

なしの自家和合性品種育成のための DNA マーカー選抜技術の利用

1. 成果の要約

なしにおける自家和合性品種育成の効率化のため、DNA マーカーによる自家和合性個体選抜を実施した。本選抜技術を導入することにより、幼苗のうちに個体選抜が可能となり、本県の自家和合性品種育成が加速化できる。

2. キーワード

DNA マーカー、なし、自家和合性、品種育成、マーカー選抜

3. 試験のねらい

なしの多くは自家不和合性を示し、結実には異なる S 遺伝子型を有する他品種の花粉を授粉させる必要がある。そのため、授粉労力の軽減や自然着果による結実量の確保等が見込める自家和合性品種が育成されている。また、近年では、授粉用花粉の輸入等による火傷病蔓延防止の観点からも、自家和合性品種の開発は重要な課題の一つである。

自家和合性に関与する S 遺伝子 (S_4^{sm}) と自家不和合性に関与する S 遺伝子 ($S_1 \sim S_9$ および S_k) については、Okada ら (2006)、Nashima ら (2015) によって DNA マーカーを用いた S 遺伝子型判別技術が確立されている。そこで、この技術を本県育種の実生苗選抜時に導入することにより、効率的に自家和合性品種を育成する。

4. 試験方法

供試材料として、10 品種・系統（自家和合性品種：なるみ、自家不和合性品種・系統：筑水、{(若光×栃木 4 号)-1}、ほしあかり、彩玉、かおり、日の出、新高、きらり、にっこり）を用いて、S 遺伝子型を判別する DNA マーカーの検出条件を検討した。また、実生苗選抜に利用するため、アルカリボイル法により簡易抽出した DNA を用いてマーカー検出の条件を検討した。実生苗の選抜条件確立後、2022～2023 年に自家和合性品種を交配した 6 集団 627 個体について、S 遺伝子型検出パターン（図-1）に応じた DNA マーカーを用い、自家和合性個体を判定した。

5. 試験結果および考察

(1) S 遺伝子型判定技術の本県育種への導入

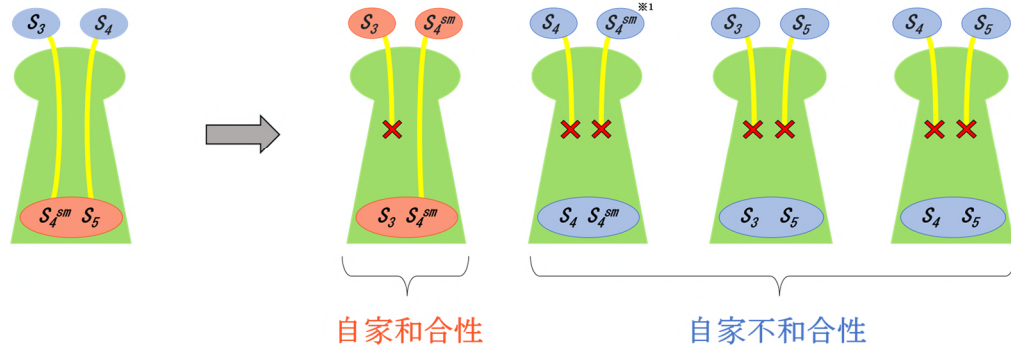
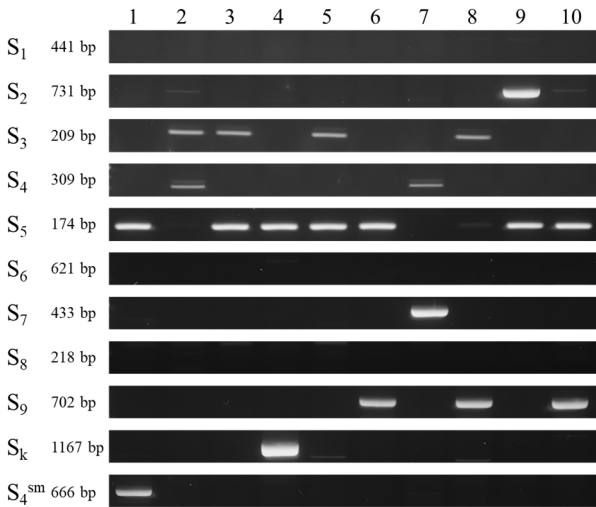
DNA マーカーの検出条件を検討した結果、主要な遺伝資源ならびに実生苗の S 遺伝子型を判別できた（図-2、3）。これにより、本県の育種において S 遺伝子型判別技術の利用が可能となった。

(2) DNA マーカーを利用した実生苗選抜

S 遺伝子型判別マーカーを利用して、2022 年及び 2023 年交配実生苗 627 個体についてマーカー選抜し、214 個体を自家和合性と判定した。供試した 6 交配組合せのうち、交配番号 23-2 を除く 5 組合せで理論分離比に適合 ($P>0.05$) した（表）。

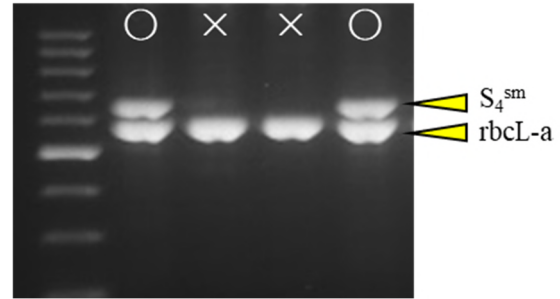
（担当者 研究開発部 生物工学研究室 川崎美穂・天谷正行・阿部朋孝*）

*現 経済流通課（（一社）とちぎ農産物マーケティング協会派遣）

♀ なるみ [$S_4^{sm} S_5$] × ♂ 筑水 [$S_3 S_4$]図－１ F₁ 個体の S 遺伝子型検出パターン例（♀ なるみ [$S_4^{sm} S_5$] × ♂ 筑水 [$S_3 S_4$]）※1 S_4^{sm} の花粉は雌ずいの S_1 、 S_4 双方と不和合性を示すため、 S_1 あるいは S_4 と S_4^{sm} とのヘテロ接合体（ $[S_1 S_4^{sm}]$ 、 $[S_4 S_4^{sm}]$ ）は自家不和合性である。

図－２ S 遺伝子特異的 DNA マーカーの検出

1: なるみ [$S_4 S_5$]、2: 筑水 [$S_3 S_4$]、3: [(若光 × 栃木 4 号) - 1] [$S_3 S_5$]、
 4: ほしあかり [$S_5 S_k$]、5: 彩玉 [$S_3 S_5$]、6: かおり [$S_5 S_9$]、
 7: 日の出 [$S_4 S_7$]、8: 新高 [$S_3 S_9$]、9: きらり [$S_2 S_5$]、10: につこり [$S_5 S_9$]
 供試材料の中に S_1 、 S_6 、 S_8 を持つ品種・系統は含まれていない



図－３ 実生苗から簡易抽出した DNA を用いた DNA マーカーの検出

O: S_4^{sm} マーカー (666 bp) 有、×: S_4^{sm} マーカー (666 bp) 無
 rbcL-a (599 bp) はポジティブコントロールとして使用
 DNA 抽出: アルカリポイル法
 材料: 組合せ番号 22-7 (新高 [$S_3 S_9$] × なるみ [$S_4^{sm} S_5$])

表 2023 年交配集団マーカーによる自家和合性判定結果

交配年次	組合せ番号	交配組合せ[S遺伝子型] ^{※1}				個体数 ^{※2}	判別結果			理論分離比 ^{※3}	χ^2 検定 p値 ^{※4}
		♀	♂				和合性	不和合性	判定不能		
2022	22-1	なるみ [$S_4^{sm} S_5$]	×	筑水 [$S_3 S_4$]		54	13	41	0	1 : 3	0.88
	22-5	なるみ [$S_4^{sm} S_5$]	×	日の出 [$S_4 S_7$]		8	1	7	0	1 : 3	0.41
	22-7	新高 [$S_3 S_9$]	×	なるみ [$S_4^{sm} S_5$]		114	57	57	0	1 : 1	1.00
2023	23-2	なるみ [$S_4^{sm} S_5$]	×	日の出 [$S_4 S_7$]		277	87	186	4	1 : 3	0.01
	23-3	なるみ [$S_4^{sm} S_5$]	×	161509 [$S_4 S_9$]		129	30	99	0	1 : 3	0.65
	23-6	ほしあかり [$S_5 S_k$]	×	新王 [$S_3 S_4^{sm}$]		45	26	19	0	1 : 1	0.30
計						627	214	409	4		

※1 自家和合性品種は網掛け

※2 個体数=判定対象個体数+判定不能個体数

※3 交配集団のS遺伝子型に基づく自家和合性及び自家不和合性の理論分離比

なるみ [$S_4^{sm} S_5$] × 筑水 [$S_3 S_4$] [$S_3 S_4^{sm}$] : [$S_4 S_4^{sm}$] [$S_3 S_5$] [$S_4 S_5$] = 1 : 3なるみ [$S_4^{sm} S_5$] × 日の出 [$S_4 S_7$] [$S_4^{sm} S_7$] : [$S_4 S_4^{sm}$] [$S_4 S_5$] [$S_5 S_7$] = 1 : 3新高 [$S_3 S_9$] × なるみ [$S_4^{sm} S_5$] [$S_3 S_4^{sm}$] [$S_4 S_5$] : [$S_3 S_5$] [$S_5 S_9$] = 1 : 1なるみ [$S_4^{sm} S_5$] × 日の出 [$S_4 S_7$] [$S_4^{sm} S_7$] : [$S_4 S_4^{sm}$] [$S_4 S_5$] [$S_5 S_7$] = 1 : 3なるみ [$S_4^{sm} S_5$] × 161509 [$S_4 S_9$] [$S_4^{sm} S_9$] : [$S_4 S_4^{sm}$] [$S_4 S_5$] [$S_5 S_9$] = 1 : 3ほしあかり [$S_5 S_k$] × 新王 [$S_3 S_4^{sm}$] [$S_4^{sm} S_5$] [$S_4 S_k$] : [$S_3 S_5$] [$S_3 S_k$] = 1 : 1

※4 調査個体数から判定不能個体を除いて計算