

ジゴキシゲニンを利用した RAPD 法 (DIG-RAPD) によるスイートピー (*Lathyrus odoratus* L.) の類縁関係

花田裕美¹・萱野暁明²・田中宥司²・田部井豊²

¹和歌山県農林水産総合技術センター 暖地園芸センター 644-0024 御坊市塩屋町

²独立行政法人 農業生物資源研究所 305-8602 つくば市観音台

Digoxigenin Labeled RAPD (DIG - RAPD) Analysis on Genetic Relations of
Sweet Pea (*Lathyrus odoratus* L.) Cultivars.

Hiromi Hanada¹*, Toshiaki Kayano², Hiroshi Tanaka², Yutaka Tabei²

¹Horticultural Experiment Center, Wakayama Research Center of Agriculture, Forestry and Fisheries,
Sioya-cho, Gobo, Wakayama 644-0024

²National Institute of Agrobiological Sciences, Kannonndai, Tsukuba, Ibaraki 305-8602

摘 要

15品種のスイートピー (*Lathyrus odoratus* L.) を用いて, PCR産物をジゴキシゲニン (DIG) で標識する RAPD法 (DIG-RAPD法) やPCR産物をアクリルアミドゲルで分離した後にエチジウムブロマイド (EtBr) で染色する方法 (AE-RAPD法) の感度の比較を行った. その結果, DIG-RAPD法は, アガロースゲル電気泳動を用いる従来のRAPD法の約2倍の検出感度であり, AE-RAPD法の約1.7倍の検出感度を有することが明らかとなった. 一方, 多型を示すPCR産物の検出効率, いずれのRAPD法を用いても約20%弱と同程度であった. 従って, DIG-RAPD法を用いることにより, 少数のプライマーで多数のPCR産物を分析することが可能となり, 従来の方法に比べ, 近縁種の多いスイートピーのような作物においても効率良くRAPDマーカーを得ることが明らかとなった.

Summary

Fifteen cultivars of sweet pea (*Lathyrus odoratus* L.) were classified using a highly sensitive RAPD method which labels amplified DNA fragments by digoxigenin (DIG-RAPD). A conventional RAPD procedure, utilizing agarose gels, detected 960 PCR fragments by using 96 primers, whereas the AE-RAPD method performed by acrylamide gel electrophoresis, detected 199 fragments by 16 primers. The DIG-RAPD detected 335 PCR fragments using 16 primers indicating that it is about 2.1 times and 1.7 times more sensitive than the ordinary RAPD and AE-RAPD, respectively. Frequency of polymorphic DNA fragments generated by AE-RAPD and DIG-RAPD methods were 18.6 and 19.7%, respectively. Moreover, each UPGMA clustering analysis from ordinary RAPD, AE-RAPD and DIG-RAPD showed similar patterns.

These results indicated that DIG-RAPD is an efficient RAPD method to detect polymorphic PCR fragments using fewer primers. It could also efficiently and quickly generate RAPD markers from closely related varieties, such as the sweet peas.

Key Words : DIG - RAPD, Digoxigenin, *Lathyrus odoratus* L., Sweet pea