

本県育成水稲品種識別技術の開発

1. 試験のねらい

本県で育成した水稲品種なすひかり、とちぎの星等の知的財産権の保護および本県における水稲生産の要となる原々種や原種の安定生産を目的とし、迅速で高精度に品種識別を行う技術を開発する。

2. 試験方法

なすひかり、とちぎの星、コシヒカリの他、栃木県および近隣各県の奨励品種計 15 品種を供試した(表)。DNA 抽出は、簡易で葉や玄米から抽出可能な TPS 法(100mM Tris-Cl、10mM EDTA、1 M KCl の TPS バッファーを使用)を用いた。DNA マーカーは、インターネット上で公開されている 97 種類の SSR(単純反復配列:品種によって反復回数が異なることを利用する)マーカーを供試した。PCR は 1 段階のポストラベル法により行い、増幅産物は DNA シーケンサーで検出した。また、2 つの SSR マーカーが同時に検出できるように、PCR のマルチプレックス化を行った。更に、なすひかりとコシヒカリ、とちぎの星とあさひの夢において、1 % または 0.1% の異品種混入が検出できるかどうか検討した。

3. 試験結果および考察

- (1) 供試した 97 種類の SSR マーカーのうち 11 種類のマーカーで多型が認められた。また、そのうち RM1、RM5470、RM1328、RM3625 および RM2676 の 5 種類のマーカーを用いて、供試した全 15 品種の識別が可能であった(表)。
- (2) 15 品種を識別する 5 種類の SSR マーカーのうち RM1 と RM1328、RM5470 と RM3625 をセットにして PCR を行うと、同時に 2 つのマーカーが検出でき、マルチプレックス化が可能であった(図-1)。そのため、供試した 15 品種を 3 回の PCR で識別する技術が確立できた。
- (3) なすひかりにコシヒカリ、またはコシヒカリになすひかりを 1 % 混入した場合は、マーカー RM1328 および RM3625 で混入が安定して検出可能であったが、0.1% の混入では不安定であった。同様に、とちぎの星とあさひの夢の組合せでも、RM1328 を用いた PCR では 1 % の混入は安定して検出できたが、0.1% の混入では不安定であった。この結果から、1 % 以上の混入であれば安定して識別できる技術が確立できた(図-2)。

4. 成果の要約

1 段階のポストラベル法を用いた PCR を行い、DNA シーケンサーで検出を行うことで、5 種類の SSR マーカーを用いて、栃木県及び近隣各県の奨励品種 15 品種が識別可能であった。また、これらのマーカーをマルチプレックス化し、3 回の PCR で全 15 品種が識別できた。さらに本技術では、重量比 1 % の異品種混入を安定して検出できた。

(担当者 生物工学部 遺伝子工学研究室 癸生川真也、中澤佳子、天谷正行*、生井 潔)

*現 経営技術課

表 選抜した SSR マーカーによる水稻 15 品種の多型検出結果

SSRマーカー名	RM1	RM283	RM5	RM5470	RM8213	RM5711	RM8249	RM3496	RM1328	RM3625	RM2676				
染色体番号	1	1	1	2	4	7	7	8	9	11	5				
染色体上の位置 (cM)	29.7	31.4	94.9	111.2	10.7	24.2	96.1	119.6	0.0	34.8	54.6				
基本サイズ (nt)	103	167	125	256	230	168	190	148	211	161	167				
供試品種のマーカーサイズ	なすひかり	とちぎの星	コシヒカリ	あさひの夢	ひとめぼれ	あきたこまち	ゆめひたち	キヌヒカリ	ゴロピカリ	彩のかがやき	ゆめまつり	とちぎ酒14	五百万石	モチミノリ	ヒメノモチ
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	a	a	a	a	a	a-6	a	a+8	a+10	a	a	a	a	a	a
	a	a	a	a+4	a	a	a	a	a+10	a+20	a	a	a	a	a
	a-2	a+8	a	a-24	a	a-6	a-16	a	a	a	a	a	a	a	a
	a	a	a	a-24	a	a	a	a	a	a+20	a	a	a	a	a
	a	a	a	a-24	a-3	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	a	a	a	a-24	a	a	a	a+6	a+10	a+20	a	a	a	a	a
	a	a	a+6	a	a	a-6	a	a	a	a+20	a	a	a	a	a
	a-12	a+8	a	a-24	a-3	a	a	a+6	a	a+20	a	a	a	a	a
	a-12	a+8	a	a-24	a-3	a-6	a-16	a	a	a	a	a	a	a	a-14
	a-12	a+8	a	a-24	a-3	a-6	a-16	a	a	a	a	a	a	a	a
	a	a+8	a+6	a+4	a+4	a-6	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	a-2	a+8	a+6	a-24	a-15	a-12	a	a+8	a	a+14	a-2	a	a	a	a
	a-12	a+8	a+6	a-34	a+4	a-6	a-16	a	a+10	a+8	a-12	a	a	a	a
	a	a	a+6	a-24	a+4	a-12	a	a+6	a+10	a+18	a-12	a	a	a	a

注1. 供試品種のマーカーサイズは、なすひかりの塩基数を基本 (a) としプラスマイナスで表示した。
 注2. 灰色に網掛けしたプライマーは、15 品種を識別する 5 種類の SSR マーカーを示す。

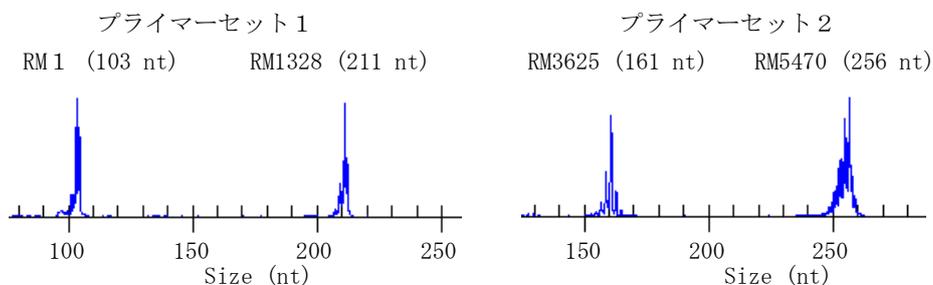


図-1 マルチプレックス PCR による品種識別 SSR マーカーの検出結果

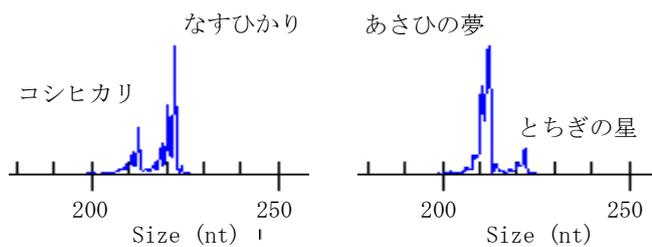


図-2 異品種 1%混入時の SSR マーカーRM1328 を用いた PCR 増幅結果

左：なすひかりに 1% のコシヒカリを混入
 右：あさひの夢に 1% のとちぎの星を混入