

DNA マーカーによる鹿児島県水稻奨励品種・適品種の相互識別技術

橋口 太亮

鹿児島県農業開発総合センター 園芸作物部 バイオテクノロジー研究室

1. はじめに

鹿児島県の水稲栽培面積は1万9,500haであり、当県では多様化するニーズに対応した品種育成を進めている。当県が育成した品種は、早期栽培用で高温登熟性に優れ多収、良食味の「なつほのか」、普通期栽培用で多収、良食味の「あきほなみ」や、焼酎醸造の麴原料に適する「たからまさり」などが挙げられる。近年、農産物の種苗流出による違法栽培が問題となっており、これらの品種の海外流出や違法栽培を防ぐ対策の一つとして、DNA マーカーを利用した品種識別技術がある。一方、当県では安定した米生産に向け、優良な品種の種子を確保し、供給するために、草姿や出穂期など品種の形態的特性や生態的特性の確認により、混入株および交雑株の除去を行い、品種の純度を維持している。DNA マーカーによる品種識別は、知識と経験を必要とする品種の純度維持を補完する技術として活用できる。

そこで、当県の水稲奨励品種・適品種である17品種を相互に識別できるDNA マーカーのセットを開発した。また、鹿児島県内で栽培されている品種で、収穫時期の近い品種間での混入を想定し、SSR マーカーによる混入した品種の検出精度についても併せて検討したので、その結果を紹介する。

2. 水稻品種の相互識別

当県の奨励品種・適品種は、一般食用の「コシヒカリ」、「イクヒカリ」、「なつほのか」、「ヒノヒカリ」、「あきほなみ」、「はなさつま」、「あきのそら」、糯品種の「峰の雪もち」、「さつま雪もち」、「さつま絹もち」、業務用加工用の「とよめき」、飼料用米向けの「夢はやと」、「くいつき」、低アミロース米の「彩南月」、焼酎麴米向けの高アミロース米の「たからまさり」、有色糯品種の「さつま黒もち」、「さつま赤もち」の17品

種があり、これらを供試した。プライマーは、McCouchら(2002)が開発した2,240のSSR(Simple Sequence Repeat)マーカーのうち、供試品種の交配履歴を参考に、選択した17種類のSSRマーカーを用いた。

SSRマーカーで検出される遺伝子型は、A型(「あきほなみ」型)およびK型(「コシヒカリ」型)の2つの遺伝子型に分けることで、識別が可能である。試験に用いた17種類のSSRマーカーで識別を試みたところ、「さつま絹もち」と「峰の雪もち」はRM3872だけが相互に異なる遺伝子型を示し、識別が可能であった。同様に、「イクヒカリ」と「とよめき」はRM3625だけが相互識別が可能であった。これらの品種間で、他の品種間より相互識別できるマーカーが少なくなった要因は、「さつま絹もち」は「峰の雪もち」が交配親、「とよめき」は「イクヒカリ」が交配親に使われており、それぞれ近縁な品種間のために、相互識別できるSSRマーカーが限られたと考えられた。そこでRM3872とRM3625を基準に、マーカー組み合わせが最小になるように選定した結果、RM6329、RM1279、RM5704-2、RM3872、RM3625、RM6872の6種類のマーカーを組み合わせることで、すべて同一の解析条件で17品種すべての相互識別が可能となった(表1、写真1)。また、玄米の粒色で判別できる有色米の「さつま黒もち」、「さつま赤もち」を除く15品種については、RM6329、RM1279、RM3872、RM3625、RM6872の5種類のマーカーで相互識別が可能である。

3. 混入品種の検出精度

収穫時期の近い組み合わせとし、「コシヒカリ」に「くいつき」、「コシヒカリ」に「イクヒカリ」、「なつほのか」に「とよめき」、「あきほなみ」に「ヒノヒカリ」(写真2)、「あきほなみ」に「あきのそら」、「たからまさり」に「夢はやと」を混入した条件を設定し

表1 鹿児島県水稻奨励品種・適品種に対し SSR マーカーで示される遺伝子型

供試材料	SSRマーカーの種類					
	RM6329	RM1279	RM5704-2	RM3872	RM3625	RM6872
コシヒカリ	K	K	K	K	K	K
イクヒカリ	A	K	K	A	K	A
なつほのか	K	K	A	A	A	K
ヒノヒカリ	K	K	A	K	A	K
くいつき	A	K	K	A	K	K
たからまさり	A	K	A	K	A	A
あきほなみ	A	A	A	A	A	A
あきのそら	K	K	K	A	K	A
とよめき	A	K	K	A	A	A
さつま雪もち	A	A	A	A	K	A
彩南月	A	K	A	K	K	A
夢はやと	A	A	A	K	A	A
さつま黒もち	A	K	K	K	K	A
さつま赤もち	A	A	A	A	K	K
さつま絹もち	A	K	A	K	A	K
峰の雪もち	A	K	A	A	A	K
はなさつま	K	A	A	K	A	A

注1) コシヒカリ型を K, あきほなみ型を A とした。

表2 鹿児島県水稻奨励品種・適品種の混入品種の検出試験の結果

試験区(a)	混入品種(b)	SSRマーカー	b/a 混入率 (%)						
			1%	3%	5%	10%	30%	50%	
早期	コシヒカリ	くいつき RM6329		○	○	○	○	○	○
早期	コシヒカリ	イクヒカリ RM6329				○	○	○	○
早期	なつほのか	とよめき RM6872					○	○	○
普通期	あきほなみ	ヒノヒカリ RM6872	○	○	○	○	○	○	○
普通期	あきほなみ	あきのそら RM6329				○	○	○	○
普通期	たからまさり	夢はやと RM1279		○	○	○	○	○	○

注1) 表中の○は、遺伝子解析の結果、混入品種が確認されたことを示す。

た(表2)。原原種の玄米を破碎して得た米粉を用いて、混入割合 1%, 3%, 5%, 10%, 30%, 50% の重量比 (mg) で混合し, DNA を抽出した。DNA マーカーは、相互識別が可能なものを利用した。

混入を想定した組み合わせで、混入品種の米粉の PCR を行った結果、各試験区の検出可能な混入率は 1~30% と異なった(表2)。「あきほなみ」に「ヒノヒカリ」を混入した試験区は、最も精度が高く、1% 混入で検出可能であった。品種の組み合わせで検出可能な混入率が異なるのは、DNA 増幅量の品種間差が考えられた。現在、検出精度が低い品種の組み合わせについて、別の PCR 酵素 (DNA ポリメラーゼ) を利用し、検出精度を高めるための試験を行っている。

4. 今後の展望

業務・加工用を含め、水稻品種利用の多様化する

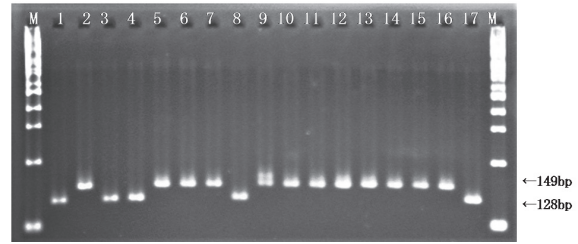


写真1 本県水稻奨励品種・適品種17品種の SSR マーカーでの検出結果

注1) M: サイズマーカー100bp ラダー, 1:「コシヒカリ」, 2:「イクヒカリ」, 3:「なつほのか」, 4:「ヒノヒカリ」, 5:「くいつき」, 6:「たからまさり」, 7:「あきほなみ」, 8:「あきのそら」, 9:「とよめき」, 10:「さつま雪もち」, 11:「彩南月」, 12:「夢はやと」, 13:「さつま黒もち」, 14:「さつま赤もち」, 15:「さつま絹もち」, 16:「峰の雪もち」, 17:「はなさつま」

注2) SSR マーカー: RM6329

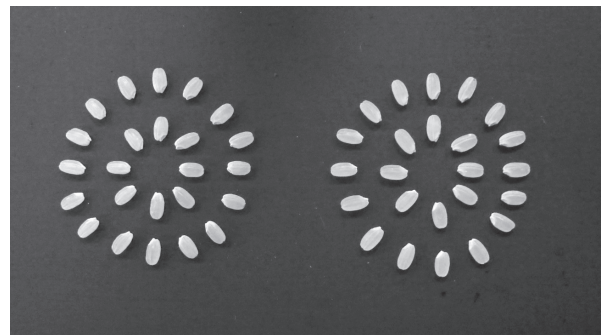
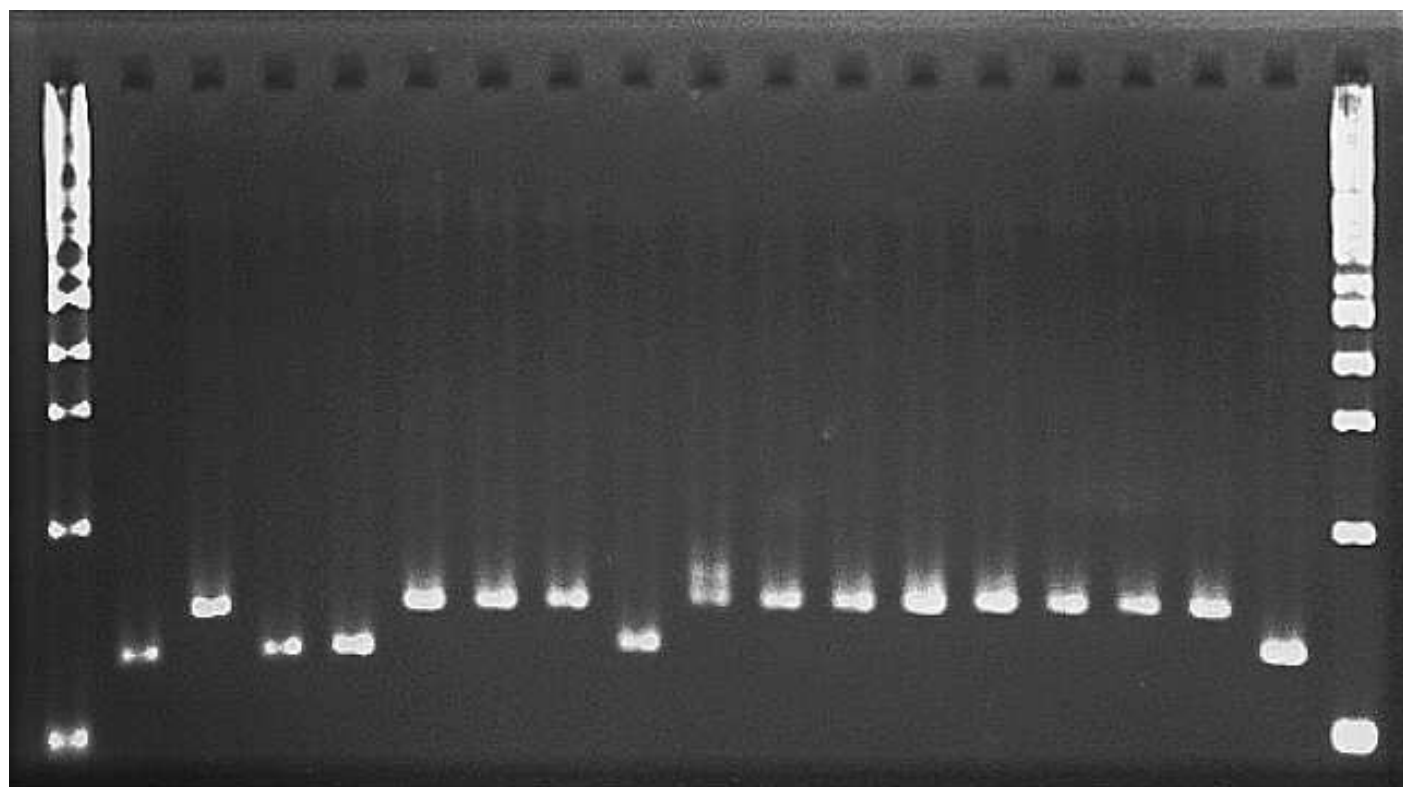


写真2 左「ヒノヒカリ」玄米, 右「あきほなみ」玄米

ニーズに対応するために、今後も新品種の育成は重要である。今後育成される新品種については、6種類の SSR マーカーで判別後に、必要に応じて他の SSR マーカーを追加して相互識別を可能にしていく予定である。DNA マーカーによる品種識別法は、原原種生産に携わる技術者以外でも、汎用的な試薬と一般的な遺伝子増幅装置や電気泳動装置などがあれば、多数の検体を迅速に判定できる。今回、確立した6種類のマーカーセットを違法な栽培の抑止や原原種の純度の維持に利用していくことで、当県育成品種の競争力維持や、安定的な種子の供給に役立つことを期待したい。

〒899-3401 鹿児島県南さつ市金峰町大野2200

(はしぐち たいすけ)



DNAマーカーによる鹿児島県水稻奨励
品種・適品種の相互識別技術