

ダイズシストセンチュウ抵抗性 小豆品種の育成を目指した取り組み

(地独)北海道立総合研究機構十勝農業試験場
豆類畑作グループ研究主任 長澤秀高

1. 北海道産小豆とダイズシストセンチュウについて

北海道産小豆は国内生産量の94%を占め(農林水産統計、令和5年)、重要な輪作作物の一つです。北海道産小豆は実需者から品質を高く評価され需要が高い一方、気象や病害虫の影響を受け、生産年によって生産量が大きく増減するため安定供給が求められています。

ダイズシストセンチュウ(Soybean Cyst Nematode、以下、SCN)は小豆をはじめとする豆類の根に寄生し養分を吸収するため、密度が高くなると深刻な生育抑制と減収を招く北海道産豆類の安定栽培を脅かす植物寄生性線虫です。小豆において、SCNの卵・幼虫数が10~100個体/g乾土(中密度)の場合は20%以上減収、100個体/g乾土以上(高密度)の場合は50%以上減収すると推察されます(豆類時報No.58、東岱孝司、2010年3月)。このことから、SCNの減収被害低減のためにはSCN土壌中密度の低減が必要です。SCNは雌成虫が体外と体内に大量に産卵し、卵を内包した雌成虫が硬く環境変化に強いシスト(雌成虫)に変化します。非宿主作物を栽培することでSCN密度は低減できるため、SCN被害低減のために非宿主作物との輪作が有効ですが、シスト中であれば卵は10年以上生存可能なものもあると言われており、SCNの増殖率の高さから宿主作物を栽培しながらの根絶は難しいと考えられます。また、殺線虫剤(化学農薬)により一時的に減収被害を低減することは可能であるものの、全てのSCNを完全に駆除出来るわけではないため農薬による継続的な密度低減は困難です。

これらのことから、SCNによる減収被害を回避するためにはSCN抵抗性品種を栽培することが効果的です。大豆においてはSCN抵抗性品種の普及が進んでいるものの、小豆においてはSCN抵抗性品種が無く、生産現場からはSCN抵抗性品種が強く求められています。加えて、北海道ではSCNレース1および3による被害が報告されており、両レースに対する抵抗性が必要です。

2. 小豆 SCN 抵抗性遺伝資源の特徴と利用

北海道立総合研究機構（以下、道総研）では、これまで豆類振興事業において、小豆で初めて抵抗性遺伝資源である「Acc2766」および「Acc2195」を見出しました。両遺伝資源のSCN抵抗性は、SCNが根に侵入するものの、シストまで成長できないことが理由であることを明らかにしました。さらに、両遺伝資源ともSCNレース1および3に対して抵抗性であり、シスト着生が極めて少ないことを明らかにしました。加えて、両遺伝資源は土壌中のSCN密度を低減することがわかっています。大豆ではSCN発生ほ場において、繰返しSCN抵抗性品種を作付けすることにより抵抗性が打破されることがありますが、小豆の抵抗性遺伝資源は連作によっても抵抗性が打破されにくいと考えられます（豆類時報No.81、鴻坂扶美子、2015年12月）。

SCN抵抗性品種の早期開発のため、効率的な系統選抜が必要であり、そのためにSCN抵抗性判別DNAマーカーの開発は不可欠です。道総研では平成27年から豆類振興事業の助成を受け、DNAマーカーの開発を進めています。抵抗性遺伝資源「Acc2766」および「Acc2195」を交配利用し、DNAマーカーおよびSCN抵抗性検定から系統選抜を実施しており、ここでは豆類振興事業試験研究である“小豆におけるダイズシストセンチュウ抵抗性品種開発の高度化（平成30年度～令和2年度）”および“DNAマーカーによる小豆ダイズシストセンチュウ抵抗性系統の選抜強化（令和3年度～5年度）”2課題の成果を紹介します。

3. SCN 抵抗性判別 DNA マーカーの開発と有効性検証

SCN抵抗性に関与するQTL（量的形質遺伝子座）を探索し、DNAマーカーを開発するため、「しゅまり」×「Acc2766」のF₂を用いてGRAS-Di（Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct ランダムプライマーを用いてゲノムワイドに増幅された断片を次世代シーケンサーで解析し、ジェノタイピングする技術）によるジェノタイピングを行いました。その結果、第1、8、9染色体上に抵抗性に関与するQTLが検出されました（図1）。このQTLの有効性を検証するため、SCNレース3優占現地ほ場においてこれまで育成してきた中間母本、抵抗性系統を供試し、QTL近傍のDNAマーカーの遺伝子型を調査しました。その結果、抵抗性と判定された系統は第8、9染色体上のDNAマ-

カーが概ねA型（抵抗性型）でした。（表1）。このことはQTL解析に用いた「Acc2766」の後代のみではなく、「Acc2195」の後代においても同じことが言え、これらの結果から第8、9染色体上のQTLはSCNレース3抵抗性に寄与していると考えられました。

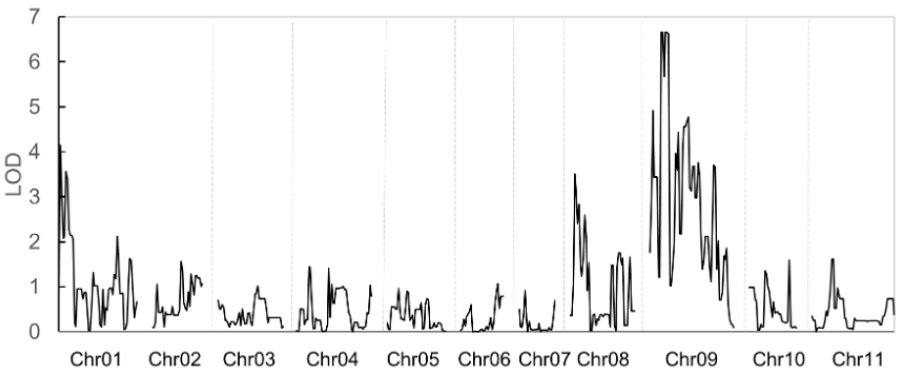


図1 小豆SCNのQTL解析結果

表1 QTL近傍マーカーの遺伝子型とSCNレース3抵抗性（2018ほ場検定結果）の関係

Chr01												Chr08												Chr09																					
交配番号		世代	抵抗性 由来	CEG149	CEG033	CEG271	V09G015800	V09G026800	V09G039500	V09G054400	CEG024	交配番号		世代	抵抗性 由来	CEG149	CEG033	CEG271	V09G015800	V09G026800	V09G039500	V09G054400	CEG024	交配番号		世代	抵抗性 由来	CEG149	CEG033	CEG271	V09G015800	V09G026800	V09G039500	V09G054400	CEG024										
Acc2766												A	A	A	A	A	A	A	A	R	1436												-	2	F ₅	B	-	A	B	B	B	B	B	B	S
しゅまり												B	B	B	B	B	B	B	B	S	-												3	F ₅	B	B	B	B	B	B	B	B	S		
1436												B	A	A	A	A	A	A	A	B	R	-												5	F ₅	Acc 2766	A	B	B	A	A	A	A	B	S
-												17	F ₅	A	A	A	A	A	A	B	R	-												7	F ₅		H	A	B	A	B	H	H	B	S
-												20	F ₅	A	H	A	A	A	A	B	R	-												8	F ₅		A	B	B	A	A	A	H	B	S
-												55	F ₅	B	B	A	A	A	A	B	R	-												9	F ₅		A	A	A	B	B	B	B	S	
-												56	F ₅	B	B	A	B	B	A	B	R	1532												-	1	F ₅	B	B	B	B	B	B	B	S	
1532												H	A	A	A	A	A	A	A	R	-												2	F ₅	A	A	A	B	B	B	B	S			
-												17	F ₅	A	A	H	A	A	A	A	R	-												7	F ₅	A	B	B	B	B	B	B	S		
1533												A	151 ¹⁾	B	A	A	A	A	A	R	1533												-	1	F ₅	A	B	B	B	B	B	B	S		
1530												21	F ₄	B	A	A	H	A	A	A	R	-												5	F ₄	A	151	B	A	B	B	B	S		
-												22	F ₄	B	A	A	A	A	A	A	R	1530												-	1	F ₄	Acc 2195	B	A	A	B	B	A	B	S
-												43	F ₄	B	B	H	H	A	A	A	R	-												20	F ₄	B		H	H	H	A	A	B	S	
-												98	F ₄	B	A	A	A	A	A	A	R	-												23	F ₄	B		B	B	B	B	B	B	S	

※結果の一部を抜粋。

1)数値は増殖された断片長を示す(bp)。

2)DNAマーカー検定により、Acc2766型(抵抗性)はA、しゅまり型(感受性)はBと表記。

-	24	F ₄	B	B	B	A	A	A	A	S
---	----	----------------	---	---	---	---	---	---	---	---

※結果の一部を抜粋。
1)数値は増幅された断片長を示す (bp)。
2)各DNAマーカー検定により、Acc2766型(抵抗性)はA、しゅまり型(感受性)はBと表記。

3)現地ほ場検定結果について、抵抗性はR、感受性はSと表記。

さらなるQTLの有効性検証のために、養成したマーカー精度向上のための材料のうち、第8、9染色体上のDNAマーカーがA型（抵抗性型）で固定していた7系統およびいずれか一方がB型（感受性型）で固定していた9系統の計16系統について、SCNレース3優占現地ほ場に供試しました。シスト寄生程度を指標として、第8、9染色体上のDNAマーカーがA型で固定していた系統は、レース3に対して抵抗性と判定され、いずれか一方がB型で固定していた系統は感受性と判定されました（表2）。

表2 QTL近傍マーカーの遺伝子型とSCNレース3抵抗性の関係(一部抜粋)

	Chr08				Chr09				ほ場検定結果
	V08G060800	V08G082500	CEDG271	CEDG035	V09G015800	V09G030400	V09G051700	CEDG024	
1531-191-71-10	B	A	A	A	分離	A	A	A	R
1531-121-45-1	A	A	A	B	B	A	A	A	R
1531-121-45-10	A	A	A	分離	B	A	A	A	R
1531-121-48-1	A	A	A	A	B	A	A	A	R
1531-121-65-1	A	A	A	A	B	A	A	A	R
1531-121-125-4	A	A	A	A	B	A	A	B	R
1531-121-45-2	B	B	B	B	B	A	A	A	S
1531-121-48-15	分離	B	B	B	B	A	A	A	S
1531-121-71-1	A	A	A	A	B	B	B	B	S
1531-121-87-1	B	B	B	B	B	A	A	A	S

1) A:Acc2195型、B:きたろまん型。

2) 1系統3個体供試し、検定結果が分かれたものは除いた。

3) 3個体でマーカー遺伝子型が分かれたものは「分離」と表記した。

SCNレース3 優占現地ほ場検定でSCNレース3抵抗性と判定された系統および抵抗性の由来 (Acc2586) が異なる系統「十交1331」について、セルトレイによるSCNレース1の接種検定を行いました。「Acc2195」および「Acc2766」由来の供試系統はSCN抵抗性 (Female index (供試材料各個体の雌成虫数/感受性対照の平均雌成虫数×100、以下、FI) が10未満) と判定され、第1、8、9染色体上のQTLはA型でした (表3)。一方、「十交1331」は抵抗性と判定するにはFI がやや大きい結果でした。このことから、第1染色体上のQTLのSCNレース1抵抗性への関与が示唆されました。

また、第1染色体上QTL保持系統と非保持系統についてSCNレース1の接種検定を行ったところ、非保持系統は明らかにFIが高く、保持系統は

表3 QTL近傍のマーカー遺伝子型とSCNレース1抵抗性の関係

No	交配 番号	世 代	抵抗性 由来	Chr.01				Chr.08				Chr.09				Female index ¹⁾						
				CED0133	CED0144	CED0148	CED0203	CED0271	CED0271	CED0271	CED0271	CED0271	CED0271	CED0271	CED0271	試験1	試験2					
16	1331-8	F8	Acc 2586	233 ²⁾	B	148	B	B	B	B	A	175	B	A	A	A	B	146	12	9		
19	1331-105	F8		233	B	148	A	B	B	B	B	A	175	B	A	A	A	B	146	16	13	
7	Acc2586			233	B	148	A	B	B	B	B	A	175	B	A	A	A	B	146	12	12	
22	1333-37	F7	Acc 2766	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	2	1	
25	1436-17	F6		A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	187	A	A	A	A	A	B	1	1
28	1436-20	F6		A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	187	A	A	A	A	A	B	1	2
29				A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	187	A	A	A	A	A	B		
10	Acc2766			A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	0	0
31	1532-17	F6	Acc 2195	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	150	0	0	
34	1533-21	F6		A	A	A	B	A	B	B	A	B	149	B	A	A	A	A	150	3	7	
37	1530-21	F5		A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	150	2	1	
40	1530-36	F5		A	A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	150	1	2	
43	1530-98	F5		A	A	A	H	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	150	0	0	
13	Acc2195		A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	150	4	3		
1	しゅまり		A	B	148	B	B	B	B	A	B	149	B	B	B	B	B	B	100	100		
																		(179.5)	(174.1)			

()内は「しゅまり」の平均雌性虫数。

1) 供試材料の平均雌性虫数÷「しゅまり」の平均雌性虫数×100。

2) 数値はDNAマーカーの増幅断片長を示す (bp)。

表4 SCNレース1抵抗性に及ぼす第1染色体上QTLの影響

交配 番号	世代	抵抗性 由来	Chr.01		Chr.08					Chr.09					Female			
			CEDG133	VIR10001300	CEDG003	VIR0008000	VIR0002500	CEDG271	CEDG033	CEDG035	VIR001800	VIR0003400	VIR000100	VIR002100	VIR000400	CEDG024	試験1	試験2
1529 -22	F5	Acc 2766	A	H	A	-	A	A	A	B	A	A	A	A	-	B	0	0.1
1529 -81	F5		A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	5	3
1529 -168	F5		A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	1	2
1529 -30	F5		B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	48	37
1529 -89	F5		B	B	B	A	A	A	A	-	A	A	A	A	A	B	33	25
1529 -104	F5		B	B	B	H	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	42	38
Acc2766			A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	0.2	0.5
1531 -4	F5	Acc 2195	A	A	A	A	A	-	-	A	A	A	A	A	A	A	0	0.1
1531 -102	F5		A	A	A	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	1	1
1531 -163	F5		B	B	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	25	36
Acc2195			A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	A	A	150	5	3
しゅまり			B	B	B	B	B	B	149	B	B	B	B	B	B	B	100	100
																	(204.8)	(280.6)

()内は「しゅまり」の平均雌性虫数。

1)供試材料の平均雌性虫数÷「しゅまり」の平均雌性虫数×100。

2)数値はDNAマーカーの増幅断片長を示す(bp)。

「Acc2766」「Acc2195」並に低いFIでした（表4）。このことから、SCNレース1に抵抗性を示すためには、第1染色体上のQTLを保持することが必要と考えられました。

さらにSCN抵抗性判別DNAマーカーの高精度化を図るため、「エリモショウズ」または「きたろまん」と「Acc2766」を交配したF₂世代以降について、SCNレース3優占現地ほ場検定およびレース1接種の室内検定により抵抗性を調査しました。その結果から「Acc2766」由来のSCN抵抗性QTLの座乗領域を絞り込み、令和5年度までに抵抗性を選抜可能なDNAマーカーを開発しました（図2）。

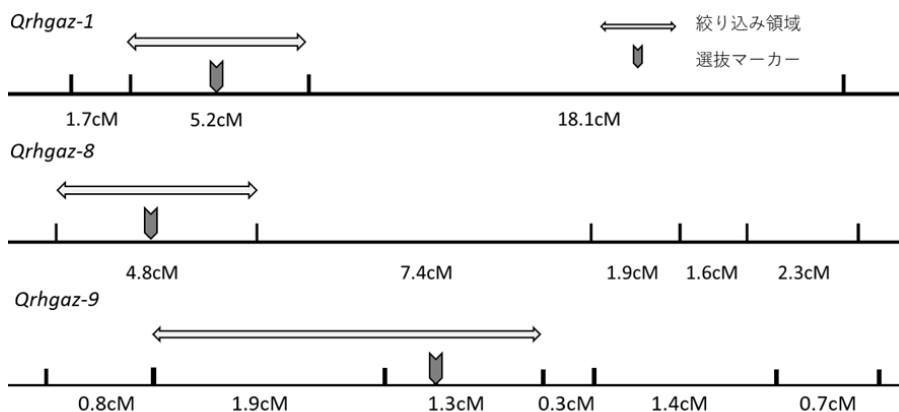


図2 抵抗性QTLの座乗領域および開発した選抜DNAマーカー

4. 北海道の基幹品種へのSCN抵抗性導入を目指した反復戻し交配

より円滑なSCN抵抗性小豆品種の普及のために令和元年より豆類振興事業の助成を受け、北海道の基幹品種へSCN抵抗性導入を目標として、開発したDNAマーカーを活用した反復戻し交配系統の作出を実施しました。反復親として北海道の基幹品種「エリモ167」、「きたろまん」および「エリモショウズ」の3品種、1回親としてSCN抵抗性遺伝資源「Acc2766」および「Acc2195」の2遺伝資源を利用し、合計6組合せの反復戻し交配を実施しました（表5）。交配の度に、開発したSCN抵抗性判別DNAマーカーにより抵抗性QTL3座が全て抵抗性型と感受性型のヘテロであることを確認し、交配親を選抜しました。令和5年度までに6回の反復戻し交配を実施し、反復戻し交配を3回以上実施したそれぞれの組合せについて、遺伝子型の固定および農業形質の評価を進めており、反復親「エリモ167」と1回親「Acc2766」のBC₃F₃世代（十交2041）においてSCN抵抗性QTLが3座全て抵抗性型で「エリモ167」と類似した草型を持つ系統が得られています（表6）。

表5 反復戻し交配の世代別獲得粒数と内QTL 3座全てヘテロであった個体数

反復親 (母)	一回親 (父)	F ₁		BC ₁		BC ₂		BC ₃		BC ₄		BC ₅		BC ₆
		獲得 粒数	獲得 粒数	内 ヘテロ	獲得 粒数	内 ヘテロ	獲得 粒数	内 ヘテロ	獲得 粒数	内 ヘテロ	獲得 粒数	内 ヘテロ	獲得 粒数	
きたろまん	Acc2195	144	194	3	16	2	16	2	159	7	160	7	116	
	Acc2766	155	130	5	98	4	122	4	362	21	335	8	292	
エリモ167	Acc2195	87	129	1	39	0	—	—	—	—	—	—	—	
	Acc2766	146	139	5	72	1	206	10	273	19	232	11	—	
エリモショウズ	Acc2195	80	133	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Acc2766	97	110	4	85	4	173	7	475	39	27	2	19	
合計		709	835	18	310	11	517	23	1269	86	754	28	427	

1)各戻し交配世代のF₁を花粉親としたが、「エリモ167」×「Acc2766」はBC₅交配時に親(BC₄F₁)の花数が確保できず、交配できなかった。このため、BC₄F₂を交配親として、交配を実施した。

2)内ヘテロ：獲得粒の全てまたは一部を播種し、健全個体をDNAマーカー検定。抵抗性QTL3座全てがヘテロであった個体数を示す。BC₁およびBC₅の反復親「きたろまん」は獲得粒の一部(64～107粒)の結果。

表6 「十交2041」の表現型(BC₃F₃世代、令和5年)

品種名 または マーカー型	開花 期 (月・日)	成熟 期 (月・日)	主茎長 (cm)	倒伏 程度	葉落 良否	子実 重 (kg/10a)	百粒 重 (g)	品種名 または マーカー型	開花 期 (月・日)	成熟 期 (月・日)	主茎長 (cm)	倒伏 程度	葉落 良否	子実 重 (kg/10a)	百粒 重 (g)		
エリモ167	7.16	9.3	78	1	3	252	11.7	ABB	7.18	9.13	90	2	4	268	11.4		
	7.16	9.1	82	2	4	230	11.1		7.28	9.13	87	2	4	304	11.4		
	7.17	9.4	80	1	4	235	11.4		7.29	9.16	92	2	4	280	12.3		
	7.18	9.4	82	3	4	265	10.7		8.1	9.19	86	2	4	310	11.5		
	7.16	9.3	85	2	4	223	9.2		8.4	9.20	109	2	4	356	12.1		
	7.24	9.15	104	2	4	351	11.1		7.21	9.8	94	2	4	320	10.4		
	7.26	9.15	98	2	4	262	10.7		7.29	9.11	92	2	4	365	10.6		
	7.27	9.8	96	3	4	312	9.1		8.3	9.20	93	2	4	216	11.4		
	7.27	9.21	113	2	4	282	11.1		8.6	9.30	93	3	4	95	11.6		
	8.8	9.30	121	3	4	274	9.9		7.18	9.1	82	1	4	318	11.1		
AAA	8.10	未達	114	3	4	523	10.7	7.19	9.3	79	2	4	281	11.3			
	8.13	未達	102	3	4	328	11.4	7.17	9.3	83	2	4	304	11.9			
									BBB	8.4	9.19	95	2	4	316	10.9	
										8.9	10.1	112	3	4	250	13.9	
1)マーカー型はSCN抵抗性DNAマーカーについて、Aが抵抗性型、Bが感受性型を示し、左からChr1、Chr8、Chr9に座するSCN抵抗性QTLのDNAマーカー型を																	

5. 畑輪作におけるSCN抵抗性小豆の導入効果検証

SCN抵抗性小豆品種が育成される際に円滑な普及をする上で、実際にSCN抵抗性小豆品種を畑輪作に導入した際の土壌中SCN密度低減効果や輪作後の小豆収量に及ぼす影響の検証が必要です。このため、SCNが高密度（平均106卵/g乾土）に存在する梓ほ場において、平成29年にSCN感受性「きたろまん」およびSCN抵抗性「十系1219号」を栽培した結果、後作のばれいしょ植付け時のSCN密度は平成29年に感受性小豆を栽培した跡で平均476卵/g乾土であったのに対し、抵抗性跡では71卵でした。3作後の、てん菜定植時に抵抗性跡では平均11卵まで減少しました。SCN感受性小豆「きたひまり」播種時の密度は、感受性跡で平均31卵、抵抗性跡で平均11卵となり、有意差が認められました（ $p<0.05$ 、片側t検定）（図3）。「きたひまり」の子実重は感受性跡よりも抵抗性跡で重い傾向がありました（図4）。以上から、畑輪作にSCN抵抗性小豆を導入することで、SCN密度の低下が認められ、SCN被害による減収を軽減できることから、抵抗性小豆を輪作に導入する利点は大きいと考えられました。しかし、1事例であることから引き続き検証をしています。

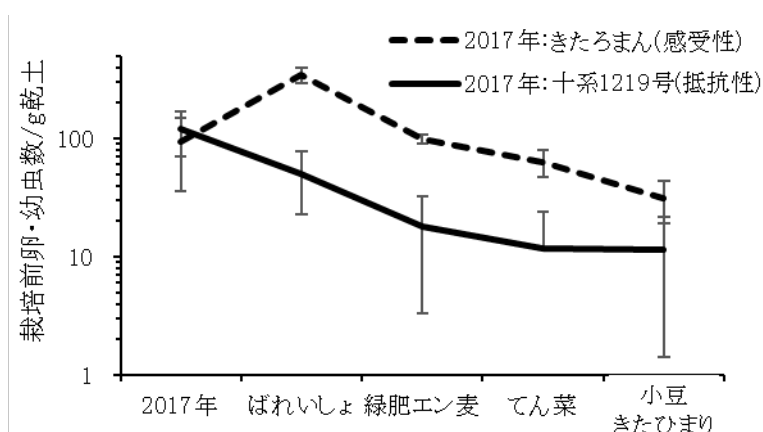


図3 SCN抵抗性小豆を導入した輪作中における土壌中SCN密度の推移
(梓ほ場、2017～2021年播種時)

バーは標準偏差。n=3。

H29年SCN抵抗性小豆「十系1219号」、感受性小豆「きたろまん」、H30年ばれいしょ、R1年緑肥エン麦、R2年てん菜、R3年感受性小豆「きたひまり」。

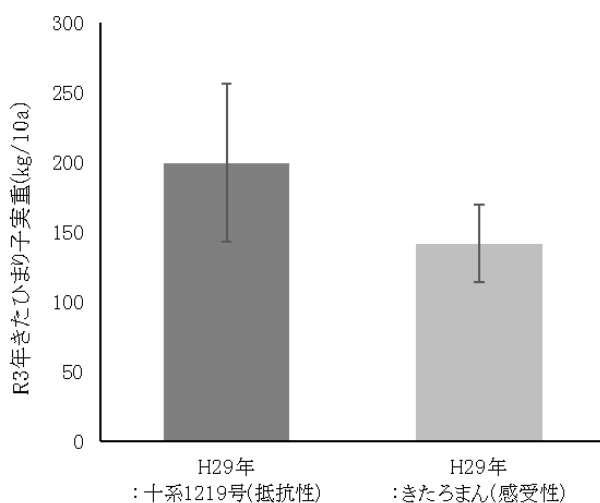


図4 輪作後のSCN感受性小豆の収量(R3年に「きたひまり」を栽培)

6. 小豆SCN抵抗性品種育成の今後の課題

これまで小豆SCN抵抗性品種育成にむけて道総研が取り組んできた課題において、実用的なSCN抵抗性判別DNAマーカーを開発し、このDNAマーカーにより反復戻し交配系統を選抜しています。合わせてSCNレース3優占現地ほ場検定およびレース1接種室内検定において、選抜系統のSCN抵抗性を確認しています。有望系統の育成は進んでいるものの、農業形質の評価は不十分です。また、SCN抵抗性QTLと極晩生や小粒等の不良農業形質QTLが連鎖しているのか、していないのかは判然としておらず、仮に連鎖している場合はDNAマーカーにより連鎖を切らなければなりません。加えて、SCN抵抗性小豆の畑輪作導入効果検証は1事例のみのため、複数事例で検証が必要です。

これらの課題を解決するために、引き続き豆類振興事業の助成を受け、育成した反復戻し交配系統の遺伝子型固定および農業形質評価、SCN抵抗性QTLと不良農業形質QTLとの連鎖関係の有無の解析、SCN抵抗性小豆の畑輪作導入効果検証を進めております。SCN抵抗性小豆品種が育成された際には北海道の小豆生産の安定化に寄与できると期待されます。