

水稻の品種識別データベースの更新

1. 成果の要約

栃木県では、SSR マーカーを用いたポストラベル法により水稻の品種識別を行っている。今回、より検定精度を高めるため、新たなマーカーを再選定し、品種識別データベース情報を更新した。さらに、酒造好適米「夢ささら」が育成されたことから、新たに「夢ささら」を識別できるマーカーを整備した。

2. キーワード

SSR マーカー、水稻、品種識別、ポストラベル法、夢ささら

3. 試験のねらい

栃木県では、本県育成品種の知的財産権の保護及び水稻原種の安定生産を目的とし、SSR マーカーを用いて品種識別を行っている。平成 30 年 2 月に品種登録出願公表となった酒造好適米の新品種「夢ささら」についても、迅速な保護対策や原種の安定生産が図れるようにするため、「夢ささら」を識別できる SSR マーカーを新たに整備する。

4. 試験方法

当場で過去 10 年間に原種生産を行っている 13 品種（コシヒカリ、なすひかり、とちぎの星、あさひの夢、きぬはなもち、トヨハタモチ、夢ささら、月の光、モチミノリ、ヒメノモチ、ゆめのはたもち、とちぎ酒 14、五百万石）を本研究の対象とした。各品種最低 3 個体以上の DNA を用いた。ただし、「夢ささら」は 60 個体を用いた。また、品種識別の精度を高めるため、栃木県及び農研機構が開発したマーカー（特許 第 5749466 号）から SSR マーカーを選定し直した。マーカーの検出は、ポストラベル法により PCR を行い、PCR 産物をシーケンサーによってフラグメント解析し、品種ごとにマーカーサイズを確認した。

5. 試験結果および考察

- (1) 混種識別に用いる SSR マーカーは、第一に検査品種に比べて他品種のマーカーサイズが大きいこと（表黄セル）、第二に検定品種よりも他品種のマーカーサイズが小さい場合は、スタッターの影響を受けにくいよう 4 bp 以上離れていること（表緑セル）を条件として選定した。その結果、13 品種は 8 種類の DNA マーカー（RM5、RM5711、RM8249、RM12927、RM21367、RM21859、M24481、M27695）を用いることで全ての品種識別が可能となった（表）。
- (2) 「夢ささら」は新品種のため、個体間のばらつきがないかを確認した。多数のサンプルで解析したところ、マーカーの個体間差は認められなかった。他 12 品種とは 3 種類の SSR マーカー（RM8249、RM21859、RM27695）で識別が可能である。また、「夢ささら」以外の品種においても、最大で 4 種類のマーカーを用いることで識別が可能であった（表）。
- (3) 「夢ささら」の DNA に「五百万石」の DNA を 4% の割合で混入させたところ、「五百万石」を示すマーカーサイズを明確に確認できることから、24 バルク法（24 粒ずつ混種の検査をする方法）による品種識別法を異品種混入の鑑定に用いることは、信頼性が高い（図）。

（担当者 研究開発部 生物工学研究室 福田理沙、田崎公久*、中澤佳子）

* 現経営技術課

表 選定した SSR マーカーによる品種識別に使用するプライマーの多型検出結果

検査品種	混種識別に用いるマーカー名	基準サイズ (bp)	混入品種													
			コシヒカリ	なすひかり	とちぎの星	あさひの夢	きぬはなもち	トヨハタモチ	夢ささら	月の光	モチミノリ	ヒメノモチ	ゆめのはたもち	とちぎ酒14	五百万石	
コシヒカリ	RM8249	197		a	a	a-16	a	a-16	a-16	a-16	a-16	a	a-16	a	a	
	RM21859	229		a	a	a+40	a+40	a+16	a	a+40	a+40	a	a-6	a+40	a+4	
	RM24481	273		a-24	a-24	a	a	a	a	a	a-24	a-24	a-4	a	a-24	
	RM27695	245		a	a+12	a	a	a+8	a	a	a	a+12	a+12	a+12	a	
なすひかり	RM5	133	a		a	a	a	a+11	a+6	a	a+6	a+6	a+6	a+6	a+6	
	RM24481	249	a+24		a	a+24	a+24	a+24	a+24	a+24	a	a	a+20	a+24	a	
	RM27695	245	a		a+12	a	a	a+8	a	a	a	a+12	a+12	a+12	a	
とちぎの星	RM5	133	a	a		a	a	a+11	a+6	a	a+6	a+6	a+6	a+6	a+6	
	RM24481	249	a+24		a	a+24	a+24	a+24	a+24	a+24	a	a	a+20	a+24	a	
	RM27695	257	a-12	a-12		a-12	a-12	a-4	a-12	a-12	a-12	a	a	a	a-12	
あさひの夢	RM8249	181	a+16	a+16	a+16		a+16	a	a	a	a	a+16	a	a+16	a+16	
	RM21367	306	a	a+8	a+8		a+8	a	a+8	a+8	a+8	a	a	a	a+8	
	RM21859	269	a-40	a-40	a-40		a	a-24	a-40	a	a	a-40	a-46	a	a-36	
	RM24481	273	a	a-24	a-24		a	a	a	a	a-24	a-24	a-4	a	a-24	
きぬはなもち	RM8249	197	a	a	a	a-16		a-16	a-16	a-16	a-16	a	a-16	a	a	
	RM21859	269	a-40	a-40	a-40	a		a-24	a-40	a	a	a-40	a-46	a	a-36	
	RM27695	245	a	a	a+12	a		a+8	a	a	a	a+12	a+12	a+12	a	
トヨハタモチ	RM21859	245	a-16	a-16	a-16	a+24	a+24		a-16	a-16	a+24	a+24	a-16	a-22	a+24	a-12
夢ささら	RM8249	181	a+16	a+16	a+16	a	a+16	a		a	a	a+16	a	a+16	a+16	
	RM21859	229	a	a	a	a+40	a+40	a+16		a+40	a+40	a	a-6	a+40	a+4	
	RM27695	245	a	a	a+12	a	a	a+8		a	a	a+12	a+12	a+12	a	
月の光	RM8249	181	a+16	a+16	a+16	a	a+16	a	a		a	a+16	a	a+16	a+16	
	RM12927	283	a+8	a+8	a+8	a+12	a+16	a+4	a+12		a	a	a-20	a+8	a	
	RM21859	269	a-40	a-40	a-40	a	a	a-24	a-40		a	a-40	a-46	a	a-36	
	RM24481	273	a	a-24	a-24	a	a	a	a		a-24	a-24	a-4	a	a-24	
モチミノリ	RM21859	269	a-40	a-40	a-40	a	a	a-24	a-40	a		a-40	a-46	a	a-36	
	RM24481	249	a+24	a	a	a+24	a+24	a+24	a+24	a+24		a	a+20	a+24	a	
ヒメノモチ	RM5711	164	a+12	a+12	a+6	a+6	a+6	a+3	a+6	a+6	a+6		a-3	a+6	a	
	RM8249	197	a	a	a	a-16	a	a-16	a-16	a-16	a-16		a-16	a	a	
	RM27695	257	a-12	a-12	a	a-12	a-12	a-4	a-12	a-12	a-12		a	a	a-12	
ゆめのはたもち	RM5711	161	a+15	a+15	a+9	a+9	a+9	a+6	a+9	a+9	a+9	a+3		a+9	a+3	
	RM8249	181	a+16	a+16	a+16	a	a+16	a	a	a	a	a+16		a+16	a+16	
とちぎ酒14	RM21859	269	a-40	a-40	a-40	a	a	a-24	a-40	a	a	a-40	a-46		a-36	
	RM24481	273	a	a-24	a-24	a	a	a	a	a	a-24	a-24	a-4		a-24	
	RM27695	257	a-12	a-12	a	a-12	a-12	a-4	a-12	a-12	a-12	a	a		a-12	
五百万石	RM5711	164	a+12	a+12	a+6	a+6	a+6	a+3	a+6	a+6	a+6	a	a-3	a+6		
	RM27695	245	a	a	a+12	a	a	a+8	a	a	a	a+12	a+12	a+12		

注¹. RM12927、RM21367、RM21859、RM24481、RM27695は農研機構が開発したマーカー（特許 第5749466号）。
 注². 混入品種の数値は、検査品種を基準（a）とし、混種識別に用いるマーカーで検出されるサイズをプラスマイナスで示した。
 注³. 黄色は検査品種よりもサイズが大きいもの、緑色は検査品種よりもサイズは小さいがピークが離れているため、混種識別に使用できる。
 注⁴. 太字マーカー名は、再度選定したマーカー。

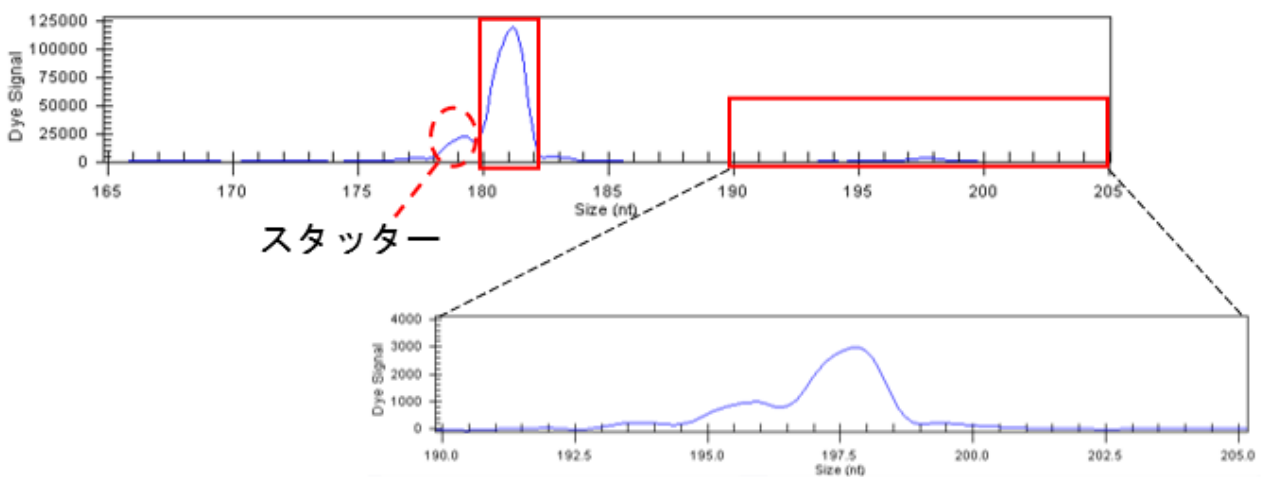


図 「夢ささら」に「五百万石」を混入させたときの検出例

1/24（約4%）で混入させた。夢ささらを示す181 bpの断片長とともに、五百万石を示す197 bpはわずかではあるものの、拡大すると山なりに検出されている。