

Digoxigenin (DIG) - Based AFLP Analysis of Three Citrus Cultivars

Hiromi HANADA^{1,2}, Toshiaki KAYANO¹, Yasunori KOGA-BAN¹,
Hiroshi TANAKA¹ and Yutaka Tabei^{1*}

¹Department of Plant Biotechnology, National Institute of Agro biological Sciences
(Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan)

²Horticultural Experiment Center, Wakayama Research Center of Agriculture, Forestry and Fisheries
(Gobo, Wakayama 644-0024, Japan)

Abstract

A digoxigenin (DIG) - based amplified fragment length polymorphism (AFLP) method was developed to distinguish three closely related citrus cultivars, 'Kishu', 'Mukaku-Kishu' and 'Hira-Kishu'. In particular, 'Mukaku-Kishu' characterized by seedless fruit is very important for breeding purpose. Initial attempts at using the DIG - based RAPD procedure failed to detect 'Mukaku-Kishu' - specific bands. However, the DIG - based AFLP method enable to detect such bands, indicating that this method is more sensitive than the DIG - base RAPD procedure. The detailed protocol for the DIG - based AFLP method is presented in this paper.

Discipline: Biotechnology

Additional key words: PCR, RAPD, fingerprinting

遺伝的に近縁な「紀州ミカン」、「無核紀州ミカン」および「紀州大平ミカン」の品種識別を行うことを目的とし、DIG-AFLP法を開発した。果樹では、種無しの形質は非常に重要な育種目標であり、「無核紀州ミカン」は雌性不稔のために無核になる特徴を有する品種である。そこで、DIG-RAPD法で「無核紀州ミカン」を特異的に識別するバンドの検出を試みたが、「無核紀州ミカン」だけを検出する多型バンドは見つからなかったが、DIG-AFLP法では、「無核紀州ミカン」を特異的に検出する多型バンドが見つかった。このことは、DIG-AFLP法がDIG-RAPD法より検出感度が高いことを示しており、この論文では、DIG-AFLP法の詳しい実験方法を説明した。