供試した。ワセシロ, トヨシロ, ホッカイコガネ, および北米品種のいずれも加工用品種である。

ゲノミックDNAは, 成長点を含む未展開葉から DOYLEとDOYLE²⁾の方法により抽出し, ミニゲル法を用いて濃度既知のラムダDNAとの比較により, 5 ng / μ l の濃度に調節した。RAPD検出法は, PCRに TOYOBOの *Taq* DNA polymerase を用いた他は加賀

ら⁵⁾に述べたとおりである。プライマーは, Table 1に示した14種類の10塩基の1本鎖合成DNAを用いた。

結 果

PCRはそれぞれのプライマーについて2回行い, 電気泳動パターンにおいて, バンドの有無が明確に判定できるものだけを観察の対象とした。

PCR産物のアガロースゲル電気泳動パターンの一例をFig. 1に示した。これはプライマーNo.84を用いて増幅されたもので, 品種間でバンドの有無や濃度にさまざまな変異が見られるが, このうち比較の対象としたのは矢印で示した5本のバンドである。

14種類のプライマーを用いてPCRを行ったところ, 16品種間で合計36本の多型を示すバンドが検出できた(Table 1)。Table 2は, 2品種ずつ対にしたときに認められた異なるバンド数を示したものである。これによると, 2品種間で異なるバンド数は, AtlanticとYankee Chipperとの間の3本から, とうやとND860-2との間の21本までの変異が認められ, すべての対における異なるバンド数の平均は14.5本であった。また, 日本品種相互間で異なるバンド数の平均は14.4本, 北米品種相互間のそれは13.9本であり, さらに, 日本品種と北米品種相互間で異なるバンド数の平均は14.7本であった。そして, 分散分析の結果, これら3つの平均値間の有意差は認められなかった($F=0.634$; $df=2, 117$)。

Fig. 2に, 品種間で異なるバンド数を非類似度として, 群平均化法によるクラスター分析を行った結果を示す。北米品種に着目してみると, Atlantic, Yankee Chipper およびSnowden, Gemchip とND860-2, お

Table 2. The number of different bands detected between cultivars.

Cultivar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1. Irish Cobbler		13	13	19	10	14	11	17	12	13	18	17	19	17	19	17
2. May Queen			12	18	11	19	16	14	13	16	9	12	18	12	12	12
3. Norin No.1				12	11	13	12	16	13	16	11	12	14	12	12	14
4. Dejima					17	15	16	18	16	12	14	14	9	11	15	16
5. Waseshiro						16	13	13	14	15	14	15	17	13	13	13
6. Toyoshiro							7	19	12	17	16	19	19	17	17	16
7. Hokkaikogane								18	15	16	13	14	18	14	16	11
8. Touya									19	16	15	14	16	14	16	21
9. Russet Burbank										9	16	19	17	19	15	18
10. Norking Russet											19	16	10	18	14	19
11. Atlantic												9	15	3	13	12
12. Snowden													12	10	10	11
13. Kanona														14	18	19
14. Yankee Chipper															12	13
15. Gemchip																10
16. ND860-2																

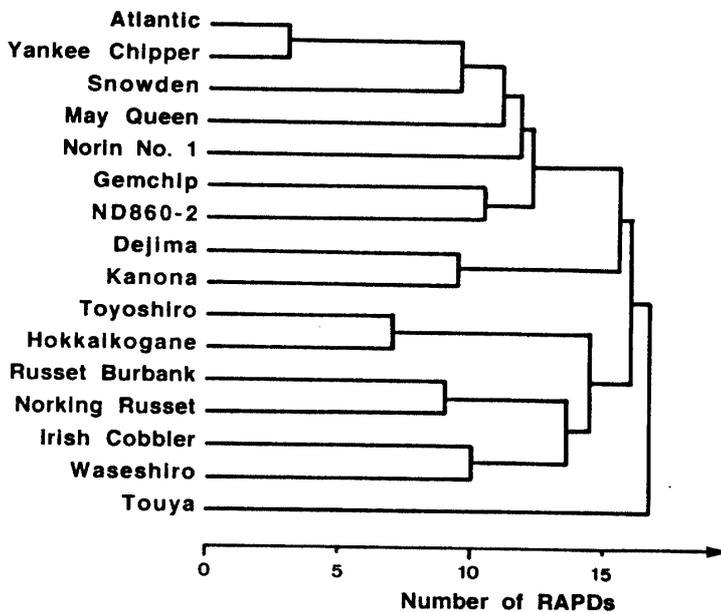


Fig. 2. A dendrogram showing relationships among Japanese and North American potato cultivars as revealed by the number of different bands, or RAPDs.

用いると15のRAPDが検出され、このうち最低13のRAPDを用いると、わが国の39のバレイショ品種のすべてを識別できると報告した。このことから、RAPD分析法は、バレイショのDNA変異を簡便に検出する有力な手段であると考えられる。

本研究では、日本品種と北米の加工用品種についてバンドの有無を比較したが、両品種群の群間で異なるバンドの数と、それぞれの群内で異なるバンドの数との間に有意な差異は認められなかった。本研究で用いた北米品種は、北米で育成された品種の総数からす

よび、Russet BurbankとNorking Russetはそれぞれ比較的近い関係にあるとみなされたが、北米品種だけで一つのクラスターを形成することはなく、日本品種と入り交じった状態で大きなクラスターを形成した。

考 察

14種類のプライマーを用いると、供試16品種中、任意の2品種間で少なくとも3本以上のバンドの違いが見られ、容易に個々の品種を識別することができた。MORIら⁸⁾は、本研究で用いたプライマーのうち5つのプライマー(No.21, No.38, No.41, No.46, およびNo.72)を

ればわずかであり、また、用いたプライマーの数も少なく、検出したRAPDの数も十分なものとは言えないかも知れない。しかし、本研究のRAPD分析によって明らかにされた両品種群の高い類似性は、むしろこれらの遺伝的背景が極めて類似しているためと考えられる。

わが国のバレイショ育種は、明治以降北米品種を導入することから始まっている⁹⁾。特に、北米のEarly Roseの芽条変異体と考えられているIrish Cobbler(=男爵薯)は、現在でもわが国の主要品種であるばかりでなく、基幹母本として多くの品種がこれより育成されている。本研究で供試した日本品種は、来歴不明のメイクイーン

を除き、いずれも Irish Cobbler にその祖先を辿ることができる。同様に北米では、ほとんどの育成品種の祖先を Early Rose とその親品種である Garnet Chili に辿ることができ^{1, 10)}、北米品種の持つ遺伝的変異は予想以上に乏しいと報告されている⁶⁾。また、わが国の交配育種においては、北米やヨーロッパ品種が頻りに交配母本として使われており、本研究の供試品種の中にも Katahdin, Kennebec, あるいは Wauseon などの北米品種をその系譜中に見いだすことができる。したがって、育種経過からみても日本品種と北米品種の遺伝的組成は極めて類似していると推察される。

一方、病害抵抗性などを導入するため近縁野生種を利用することは、バレイショ品種の遺伝的変異を拡大する上で重要である¹²⁾。実際、最近の育成品種のほとんどは、その育成過程で野生種の血が入っている^{7, 10)}。しかし、その利用の仕方を見ても、野生種を戻し交配によってある程度既存品種の遺伝的背景に近づけ、これを母本系統とし、育種過程で繰り返し利用するという場合が多い。このような母本系統として、例えば、わが国で育成された *Solanum demissum* に由来する疫病抵抗性を持つ 41089-8 や、また、北米で育成された、やはり *S. demissum* に由来する X96-56, *S. chacoense* に由来する B3672-3, あるいは *S. acaule* に由来する Minn92-36-5 などがある¹⁰⁾。本研究で用いた品種にも、北米品種の大半に B3672-3 が、また、ワセシロに X96-56 が用いられている。しかし、本研究結果が示すように、野生種の持つ遺伝的情報の極一部を既存品種に導入したに過ぎず、遺伝的多様性はさほど広がっているとは言えない。

したがって、北米の加工用品種は優秀であるとは言え、その遺伝的多様性にはわが国の品種と大差は見られない。長期的な視点に立って、今後のわが国における加工用品種の育種を考えた場合、遺伝的多様性の拡大を図るため、直接の祖先種であるアンデス原産 4 倍性栽培バレイショ (*S. tuberosum* ssp. *andigena*) や近縁野生種の利用は不可欠であると考えられる。

摘 要

日本産バレイショ品種と北米の加工用品種の遺伝的多様性を比較するため、それぞれ 8 品種について RAPD 分析法により DNA 変異を比較した。14 種類のプライマーを用いて 36 本の多型を示すバンドを検出した。異なるバンド数の平均は、日本品種間で 14.4 本、北米品種間で 13.9 本であり、両品種群間では 14.7 本で、これらに有意な差は見られなかった。したがって、日本品種と北米

品種の持つ遺伝的変異は極めて類似していると考えられる。

謝 辞

一部の供試品種の DNA を分譲して頂いた農林水産省北海道農業試験場ばれいしょ育種研究室の森元幸氏、および、本稿の校閲を頂いた作物育種学研究室の上島脩志教授に深く謝意を表します。本研究はカルビーポテト株式会社の助成によるところが大きく感謝の意を表します。

文 献

- 1) DOUCHES, D. S., K. LUDLAM and R. FREYRE : *Theor. Appl. Genet.* **82**, 195-200, 1991.
- 2) DOYLE, J. J. and J. L. DOYLE : *Phytochem. Bull.* **19**, 11-15, 1987.
- 3) HALLAUER, A. R. and F. J. B. MIRANDA : *Quantitative Genetics in Maize Breeding*, pp. 3-19, Iowa State University Press, 1981.
- 4) HALWARD, T., T. STALKER, E. LARUE and G. KOCHERT : *Plant Mol. Biol.* **18**, 315-325, 1992.
- 5) 加賀秋人・保坂和良・木村忠彦・三十尾修司・上島脩志 : 神大農研報, **20**, 171-176, 1993.
- 6) MENDOZA, H. A. and F. L. HAYNES : *Hort. Science*, **9**, 328-330, 1974.
- 7) MORI, M. and Y. UMEMURA : *JARQ*, **26**, 157-164, 1992.
- 8) MORI, M., K. HOSAKA, Y. UMEMURA and C. KANEDA : *Jpn. J. Genet.*, **68**, 167-174, 1993.
- 9) 永田利男・高瀬昇 : 北海道農業技術研究史, 223-243, 北海道農業試験場, 札幌, 1967.
- 10) PLAISTED, R. L. and R. W. HOOPES : *Amer. Potato J.*, **66**, 603-627, 1989
- 11) RAFALSKI, J. A., S. V. TINGEY and J. G. K. WILLIAMS : *AgBiotech News and Information*, **3**, 645-648, 1991.
- 12) ROSS, H. : *Potato Breeding-Problems and Perspectives*, Verlag Paul Parey, Berlin and Hamburg, 1986.
- 13) VIERLING, R. A. and H. T. NGUYEN : *Theor. Appl. Genet.*, **84**, 835-838, 1992.
- 14) WILLIAMS, J. G. K., A. R. KUBELIK, K. J. LIVAK, J. A. RAFALSKI and S. V. TINGEY : *Nucl. Acids Res.*, **18**, 6531-6535, 1990.