

サツマイモの品種識別技術の進展状況



農研機構九州沖縄農業研究センター
カンショ・サトウキビ育種グループ

たなか
田中

まさる
勝

1. はじめに

サツマイモは収穫物であるいも（塊根）や、いもから萌芽した茎の切片である苗を利用して、容易に同一品種の増殖が可能である。最近、日本産サツマイモの海外での人気が高く、サツマイモの輸出量が急速に増加しているが、その多くは生のいものまま輸出されている。そのため、種苗の海外流出の危険性が高く、2020年には国内で育成された「べにはるか」が韓国で大規模に栽培されていることが報じられている¹⁾。また、国内においても苗の供給のために毎年大量の種苗が種いもや苗の形で流通している。そのような中、登録品種の種苗がインターネット上のフリーマーケットアプリで違法に販売されているとする報道もある²⁾。サツマイモは青果用、食品加工用、澱粉原料用、焼酎原料用、色素原料用など用途が多様であり、用途ごとに異なる特性を持った品種が流通している。しかし、同一用途の品種では、いもの皮色や肉色が似通っている場合が多く、外見のみからでは識別が困難な場合も多い。また、苗についても葉形や葉色等に明確な違いがない場合は外見からの識別は困難である。そのため、品種の育成者権を保護していくためには、品種を確実に見分けられる品種識別技術の開発

が望まれる。他の作物ではDNAの情報を利用して品種を見分けるDNA品種識別技術の開発や実用化が進んでいるが、サツマイモでは開発が遅れていた。DNA品種識別技術の開発のためにはまず、品種間におけるDNA配列上の差を見分けるDNAマーカーを開発する必要があるが、サツマイモは遺伝的に複雑な作物であり、DNAマーカーの開発が難しかったことが大きな原因である。しかし、次世代シーケンサーに代表されるDNA配列解析技術の進展により、サツマイモでも明瞭な多型を示すDNAマーカーの効率的な開発が可能となり、DNA品種識別技術の開発が進みつつある。本稿では、サツマイモのDNA品種識別技術の開発や実用化に関する最近の状況について紹介する。

2. 品種識別技術の開発状況

サツマイモは染色体の同一基本セットを6組持つ六倍体である。また、基本的に同一品種同士での交配（自殖）では種子の採れない他殖性の作物である。このため、遺伝様式や染色体の構成が極めて複雑となっている。このことから、サツマイモでは効率的なDNAマーカー開発の基盤となる染色体全体（ゲノム）のDNA配列の解読が

他の作物に比べて遅れてきた。また、一般的にDNA マーカーはPCRを用いて増幅されることが多いが、サツマイモのような倍数性の高い作物ではPCRで増幅されるDNAの配列が多様になるため、開発されたマーカーについても多型が不明瞭になりがちで、厳密さを要求される品種識別への利用は困難であった。著者らは他の作物で品種識別用のDNA マーカーとしてよく利用されているCAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) を利用した品種識別マーカーを2010年に報告しているが³⁾、一部のマーカーは電気泳動で検出されるシグナルに濃淡が生じやすく、増幅に用いるDNAの品質によっては検出が不安定となりがちであった。

このような中、岡山大学のグループにより、サツマイモのゲノム中に存在する転移因子(トランスポゾン)の一種であるレトロトランスポゾンの品種間における挿入多型を利用したDNA マーカーが開発された⁴⁾。レトロトランスポゾンは自身の転写産物

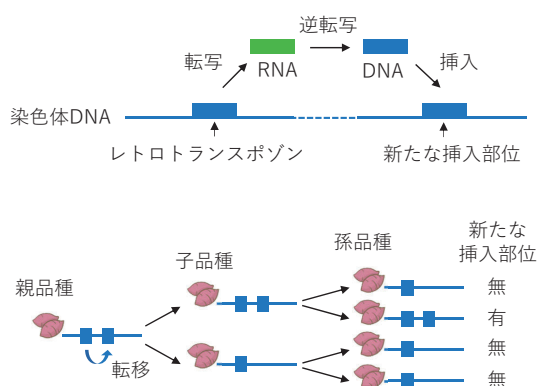


図1 レトロトランスポゾンの転移様式(上)と新たに生じた挿入箇所の遺伝(下)。レトロトランスポゾンの転移では元の挿入部位を維持したまま染色体上の別の部位に新たな挿入部位を形成する。転移によって生じた新たな挿入部位は転移が生じた個体の子孫の一部にのみ遺伝する。

(RNA)を逆転写し、生じたDNA分子を染色体の別の部位に挿入するという、いわゆるコピー&ペーストタイプの転移を行う(図1)。そのため、一度生じた挿入部位は転移によって消失することではなく、新たに生じた挿入部位はその個体自身と子孫の一部のみに受け継がれるという特徴がある。特に、最近の転移で生じた挿入部位は保有する品種が限られるとともに、6本の相同染色体中1本にのみ存在することが多い。このような挿入部位はPCRで増幅し、DNAマーカーとして利用した際に非常に明瞭な電気泳動像が得られる(図2)。そのため、識別したい対象品種に特異性の高い挿入部位を見出すことができれば、品種識別用DNAマーカーとして極めて有用である。このようなレトロトランスポゾンの挿入部位由来のDNAマーカーを利用してこれまでに、青果用の「べにはるか」「ふくむらさき」、色素原料用の「アヤムラサキ」

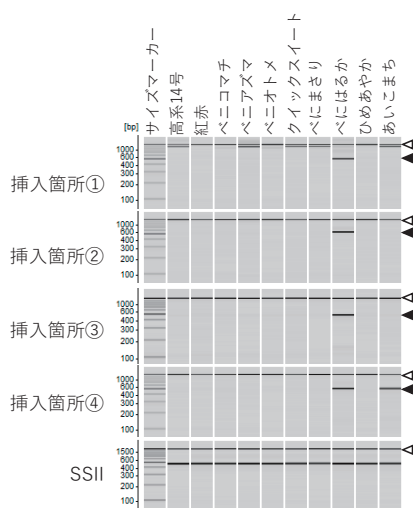


図2 レトロトランスポゾンの品種間挿入多型を利用して作成した「べにはるか」に特異性の高いDNAマーカー(黒矢印)の電気泳動例(文献5より改変)。白抜の矢印は電気泳動度の補正用の内部標準。SSIIは全ての品種で増幅されるDNAマーカー。

「ムラサキマサリ」「アケムラサキ」など、いくつかの品種について特異的な識別用DNAマーカーが開発されている⁵⁾⁶⁾⁷⁾。

また近年、次世代シーケンサー技術の進展により、サツマイモについても比較的安価にゲノム全体をカバーするDNA配列（全ゲノム配列）を得られるようになってきた。そこで、著者らは対象品種とその2世代前までの品種・系統の全ゲノム配列を取得・解析し、対象品種の親のゲノム中で生じた挿入欠失変異を探索することで、対象品種に特異性の高いDNAマーカーを迅速に作成することができるのではないかと考えた。実際に青果用品種「べにはるか」について品種特異的な挿入欠失変異を利用した識別用DNAマーカーが得られている⁸⁾。

3. 品種識別技術の実用化状況

品種特異的な識別用DNAマーカーを利用すると、少数のDNAマーカーで多くの品種との識別が可能であるため、簡易な品種識別キットの開発に適している。著者らは、農林水産省の委託プロジェクト研究「品種識別技術の開発」において、レトロトラ

ンスポゾン由来のDNAマーカーを利用して「べにはるか」「ふくむらさき」識別用の簡易識別キットを開発した（図3）。このキットでは3つの識別用DNAマーカーと、全ての品種で増幅される1つの増幅確認用DNAマーカーの合計4つのDNAマーカーをマルチプレックスPCRで増幅し、増幅産物をDNAクロマト紙で検出することで「べにはるか」「ふくむらさき」を国内の主要なサツマイモ品種を含む47品種と識別できる。このキットを用いた識別技術では、若い葉やいもを出発材料とし、DNAの抽出から識別用DNAマーカーの検出までを3時間程度で行うことが可能である（図4）。キットは株式会社ファスマックから市販されており（商品名：GenCheck べにはるか・ふくむらさき）、同社においてキットを利用した受託分析も行われている。また、識別方法を記載したマニュアルが農研機構のホームページから公開されている⁹⁾。

これまでサツマイモについては論文等で品種識別用のDNAマーカーの開発が報告されてきたが、必ずしも異なる実験者や実

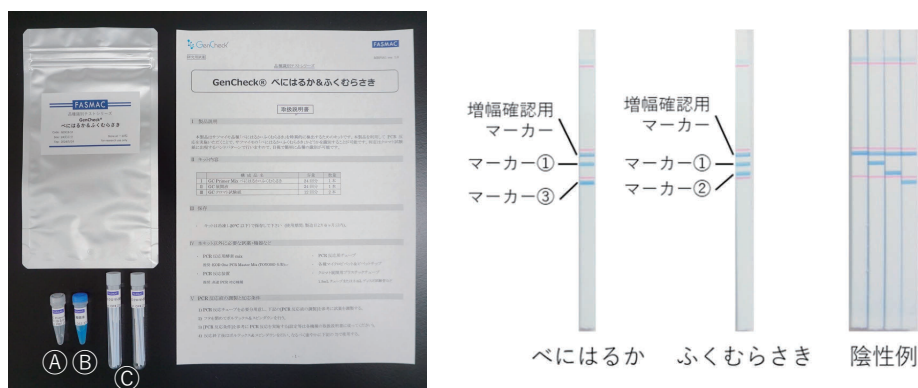


図3 開発した「べにはるか」「ふくむらさき」識別キット（左）と識別例（右）。キットには①プライマー Mix、②DNAクロマト展開液、③DNAクロマト紙が含まれる。「べにはるか」ではマーカー①と③が、「ふくむらさき」ではマーカー①と②が検出される。他の品種（識別マニュアルに記載の47品種）ではそれ以外の検出パターンとなる。（文献13より改変；キットの写真は株式会社ファスマック提供）

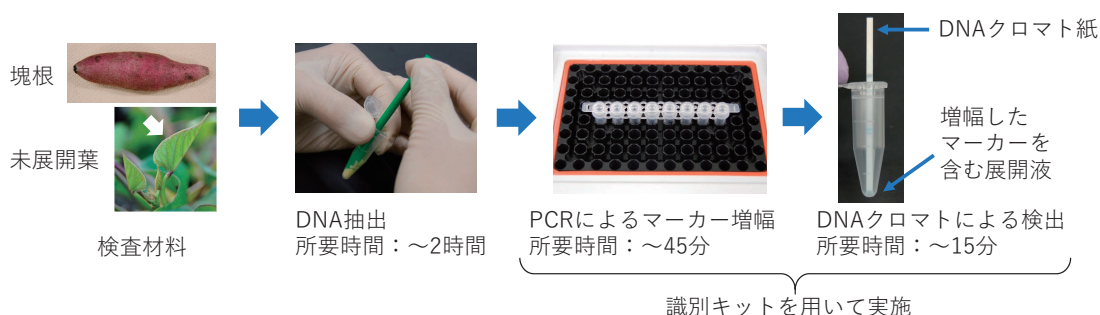


図4 識別キットを用いた識別操作の流れ（文献13より）

験室の間での再現性は確認されていなかった。また、識別を行うにはDNA実験の経験に加えて、PCRや電気泳動装置、分光光度計、遠心分離機をはじめとするDNA実験用の設備が必要であり、研究機関以外では識別の実施は困難であった。上記の「べにはるか」「ふくむらさき」の識別技術は、農林水産省が公開しているガイドライン¹⁰⁾に従って複数の機関で妥当性確認試験を行っており、マニュアルに従った実験操作を行えば、異なる実験者や実験室でも高い再現性が得られることを確認している。また、キットの販売元で受託分析が実施されていることから、DNA実験の経験や設備がなくても識別を実施することが可能であり、実際に民間からの依頼による識別も実施されている。サツマイモについては毎年、多くの種苗が流通していることから、他の作物に比べて品種識別の潜在的な需要が高いと考えられる。今後、青果用の主要品種や新品種を中心に識別可能な品種を増やしていく必要がある。上述の「品種識別技術の開発」プロジェクトでは、青果用品種の「からゆたか」「すずほっくり」に加え、色素原料用品種の「むらさきほまれ」についても「べにはるか」「ふくむらさき」と同様の識別技術の開発を目指している。

4. 課題と今後の展望

2018年7月発行の本誌においてもサツマイモの品種識別技術について紹介させていただいたが¹¹⁾、その際に実用化のためには、技術の妥当性の検証や受け皿となる分析機関の確保が重要であるとしていた。今般、「べにはるか」と「ふくむらさき」の2品種のみではあるものの、妥当性を確認した識別技術を実用化することができた。これは、「品種識別技術の開発」プロジェクトに参画した大学や民間企業、公的研究機関がゲノム配列の解析から、DNAマーカー開発、DNA抽出方法の検討、キットの試作、妥当性の確認まで一体的に取り組んだ成果である。今後も実用的なサツマイモの品種識別技術を開発していく上で、同様の取り組みが重要になると考えている。

サツマイモは品種の開発ペースが速く、新品種に対応した識別技術の開発も迅速に進める必要がある。本稿で紹介した品種特異的な識別技術は少数のマーカーで対象品種の検出が可能であり、簡易識別には適しているものの、新たな品種が開発される度にマーカー開発が必要になることや、マーカーが検出されない品種については品種が特定できないことなど欠点もある。今後は多型の明瞭なマーカーを複数組み合わせ

多品種を相互識別可能な技術を開発し、既存品種や有望系統の多型のデータベース化を進めておくことも重要と考えられる。

また、マニュアルを公開した「べにはるか」「ふくむらさき」の識別技術においては、DNA抽出にかかる時間が全行程の3分の2程度を占めている。いもをサンプルとする場合には、含まれるDNA量が少ないことから、サンプルによってはマニュアルに記載の推奨濃度を確保するのが困難な場合もある。そのため、簡便で効率的なDNAの抽出方法も今後の検討課題である。

種苗法の施行令ではサツマイモ品種の育成者権が及ぶ加工品として干しいもと焼いもが定められている。植物防疫上の理由から、多くの国から生いもの輸入は禁止されており、輸入は基本的に加工品として行われている。そのため、違法な逆輸入を水際で防止するために、加工品に適用可能な識別技術の開発も求められる。著者らは増幅対象とするDNA配列を短くすることで、焼きいもや干しいもから抽出したDNAでも、多くの場合、品種特異的なDNAマーカーの増幅が可能であることを確認している¹²⁾。加工品については、製品によってDNAの損傷程度が異なることから、現状では全ての製品に適用可能な識別方法を確立することは困難であるが、今後の技術の進歩により加工品についても実用的な品種識別技術が開発できることを期待している。

引用文献

- 1) 日本農業新聞、2020年11月15日。
- 2) 日本農業新聞、2023年6月14日。
- 3) Tanaka ら (2010) Development of

- cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS)-based markers for identification of sweetpotato cultivars. Sci. Hortic. 123: 436-442.
- 4) Monden ら (2014) Efficient DNA fingerprinting based on the targeted sequencing of active retrotransposon insertion sites using a bench-top high-throughput sequencing platform. DNA Res. 21: 491-498.
- 5) 田中ら (2015) サツマイモ品種「べにはるか」の品種判別マーカー開発のためのレトロトランスポゾン *Rtsp-1* 挿入個所のスクリーニング. 日本作物学会九州支部会報 81, 43-45.
- 6) 田中ら (2016) 色素原料用サツマイモ品種の識別に利用可能なレトロトランスポゾン *Rtsp-1* 挿入個所の選定. DNA 多型 24, 115-118.
- 7) Monden ら (2023) Chromatographic printed array strip (C-PAS) method for cultivar-specific identification of sweetpotato cultivars 'Beniharuka' and 'Fukumurasaki'. Breed. Sci. 73, 313-321.
- 8) 田中ら (2024) 品種特異的な挿入欠失を利用したサツマイモ品種「べにひなた」識別用DNAマーカーの開発. 育種学研究 26 (別1), 72.
- 9) 農研機構他 (2023) DNAクロマトを用いたサツマイモ品種「べにはるか」「ふくむらさき」の品種特異的DNA品種識別技術. 農研機構「DNA品種識別技術に関する情報」, https://www.naro.go.jp/collab/breed/hinshu_shikibetsu/index.html
- 10) 農林水産省輸出・国際局知的財産課 (2023) DNA品種識別技術の妥当性確認のためのガイドライン (令和4年度改訂版)。
- 11) 田中 (2018) DNAマーカーを用いたサツマイモの品種識別技術～紫いもを中心として～. いも類振興情報 136, 29-34.
- 12) 田中ら (2023) DNA分析によるサツマイモ加工品の品種識別の試み. DNA 多型 31, 57-62.
- 13) 農研機構普及成果情報 (2023) かんしょ品種「べにはるか」「ふくむらさき」のDNA品種識別技術.