

平成24年度 成績概要書

研究課題コード： 3103 - 219331 (経常研究)

1. 研究成果

- 1) 研究成果名：小豆および菜豆のDNAマーカーによる北海道優良品種判別技術
(予算課題名：小豆・菜豆の新品種に対応したDNAマーカー品種判別技術)
- 2) キーワード：DNAマーカー、品種判別、小豆、菜豆
- 3) 成果の要約：小豆および菜豆について、現在の北海道優良品種および地方番号系統を迅速かつ客観的に判別できる、小豆では6個、菜豆では7個のSSRマーカーから成る品種判別マーカーセットを選定した。

2. 研究機関名

- 1) 担当機関・部・グループ・担当者名：中央農試・遺伝資源部・遺伝資源G・梶田路津子
- 2) 共同研究機関(協力機関):

3. 研究期間：平成23～24年度 (2011～2012年度)

4. 研究概要

1) 研究の背景

DNAマーカーによる品種判別技術は、流通における適正表示推進や不正輸入の未然防止に寄与する客観的で迅速な技術として育成者権の保護や生産農家の利益保護に役立っている。また、種子生産現場における異型の確認、解析等に利用できる。道総研では、これまで水稻、小麦および大豆において、新品種を含めた北海道優良品種を対象とした判別DNAマーカーを開発したが、主要畑作物である小豆および菜豆については、有望育成系統を含む新品種への対応がされていないことから、早急にその開発が必要である。

2) 研究の目的

小豆および菜豆について、公開されているSSRマーカー情報を利用して、ポリアクリルアミドゲル電気泳動での判別性が良い、新品種を判別できるDNAマーカーを選定する。

5. 研究方法

1) 多型マーカーの探索と品種判別マーカーセットの選定

・ねらい：小豆および菜豆について、既存の判別DNAマーカーおよび公開されているSSRマーカー情報を利用して、品種系統間で多型を示すマーカーを探索し、北海道優良品種や地方番号系統等を判別できる品種判別マーカーセットを選定する。

・試験項目等：

- (1) 供試材料：小豆23品種・系統、菜豆19品種・系統
- (2) 供試DNAマーカー

小豆：中央農試および農業生物資源研究所が選抜した既存の品種判別SSRマーカー9個、農業生物資源研究所が開発したSSRマーカー56個、計65個

菜豆：中央農試が選抜した既存の判別DNAマーカー8個、サンパウロ大学が開発したSSRマーカー44個、国際熱帯農業センター(CIAT)が開発したSSRマーカー16個、計68個

- (3) 増幅断片サイズの決定：各供試材料の種子1粒よりDNAを抽出、供試DNAマーカーをプライマーとしてPCR法によりDNAを増幅、ポリアクリルアミドゲル電気泳動後、染色し、サイズマーカーとの比較により増幅断片サイズを決定した。

(4) 多型マーカーの選抜：供試マーカーの中から供試材料間で多型を示すマーカーを選抜した。

(5) 品種判別マーカーセットの選定：選抜した多型マーカーの中から、PCR増幅断片の明瞭なものを中心に、供試材料間を判別可能な最小数のマーカーを品種判別マーカーセットとして選定した。

6. 研究の成果

- 1) 小豆では、品種系統間で多型を示す27個のマーカーを選抜し、その中から6個のマーカーを品種判別マーカーセットとして選定した。これにより、優良品種11点、旧優良品種6点、他県優良品種2点、地方番号系統4点の判別を可能とした。PCR増幅断片サイズを相対比較するための8つの標準品種を設定した。(表1)

- 2) 菜豆では、品種系統間で多型を示す21個のマーカーを選抜し、その中から7個のマーカーを品種判別マーカーセットとして選定した。これにより、DNAマーカー選抜と戻し交配を利用して特定のDNA領域を置換し、インゲンマメ黄化病抵抗性を「福勝」に導入した「福寿金時」、同様に「大正金時」に導入した「十育B80号」を除き、優良品種9点、旧優良品種3点、地方番号系統3点の判別を可能とした。PCR増幅断片サイズを相対比較するための8つの標準品種を設定した。(表2)

< 具体的データ >

表1 小豆品種判別マーカーとPCR増幅断片サイズ

品種・系統名	PCR増幅断片サイズ(bp)					
	CEDG	CEDG	CEDG	CEDG	CEDG	CEDG
	025	036	008	029	021	081
ベニダイナゴン	92	209	103	191	163	205
ほくと大納言	92	209	109	181	163	205
きたあすか	96	193	119	177	153	193
十育162号	96	193	119	177	161	193
ときあかり	96	193	119	181	161	219
きたのおとめ	96	199	117	181	143	193
宝小豆	96	199	117	181	143	205
しゅまり	96	199	119	177	153	193
寿小豆	96	199	119	181	143	193
エリモショウズ	96	199	119	181	161	193
サホロショウズ	96	209	113	153	163	205
ハヤテショウズ	96	209	117	153	143	205
カムイダイナゴン	102	193	103	181	161	219
アカネダイナゴン	102	193	109	181	161	219
アケノワセ	102	193	117	185	143	205
きたるまん	102	193	119	153	161	193
十育163号	102	193	119	181	161	221
とよみ大納言	102	193	119	191	161	219
ほまれ大納言	102	199	103	153	159	185
ホッカイシロショウズ	102	199	109	181	161	219
十育161号	102	199	119	181	153	193
きたほたる	102	199	119	185	157	205
十育160号	102	199	125	177	161	221

注1) PCR増幅断片サイズはサイズマーカー(10bpラダー)と比較して目視で判定した。

注2) 判別はPCR増幅断片サイズが同一のものを右隣のマーカーで分けて行う。

注3) 網掛けはPCR増幅断片サイズの標準品種。

表2 菜豆品種判別マーカーとPCR増幅断片サイズ

品種・系統名	PCR増幅断片サイズ(bp)						
	PvM	PVSSR	BMc	BMc	PVSSR	BMc	BMc
	126	01	229	238	09	367	294
姫手亡	128	168	101	136	198	160	93
雪手亡	128	168	101	136	198	162	93
絹てぼう	128	168	101	136	208	160	93
十育A60号	128	168	101	136	208	166	93
十育A57号	128	168	113	136	198	160	93
十育A59号	128	168	113	136	198	162	101
福うずら	132	153	101	142	190	156	125
福良金時	132	168	101	134	192	150	125
福虎豆	132	168	101	134	196	154	125
福勝	132	168	101	142	190	150	125
福寿金時	132	168	101	142	190	150	125
福白金時	132	168	101	142	190	150	127
改良虎豆	132	168	101	142	190	156	125
丹頂金時	138	153	101	134	192	150	127
大正金時	138	168	101	134	192	150	125
十育B80号	138	168	101	134	192	150	125
北海金時	138	168	101	134	192	150	129
福粒中長	138	168	101	134	196	150	129
改良中長	138	168	101	134	196	154	131

注1) PCR増幅断片サイズはサイズマーカー(10bpラダー)と比較して目視で判定した。

注2) 判別はPCR増幅断片サイズが同一のものを右隣のマーカーで分けて行う。

注3) 網掛けはPCR増幅断片サイズの標準品種。

注4) 「福勝」と「福寿金時」、「大正金時」と「十育B80号」の判別にはインゲンマ×黄化病抵抗性マーカーを用いる。

7. 成果の活用策

1) 成果の活用面と留意点

(1) 品種判別や種子生産における異型などの分析に活用できる。

(2) 特定のDNA領域のみが置換された品種の判別には、その置換に用いられたDNAマーカーを利用する。

2) 残された問題とその対応