

## 令和 4 年度終了 豆類振興事業助成金（試験研究）の成果概要

1 課題名 DNA マーカー選抜を利用した茎疫病抵抗性小豆品種の  
開発強化

2 研究実施者

研究代表者 北海道立総合研究機構 中央農業試験場  
作物開発部 作物 G 研究主任 道満剛平

分担 同上 中央農業試験場 作物開発部 生物学 G、  
十勝農業試験場 研究部 豆類畑作 G、上川農業試験場 研究部 生産技術 G



3 実施期間 令和 2 年度～令和 4 年度（3 年間）

4 試験研究の成果概要

(1) 試験研究の目的

茎疫病抵抗性の“エリモ”、“しゅまり”ブランド品種の開発を目標に、「十育 170 号（後の、きたひまり、以下同様）」が有する茎疫病抵抗性の DNA マーカーを開発する。開発したマーカーと既存の土壌病害抵抗性の DNA マーカーとを組み合わせ用い、基幹品種への抵抗性導入を行う。茎疫病発生圃場において、育種材料の茎疫病抵抗性を効率的に選抜する。道央地域の気象条件下で、収益性向上と栽培の省力化に寄与できる有望系統を選抜する。

(2) 実施計画、手法

1) アズキ茎疫病抵抗性選抜マーカー開発による基幹品種への病害抵抗性導入（中央農試・十勝農試、R2～R4）

① DNA マーカーの開発と効率的選抜

- ・ねらい：「きたひまり」および「Acc1398」に由来する茎疫病抵抗性を選抜可能な DNA マーカーを開発する。
- ・供試材料：「きたひまり」および「Acc1398」を系譜にもつ後代系統
- ・試験方法

接種条件：水田に 5 月下旬～6 月上旬に播種。7 月下旬～8 月上旬までは通常栽培を行い、7 月下旬～8 月上旬に培養増殖した複数レースの茎疫病菌体を圃場内にばらまき、湛水処理を 1 回実施。排水後、発病状況を確認し調査を行う。

調査方法：調査時に各区の個体ごとに以下の指数の基準に基づき発病調査を行い、発病度を算出する。指数 0：発病が認められない、1：僅かな発病が認められる、2：進展性のある病徴が認められる、3：茎の半分程度が萎凋か枯死、4：枯死。

発病度 =  $(\sum (\text{指数} \times \text{当該個体数}) / (4 \times \text{調査個体数})) \times 100$ 。

② 基幹品種への抵抗性導入

- ・ねらい：「きたひまり」の土壤病害抵抗性を、選抜可能な DNA マーカーを活用し、回復し交配により基幹品種への導入を図る。
  - ・供試材料：供与親「きたひまり」、  
回復親「エリモ 167」、「しゅまり」、「きたろまん」。
  - ・選抜マーカー：茎疫病抵抗性（1）①で新規開発する DNA マーカー）、落葉病レース 1・2 抵抗性（*Pga2*）、萎凋病抵抗性（*Rfoa2*）。
- 2) 道東・道央向けアズキ茎疫病抵抗性の系統選抜（上川農試、R2～R4）
- ・ねらい：茎疫病抵抗性を目標とする F<sub>5</sub> 世代以降の系統について、茎疫病菌を接種して造成した発病圃場を活用して効率的に選抜する。
  - ・供試材料および試験設計：
    - ①F<sub>5</sub> 世代系統検定試験：221～380 系統および判定基準品種系統（エリモショウズ、しゅまり、十育 150 号、能登小豆、十系 1077 号）、1 区 0.6 m<sup>2</sup>（回復なし）。
    - ②F<sub>6</sub> 世代系統検定試験：38～74 系統および判定基準品種系統（同上）、1 区 0.6 m<sup>2</sup>（2 回復）。
    - ③茎疫病圃場抵抗性特性検定試験（特性検定）：地方配付（十育）系統 3～5 系統、十系系統 8～28 系統および判定基準品種系統（同上）、1 区 0.6 m<sup>2</sup>（4 回復）。
  - ・試験方法：1) ①に準ずる。
- 3) 道央地域で安定生産可能な小豆多収・長胚軸系統の選抜（中央農試、R2～R4）
- ・ねらい：F<sub>5</sub> 世代以降の系統について、道央地域に適した系統の選抜を行う。
  - ・供試材料および試験設計：
    - ①F<sub>5</sub> 世代系統選抜試験（系選）：247～262 系統および比較品種（エリモ 167、きたあすか、とよみ大納言、ほまれ大納言等）、1 区 2.1 m<sup>2</sup>、回復なし。
    - ②F<sub>6</sub> 世代小規模生産力検定予備試験（小生予）：50～61 系統および比較品種（エリモ 167、きたあすか、とよみ大納言、ほまれ大納言等）、1 区 4.2 m<sup>2</sup>、乱塊法 2 回復。
    - ③F<sub>7</sub> 世代以降系統適応性検定試験（系適）：17～19 系統および比較品種（エリモ 167、しゅまり、きたひまり、とよみ大納言、ほまれ大納言等）、1 区 6.3 m<sup>2</sup>、乱塊法 3 回復。
  - ・調査項目：
    - F<sub>5</sub> 系統：成熟期、主茎長、倒伏程度、胚軸長（達観）、百粒重、子実外観品質等。
    - F<sub>6</sub> 世代以降の系統：F<sub>5</sub> 系統の調査項目に加え、主茎節数、子実重、屑粒率等。
- 4) 道央地域向け中後期世代の加工適性による選抜（十勝農試、R2～R4）
- ・ねらい：農業特性が優れる F<sub>6</sub> 世代以降の系統について、製あん試験により加工適性を明らかにし選抜に活用する。
  - ・供試材料：
    - ①F<sub>6</sub> 世代系統：小生予で農業特性が優れて試験成績が良好な 15～24 系統および比較品種（エリモ 167、きたあすか、しゅまり、とよみ大納言、ほまれ大納言等）。

②十系系統：3)と同じ。

③十育系統：3～5系統および比較品種（エリモ167、しゅまり、きたひまり、とよみ大納言、ほまれ大納言等）。

・試験方法および調査項目：

原料50gに150mLの水を加え98℃で20～40分間前炊き、洗切り後200gの水を加え98℃で90～110分間本炊き（大納言は本炊き120分間）。煮熟豆をつぶした後、15分攪拌し、#60の篩で呉を除き、生あんを取り出し、2Lの水で15分3回さらしを行い、濾布を用い遠心分離機により脱水し、約60%水分の生あんを生成。原料は供試材料①～③のすべて中央農試産、さらに②・③の一部系統は十勝農試産も使用。煮熟特性、生あん色、あん粒子径を調査。各2反復。

### (3) 成果の概要

1) アズキ茎疫病抵抗性選抜マーカー開発による基幹品種への病害抵抗性導入（中央農試・十勝農試、R2～R4）

#### ①DNAマーカーの開発と効率的選抜

ア) 「きたひまり」に由来する抵抗性選抜マーカーの開発

第9染色体上の抵抗性候補領域上にDNAマーカー「pa097150」を開発した（佐藤ら2022）。「きたひまり」を片親にもつ5組合わせ計60系統を用いたこのDNAマーカーの遺伝子型と表現型の一致率は96%で、多様な遺伝背景でも抵抗性型と感受性型を精度良く判別できた。さらに、「pa097150」の近傍に新規DNAマーカーを開発した。このDNAマーカーの精度を「きたひまり」と感受性の「十系1282号」の交雑後代F<sub>5</sub>世代を用いて検証した結果、新規マーカーが「pa097150」よりも精度良く抵抗性を選抜可能であることが示唆された（表1）。

イ) 「Acc1398」に由来する抵抗性選抜マーカーの開発

「Acc1398」と「きたろまん」の交雑後代のF<sub>5</sub>世代において、第8染色体上の抵抗性候補領域上に座乗するDNAマーカーについて、選抜の有効性を確認した（データ略）。

#### ②基幹品種への抵抗性導入

十勝農試において、「きたひまり」由来の抵抗性を茎疫病抵抗性DNAマーカーにより導入する反復戻し交配を反復親「エリモ167」、「きたろまん」で4回（BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>）、「しゅまり」で3回（BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>）実施した（表2）。

2) 道東・道央向けアズキ茎疫病抵抗性の系統選抜（上川農試、R2～R4）

上川農試での茎疫病圃場抵抗性検定試験では、F<sub>5</sub>世代880系統、F<sub>6</sub>世代系統検定163系統を供試した。特性検定では延べ59系統を供試し、うち35系統を圃場抵抗性“中”以上と評価した（表3）。

3) 道央地域で安定生産可能な小豆多収・長胚軸系統の選抜（中央農試、R2～R4）

中央農試において3年間で、系統選抜（F<sub>5</sub>世代）769系統、小生予（F<sub>6</sub>世代）164系統、系適（F<sub>7</sub>世代以降：十系系統）53系統を供試し、有望な2系統（十育183号、十育

184号)を選抜した(表3)。「十育183号」は茎疫病圃場抵抗性“中”で、茎疫病レース1、3、4抵抗性を有する。「とよみ大納言」対比の子実重は累年で123%であった。「十育184号」は茎疫病圃場抵抗性“弱～やや弱”であるが、茎疫病レース1、3、4抵抗性を有し、「とよみ大納言」対比の子実重は累年で111%であった(表4)。

#### 4) 道央地域向け中後期世代の加工適性による選抜(十勝農試、R2～R4)

中央農試産および十勝農試産の小豆を用いて製あん試験を実施した。十育系統のべ24系統、十系系統のべ83系統、F<sub>6</sub>世代小生予のべ55系統を供試し、あん粒子径や生あん色から加工適性を明らかにした(表3)。

表1. 「きたひまり」由来の抵抗性を選抜する第9染色体上の各マーカーの遺伝子型と圃場検定における平均発病度との関係

	pa097150	新規マーカー	平均発病度	不偏標準偏差	有意差
きたひまり(抵抗性)	A	A	47.9	3.6	.
十系1282(感受性)	B	B	91.7	14.4	(対照)
1810E-14	B	B	93.8	6.3	
1810E-18	B	B	76.3	12.1	
1810E-11	A	A	46.3	25.8	*
1810E-12	A	A	33.3	30.6	**
1810E-13	B	A	41.1	21.1	*

3反復、.P < 0.1, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001 vs 対照:「十系1282」(Dunnet test)

表2. 反復戻し交配の組み合わせおよび交配・採種状況

交配年度	反復親					
	エリモ167		きたろまん		しゅまり	
	世代	採種数	世代	採種数	世代	採種数
2020年度夏	F1	47	F1	19	-	-
2020年度冬	BC1F1	39	BC1F1	96	F1	30
2021年度冬	BC2F1	130	BC2F1	595	BC1F1	140
2022年度冬	BC3F1	採種中	BC3F1	採種中	BC2F1	採種中

表3. 課題期間中の試験供試系統数および選抜数

試験名	世代等	2020年		2021年		2022年	
		供試	選抜	供試	選抜	供試	選抜
交配および	反復戻し交配	F <sub>1</sub> : 3組合せ・96粒、 BC <sub>1</sub> : 3組合せ・152粒		BC <sub>1</sub> : 1組合せ・140粒、 BC <sub>2</sub> : 2組合せ・725粒		BC <sub>2</sub> : 1組合せ、 BC <sub>3</sub> : 2組合せ	
系統選抜 および 生産力検定 (中央農試)	系統選抜	F <sub>5</sub> 世代	262系統	53系統	260系統	46系統	247系統
	小規模生産力予備試験	F <sub>6</sub> 世代	50系統	13系統	61系統	12系統	53系統
	系統適応性検定試験	十系	19系統		17系統		17系統
	選抜有望系統		十育183号 十育184号				
茎疫病抵抗性 検定・選抜 (上川農試)	系統検定試験	F <sub>5</sub> 世代	380系統		279系統		221系統
		F <sub>6</sub> 世代	38系統		74系統		51系統
	特性検定試験	十系	8系統	8	11系統	6	28系統
		十育	3系統	1	5系統	1	4系統
加工適性検定 (十勝農試)	中央農試産	F <sub>6</sub> 世代	15系統		24系統		16系統
		十系	19系統		17系統		17系統
	十育	3系統		5系統		4系統	
	十勝農試産	十系	12系統		9系統		9系統
		十育	3系統		5系統		4系統

注) 反復戻し交配は交配の世代と獲得粒数を、茎疫病抵抗性の系統特性試験の選抜数は抵抗性“中”以上の評価の系統数を示す。

表 4. 試験期間中に選抜した有望系統の特性（中央農試成績）

系統名 または 品種名	試験 年次 (年)	茎疫病抵抗性			圃場		開 花 期 (月・日)	成 熟 期 (月・日)	倒 伏 程 度 (cm)	主 茎 長 (cm)	子 実 重 (kg)	標 準 比 (%)	百 粒 重 (g)	屑 粒 率 (%)	品 質 (検査 等級)	煮 熟 増 加 比	生あん色			あん 粒子 径 ( $\mu$ m)
		レース			発 病 度 平均	判 定											L*	a*	b*	
		1	3	4																
十育183号 (十系1311号)	2020				-	-	7.21	9.1	0.2	46	325	119	23.0	4.2	3下	2.91	37.15	10.16	8.20	137.9
	2021	R	R	R	41.1	中	7.29	10.6	0.0	48	390	123	26.1	11.3	2中	2.87	39.32	9.32	8.98	158.5
	2022				47.3	中	7.21	9.19	1.2	81	443	125	23.8	5.5	3中	2.76	38.95	9.44	6.55	149.5
	平均				-	-	7.24	9.19	0.5	58	386	123	24.3	7.0	3上	2.85	38.47	9.64	7.91	148.6
十育184号 (十系1348号)	2020				-	-	7.22	8.28	0.0	40	298	109	22.9	2.9	3上	2.79	35.44	10.38	9.06	143.3
	2021				62.3	やや弱	7.28	10.7	0.0	46	363	114	24.8	7.8	2下	2.84	40.53	10.55	11.41	146.6
	2022	R	R	R	85.6	弱	7.22	9.23	0.7	60	386	109	22.8	4.3	3中	2.78	39.66	10.19	8.72	163.4
	平均				-	-	7.24	9.19	0.2	49	349	111	23.5	5.0	3上	2.80	38.54	10.37	9.73	151.1
とよみ 大納言	2020				-	-	7.20	8.27	0.0	43	273	100	23.3	3.7	3中	2.81	36.33	11.13	10.47	144.6
	2021				-	-	7.27	10.5	0.3	49	318	100	26.3	14.1	3中	2.76	39.92	11.35	11.29	137.8
	2022	S	S	S	-	-	7.20	9.24	3.7	68	354	100	23.2	7.5	3下	2.65	39.18	10.67	10.00	147.4
	平均				-	-	7.22	9.18	1.3	53	315	100	24.3	8.4	3中	2.74	38.48	11.05	10.59	143.3

注1) 茎疫病抵抗性：Rは抵抗性、Sは感受性を示す。圃場は上川農試における圃場検定結果を示し、-は未供試を示す。

注2) 倒伏程度：観察により0(無)、0.5(微)、1(少)、2(中)、3(多)、4(甚)で評価。

注3) 標準品種比：「とよみ大納言」の子実重を100としたときの子実重対比。

注4) 品質：造りによる検査等級。1～3等（2～3等は上中下あり）、規格外の8段階。

注5) 煮熟増加比：原粒重に対する煮熟後の重量比。煮熟は98℃で前炊き50分後洪切りし、本炊き120分。製あん試験は十勝農試における結果。

注6) 生あん色：75%水分に調整した生あんをコニカミノルタ社製CM-5により測定。

注7) あん粒子径：島津社製レーザー回折式粒度分布測定装置SALD-200V ERによる平均粒子径。

#### (4) 今後の課題

本課題で選抜された育成系統については、引き続き品種化に向けた試験を継続する。有望系統は、道内農業試験場、優良品種決定現地試験や各種特性検定試験、実需者による加工適性評価試験などに供試し、北海道の優良品種化を目指す。

「きたひまり」由来の茎疫病抵抗性 DNA マーカーについてはさらなる高精度化を目指す。また、反復戻し交配を用いた基幹品種への抵抗性の導入を引き続き行い、有望系統を作出する。「Acc1398」由来の抵抗性は、第8染色体上の抵抗性領域だけでなく、その他の抵抗性領域の関与が示唆されており、今後は「きたひまり」由来の抵抗性の導入を積極的に進める。

#### (5) 成果の波及効果（生産段階の成果の利活用に言及して下さい。）

本課題で選抜された有望系統は、道央地域の気象条件下で、生産者の収益性向上と栽培の省力化に寄与する栽培特性、茎疫病抵抗性を有するとともに、加工適性に優れることが期待できる。本課題で選抜された有望系統が品種化され、道内に普及することで、小豆生産の安定化に寄与する。

#### (6) 論文、特許等

- ・堀川ら（2020）育種学研究 22（別1）208.
- ・佐藤ら（2022）育種学研究 24（別1）110.