

成績概要書 (2009年1月作成)

---

研究課題：ばれいしょの病害虫抵抗性選抜に有効な DNA マーカー

(マーカー選抜によるジャガイモシストセンチュウ抵抗性品種の早期開発)

(マーカー選抜によるジャガイモ Y ウイルス抵抗性品種の早期開発)

担当部署：中央農試 基盤研究部 遺伝子工学科、北見農試 作物研究部 馬鈴しょ科

協力分担：北農研旧線虫研究室

予算区分：受託 (民間)

研究機関：2004～2008 年度 (平成 16～20 年度)

---

## 1. 目的

ばれいしょの病害虫抵抗性品種を早期に育成するために、ジャガイモシストセンチュウ抵抗性遺伝子 *HI* およびジャガイモ Y ウイルス抵抗性遺伝子 *Ryhc* を高精度に検出する DNA マーカーを開発する。

## 2. 方法

### 1) 解析集団の抵抗性検定

抵抗性親と感受性親を交配した後代を用いて抵抗性検定を行った。

### 2) AFLP 法によるバルク解析

抵抗性、感受性個体由来の DNA をそれぞれ 12 個体ずつ混合したバルク DNA を作製し、AFLP 法 (遺伝子解析の一手法) による解析を行い、抵抗性個体のバルク DNA にのみ出現する断片を探索した。

### 3) DNA マーカーの開発

AFLP 断片周辺の塩基配列を解析し、PCR で検定するためのプライマーを設計した。

## 3. 成果の概要

1) ジャガイモシストセンチュウ抵抗性遺伝子 *HI* を高精度に判定できる DNA マーカーを開発した。

2) ジャガイモ Y ウイルス抵抗性遺伝子 *Ryhc* を高精度に判定できる DNA マーカーを開発した。

3) 検定時の高精度化を図るため、*HI* 遺伝子、*Ryhc* 遺伝子ともに、遺伝子の両側を挟む 2 マーカーのプライマーペアとした。また、ばれいしょの顆粒性澱粉合成酵素遺伝子 *GBSS* を検出するプライマーペアを追加し、必ず 981bp の増幅断片が得られるように設計することで PCR の作業エラーも明らかにできる (図 1、2)。

4) 検定精度を検討したところ、DNA マーカー検定は *HI* 遺伝子、*Ryhc* 遺伝子ともに 99.9% 以上の確率で検出でき、極めて高精度であった。

5) 検定試料は、従来法では休眠を打破した塊茎が必要であるが、DNA マーカー検定では葉に加え、塊茎からの DNA 抽出法も確立したため、検定は通年で実施可能である。

6) 検定期間は、従来法ではシストセンチュウおよび Y ウイルスともに 2～3 ヶ月間を要したが、DNA マーカー検定では 1 日 (200 点程度) で処理でき、飛躍的に効率化された (表 1、2)。

7) 一個体から抽出した DNA でシストセンチュウおよび Y ウイルスのマーカー検定に利用できるため、効率的である。

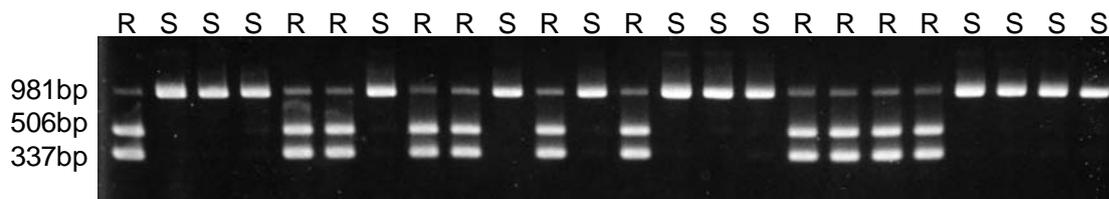


図1 PCRによるジャガイモシストセンチュウ抵抗性遺伝子*H1*の判定 (R:抵抗性、S:感受性)

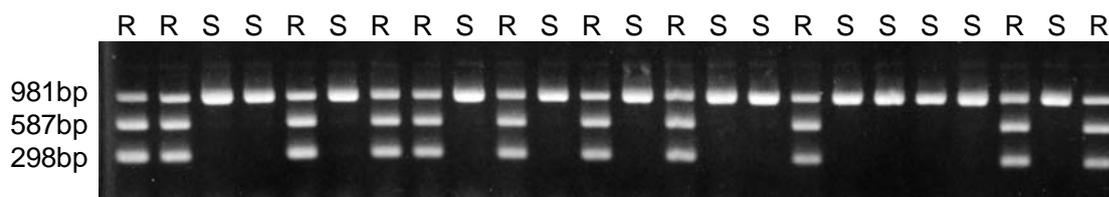


図2 PCRによるジャガイモYウイルス抵抗性遺伝子*Ryhc*の判定 (R:抵抗性、S:感受性)

表1 ジャガイモシストセンチュウ抵抗性検定法の比較

比較項目	検定法			
	汚染圃場	ポット法	カップ法	DNAマーカー
判定方法	根のシスト着生	根のシスト着生	根のシスト着生	PCRによる増幅断片
検定に要する期間	約3ヶ月間	2~3ヶ月間	約2ヶ月間	1日(200点程度)
検定試料の条件	休眠明けの塊茎	休眠明けの塊茎	休眠明けの塊茎	葉および塊茎 (通年で検定可能)
検定精度	普通	普通	高い	非常に高い

表2 ジャガイモYウイルス抵抗性検定法の比較

比較項目	検定法	
	接種検定法	DNAマーカー
判定方法	ウイルス全身感染 (エライザ検定)	PCRによる増幅断片
検定に要する期間	2~3ヶ月間	1日(200点程度)
検定試料の条件	休眠明けの塊茎	葉および塊茎 (通年で検定可能)
検定精度	高い	非常に高い

#### 4. 成果の活用面と留意点

- 1) 本研究で開発した DNA マーカー検定法は、ばれいしょ品種改良における選抜に活用でき、育種の効率化に貢献できる。

#### 5. 残された問題とその対応 なし