

SSR マーカーによるギニアグラス遺伝資源の遺伝的多様性

蝦名真澄 幸喜香織 奥村健治* 稲福政史**

I 要 約

開発した単純反復配列 (SSR) マーカーにより、ギニアグラス品種および遺伝資源の系統関係について検討したところ結果は以下のとおりであった。

1. アポミクシスであるギニアグラスに SSR マーカーによって確認できる幅広い遺伝的変異が認められた。
2. ケニアの系統は系統樹内のすべてのグループに散在し、最も幅広い遺伝的変異が認められた。
3. ウガンダの系統は系統樹内の一部に局在しており、原産地での地理的な隔離条件を反映していると考えられた。
4. 品種や育種選抜系統の多くは SSR マーカーの第一主成分値、第二主成分値がグループ内で極値となる領域に認められた。

II 緒 言

わが国では 1970 年代より探索されてきた約 2400 点以上の豊富な遺伝資源が農業生物資源研究所ジーンバンクに保存されている。これらの遺伝資源は、自生地であるケニアを中心にタンザニア、モザンビーク、南アフリカ等に及び、ギニアグラスの育種を行う上で貴重な材料となっている。そこで、著者らが開発した SSR マーカーが系統識別能に優れていたことから、SSR マーカーを利用したギニアグラスの品種および遺伝資源の系統関係について情報を得ることを目的とした。

III 材料および方法

系統解析の材料はギニアグラス遺伝資源および品種の 77 系統を用いた (表 1)。ゲノム DNA の抽出は CTAB 法¹⁾ によって行い、PCR による増幅には Maize DB (<http://www.maizegdb.org>) の提供するプロトコルを用い、SSR マーカーのバンドパターンの検出には ABI310 を用いた。

系統解析は Diversity Database (Bio-Rad Laboratories) を用いて解析した。アレルごとの SSR マーカーのバンドパターンを、アレルのある場合を 1 および無い場合を 0 で表記してデータセットを作成し解析した。類似度の計算は Jaccard' s の係数を用いた。系統樹の作成は非加重結合法 (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean, UPGMA) で行った。また、主成分分析は類似度より算出し、同じく Diversity Database (Bio-Rad Laboratories) を用いて、第一主成分および第二主成分をプロットした。

IV 結果および考察

77 のギニアグラス品種および遺伝資源を 13 の SSR マーカーによって調査し、得られた 190 のアレルを用いて系統解析を行った (図 1)。系統解析の結果、自生地を反映した 6 つの大きなグループに分けることができ、これをグループ I~VI とした。ケニアの系統は最も幅広く全てのグループに分散していた。また、南アフリカの系統はグループ I および II には存在しなかったが、他のグループ III~VI には散在していた。グループ I および II に認められたケニアの系統と南アフリカの系統とは遺伝的に異なるグループに分けることができると考えられた。Conbes ら²⁾ によると、西アフリカより東アフリカで幅広いギニアグラス遺伝資源の変異が認められている。これはギニアグラスが東アフリカ原産であることを反映していると考えられる。SSR マーカーによる系統解析では、東アフリカに位置するケニアの遺伝資源に幅広い遺伝的変異が認められ、I~VI の全てのグループにケニアの系統が分散していた。主成分分析のプロット図 (図 2) でもケニアの系統は幅広くプロットされた。

表1 SSR マーカーによる系統解析に用いたギニアグラス遺伝資源系統

系統名 (別名)	収集地点	備考	系統名 (別名)	収集地点	備考
1	72-62	ナイジェリア	40	GR334	南アフリカ
2	72-192	ケニア	41	GR336	南アフリカ
3	73-473	ケニア	42	GR365	南アフリカ
4	73-790	ケニア	43	GR367	南アフリカ
5	73-804	ケニア	44	GR371	南アフリカ
6	73-919B	ケニア	45	GR373	エチオピア
7	73-1006	ケニア	46	GR374	モロッコ
8	GR37 (Zambezi Rivar)	品種	47	GR376	不明
9	GR45	不明	48	GR377	南アフリカ
10	GR50 (Makueni)	ケニア 品種	49	GR422-1 (PM-4)	米国
11	GR88 (Gatton)	ジンバブエ 品種	50	GR432-1	南アフリカ
12	GR101A	ナイジェリア	51	GR434	南アフリカ
13	GR120	エチオピア	52	GR440	ジンバブエ
14	GR123	ケニア	53	GR441	オーストラリア
15	GR124	ケニア	54	GR452	不明
16	GR131	ウガンダ	55	GR453	不明
17	GR133B	ウガンダ	56	GR456	不明
18	GR134B	ウガンダ	57	GR458	南アフリカ
19	GR138	ウガンダ	58	GR464	ガーナ
20	GR144	ケニア	59	GR467	オーストラリア
21	GR161	不明	60	GR470A	南アフリカ
22	GR173	エチオピア	61	GR470B	南アフリカ
23	GR186	ケニア	62	CP1210-o-8	不明
24	GR190	ケニア 有性生殖	63	K59104	ケニア
25	GR193	ケニア	64	K6343	ケニア
26	GR206	タンザニア	65	K6348	ケニア
27	GR208	ケニア	66	M70-81	南アフリカ
28	GR214	ケニア	67	M70-82	南アフリカ
29	GR215	ケニア	68	185 (Ryukyu-3)	ケニア 育種系統
30	GR218	不明	69	211	ケニア
31	GR233A	ケニア	70	214	ケニア
32	GR238	ケニア	71	パイカジ	沖縄 品種
33	GR239A	ケニア	72	hozon 35	沖縄 育種系統
34	GR243	ケニア	73	Meidai 9	不明 育種系統
35	GR248B	ケニア	74	Gatton	ジンバブエ 品種
36	GR250	ケニア	75	Monbasa	タンザニア 品種
37	GR293	タンザニア	76	Natsukaze	交配系統 品種
38	GR299	タンザニア	77	Natsuyutaka	ケニア 品種
39	GR329	南アフリカ			

これらの結果から、形態的な変異の広さから推定されていたギニアグラスの原産は SSR マーカーによっても、ケニアを中心とした東アフリカであると考えられる。

また、供試したタンザニアの系統は限られていたが、同じく東アフリカ原産のケニアの系統と同様に系統樹では幅広く分布しており、グループ I, IV, V にそれぞれ分布していた。これに対して、ウガンダの系統はサブグループ II-v に局在していた (図 1)。ウガンダは赤道付近に位置し、熱帯でありながら、標高 1200m を越える高地に位置し、年平均気温は 22℃ となっており、熱帯高標高地帯特有の特殊な地理的環境にあると考えられる。SSR のアレルから得られた系統関係から、ウガンダの系統は他の遺伝資源とは異なる特徴的な遺伝的背景を持っていることが示唆される。系統樹のグループごとの特徴では、グループ I は 3 種類の遺伝資源のみからなるグループで、ケニアとタンザニアの系統が含まれている。また、これらの系統は他の遺伝資源との類似度も低く、お互いの類似度も低い。これは、観察されたグループから類似度の低い遺伝資源が、特にケニアおよびタンザニアに存在する可能性を示唆していると考えられる。グループ II はケニアとウガンダの遺伝資源が主な構成要素となっている。これは、適応発散の中心に近いケニアの遺伝資源の一部が熱帯高標高の特殊な地理的環境に適応して、ウガンダに分布を広げた可能性を示唆している。また、グループ II をサブグループ i~v に分けてみると (図 1)、サブグループ II-i と II-ii はほぼケニアの遺伝資源で構成されているが、サブグループ II-iii と II-iv は原産地の様々な系統を含んでいる。サブグループ同士は類似度からお互いに遺伝的に隔たりがあると

考えられるが、サブグループ内では弱い類縁関係があることが示唆される。また、南アフリカの遺伝資源を含まないことから、グループ I と II は、他の III~VI とは遺伝的に隔たりのあるグループであると考える。Savidan と Pernes³⁾ は、アポミクシスのギニアグラスに遺伝的な変異が存在するのは、近縁種である *P. infestum* および *P. trichocladum* との交雑によるものであることを推察している。この仮説は、調査した SSR マーカーによって得られた幅広いアレルの変異からも支持できるものであると考えられる。また、グループ II のサブグループの関係は、このような自然界での近縁種との交雑の過程を反映している可能性がある。

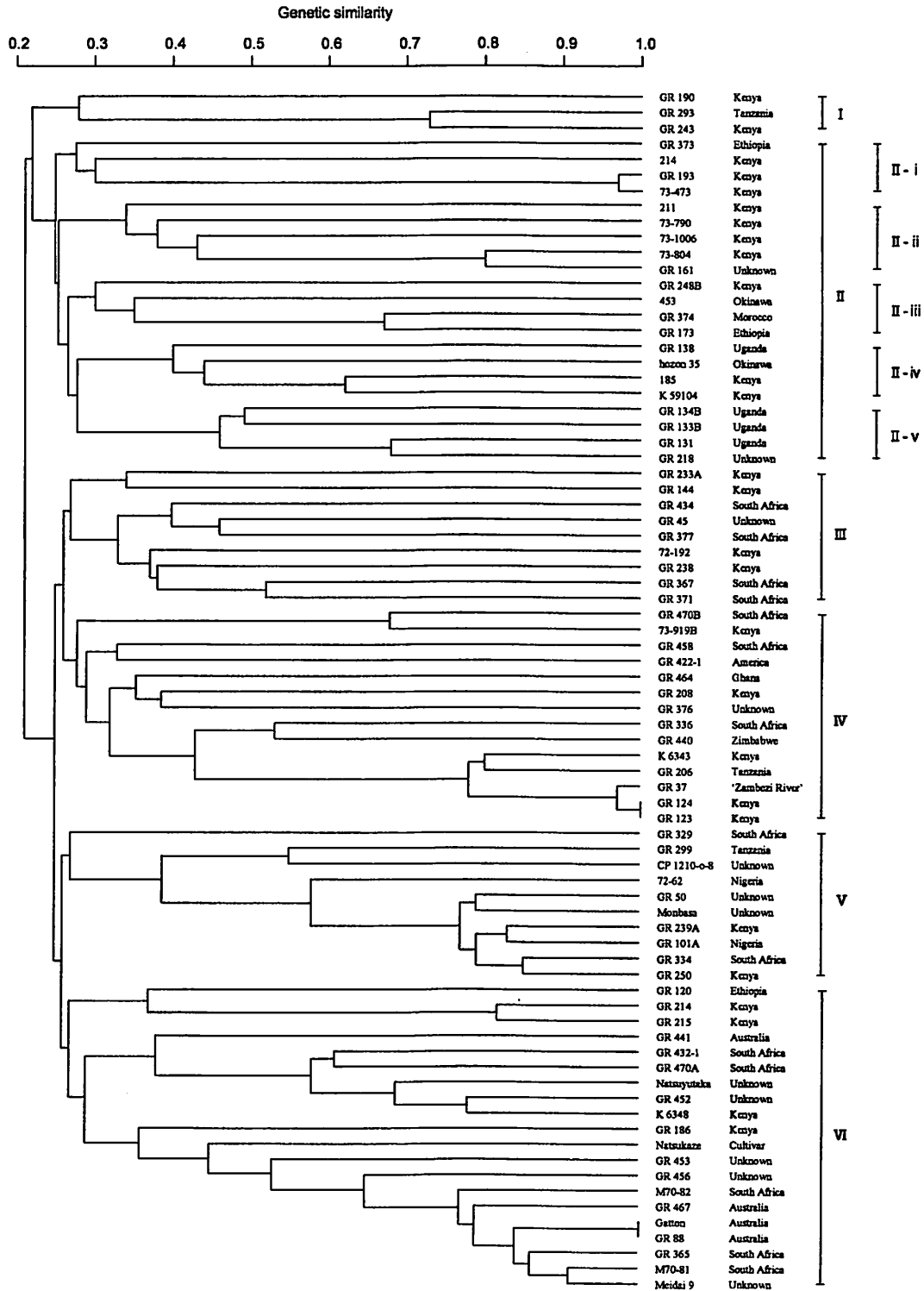


図1 ギニアグラス遺伝資源系統の系統樹

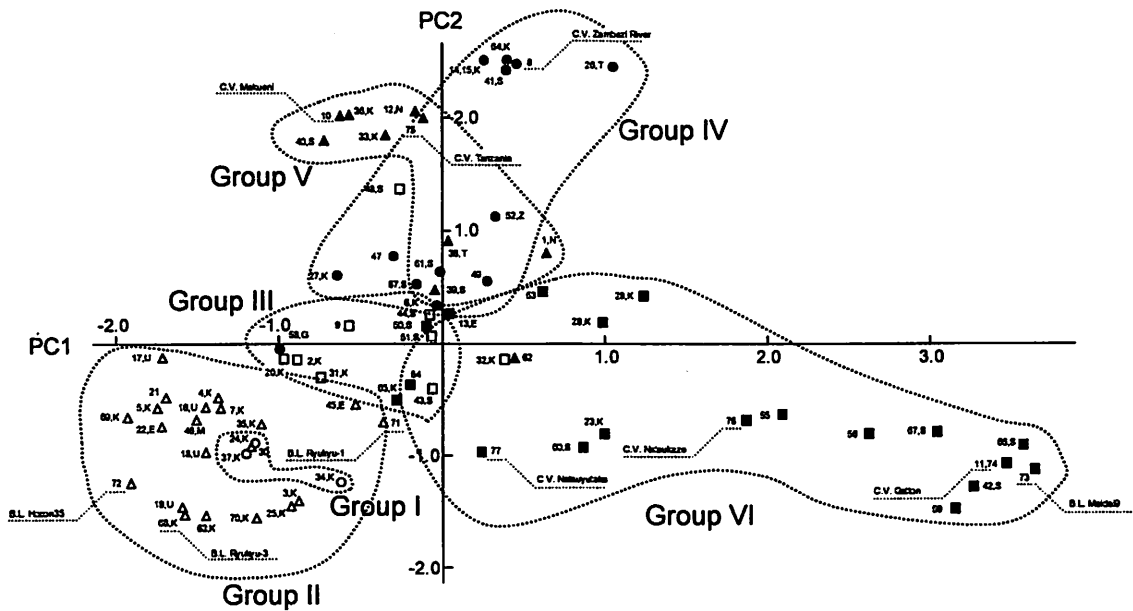


図2 グループ分けしたギニアグラス遺伝資源のSSRマーカーの主成分分析

ギニアグラス品種や育種選抜系統は系統樹の中ではグループII, IV, VおよびVIに認められた。琉球3号は沖縄で選抜した遺伝資源系統であるが、系統樹ではグループIIに認められ、主成分分析では主成分1および2の値がそれぞれのグループで最大になる領域にプロットされた(図2)。また、品種であるZambezi riverやMakueniおよびGattonは同じようにそれぞれのグループ内で主成分値が最大になる領域にプロットされている。SSRマーカーの種類は13と少ないものの、形態特性など特徴的な変異を含む系統が品種として登録されてきた経緯があり、SSRマーカーによるアレルの多型もそれに応じて大きな分散を示していると考えられる。

V 引用文献

- 1) Murray M. G. and Thompson W. F. (1980) Rapid isolation of high-molecular-weight plant DNA. *Nucl Acids Res* 8: 4321-4325.
- 2) Combes D. and Pernès J. (1970) Variations dans le nombre chromosomique du *Panicum maximum* Jacq. En relation avec le mode de reproduction. Sér. D. 270:782-785, *Comptes Rendus Academie des Sci.*, Paris.
- 3) Savidan Y. H. (1982) Nature et hérédité de l'apomixie chez *Panicum maximum* Jacq. *ORSTOM Travaux et Documents*, 153. ORSTOM, Paris.