

平成 25 年度豆類振興事業助成金（試験研究）の成果概要

- 1 課題名 DNA マーカー選抜による小豆の土壤病害複合抵抗性系統の選抜強化
- 2 研究実施者
研究代表者 (地独) 北海道立総合研究機構 農業研究本部 十勝農業試験場
研究部 豆類グループ 研究主任 田澤 暁子
分担 同上 上川農業試験場 研究部 地域技術グループ、
中央農試・作物開発部 生物学グループ
北海道大学大学院農学研究院 作物生産生物学分野
- 3 実施期間 平成 23 年度～25 年度（3 年のうち 3 年目）
- 4 試験研究の成果概要
 - (1) 試験研究の目的
小豆の安定生産に必須の重要土壤病害抵抗性を持った小豆新品種の開発を効率化するため、開発済みのアズキ落葉病抵抗性 DNA マーカーを利用した系統の選抜に加え、アズキ萎凋病抵抗性の新たな DNA マーカー開発を行う。さらにアズキ茎疫病菌圃場抵抗性について、DNA マーカー開発のため遺伝様式と機作を明らかにする。
 - (2) 実施計画、手法
 - 1) DNA マーカーによる落葉病抵抗性系統の選抜（十勝農試、中央農試）
中期世代系統において、落葉病レース 1, 3 抵抗性遺伝子 *Pga1* と同レース 1, 2 抵抗性遺伝子 *Pga2* のマーカー検定を行う。また、有望育成系統について *Pga1* 遺伝子型を調査する。
 - 2) 新たな萎凋病抵抗性 DNA マーカーの開発（中央農試、十勝農試）
「斑小粒系-1」（感受性）×「Acc259」（抵抗性）の後代（F2, F3）を材料に、萎凋病抵抗性の DNA マーカー開発と有効性確認を行う。
 - 3) 茎疫病菌圃場抵抗性の遺伝解析と機作解明（上川農試、北海道大学、十勝農試）
圃場抵抗性遺伝資源「Acc1398」由来の圃場抵抗性を持つ交配後代（十交 1040：きたのおとめ/十系 1077 号）を用いて茎疫病菌圃場抵抗性検定を行い、遺伝様式を解明する。また、北大において「Acc1398」由来の解析材料（十交 0432(エリシヨウズ) /Acc1398) F8 世代）を用いて茎疫病菌接種による kievitone の産生量と PAL 遺伝子転写量等の解析を行い、激発圃場での発病程度との比較から圃場抵抗性の機作を解明する。
 - (3) 今年度の実施状況
 - (1) F4 世代 25 組合せ 1,640 系統について、*Pga1*、*Pga2* のマーカー選抜を行った。また、有望育成系統「十育 160 号」「十育 161 号」「十育 162 号」「十育 163 号」「十育 164 号」「十育 165 号」について、夏季圃場から葉をサンプリングし、*Pga1* を保持していることを確認した。
 - (2) F2 および F3 世代を解析材料として遺伝解析を行い、萎凋病抵抗性が優性の単一遺伝子支配であることを推定し、萎凋病抵抗性と連鎖した共優性マーカーを開発した。育成系統、遺伝資源を用いて開発したマーカー遺伝子型と幼苗接種による表現型を比較したところ（表 1）、

「Acc259」を母本とする系統では一致したが、「Acc812」を母本とする系統では一致しない場合があり、さらなる高精度化が必要であった。

(3) 茎疫病圃場抵抗性の遺伝解析では、F3、F4 世代の圃場評価結果から、抵抗性の遺伝子は複数あることが推定された (図 1)。2 つの同義遺伝子支配と仮定した場合の分離比と比較すると、“弱”とされた発病程度が高い系統の頻度が高く、湿害により発生した枯死が茎疫病による枯死と区別できなかつたことによると考えられた。

(4) kievitone の蓄積量は圃場抵抗性との相関は明確でなかつた。Kievitone の分析は非常に煩雑なため、豆類の病害抵抗性反応に関連することが知られている PAL、C4H、IFS 遺伝子についてリアルタイム PCR により茎疫病接種後の RNA 転写量を調査した。抵抗性遺伝資源「Acc1398」と一部の圃場抵抗性系統では、接種 24 時間後の遺伝子転写量が多かつたが、圃場抵抗性との相関は不明瞭だった。

PAL:phenylalanine ammonia lyase

C4H: trans cinnamate-4-monooxygenase

IFS: isoflavone synthase いずれも Kievitone 生合成経路に関与する酵素

表 1. 開発した萎凋病抵抗性 DNA マーカーの有効性 (中央農試)

品種系統名	落葉病抵抗性 母本	gene	指数 ^{注1)}		開発したDNAマーカーの 遺伝子型 ^{注2)}
十系1065号			0.70	R	Acc259型
十系1066号			3.00	S	斑小粒系1型
十系1067号			3.00	S	斑小粒系1型
十系1071号			0.13	R	Acc259型
十系1072号	Acc259	<i>Pga2</i>	2.60	S	斑小粒系1型
十系1004号			1.10	S	斑小粒系1型
十系1054号			2.60	S	斑小粒系1型
十系1046号			1.60	S	斑小粒系1型
十系927号			1.80	S	斑小粒系1型
十系26号	■		0.87	R	斑小粒系1型
十系1127号	■	Acc812	0.53	R	斑小粒系1型
十系972号		<i>Pga2</i>	1.60	S	斑小粒系1型
十系974号	■		0.20	R	斑小粒系1型
Acc259	-		0.00	R	Acc259型
Acc812	-	<i>Pga2</i>	0.00	R	Acc259型
赤豆	-		0.00	R	Acc259型
とよみ大納言	■		0.00	R	Acc259型
きたあすか	■	<i>Pga1</i>	0.00	R	Acc259型
しゅまり	-		0.00	R	斑小粒系1型
エリモショウズ			2.80	S	斑小粒系1型
斑小粒系1			3.00	S	斑小粒系1型

注1) 各系統15個体 (5個体×3ポット) 供試、指数0 (健全) ~ 3 (枯死)、R (抵抗性) : 指数平均<1、S (感受性) : 指数平均≥1
注2) マーカーの遺伝子型はAcc259型が抵抗性、斑小粒系1型が感受性

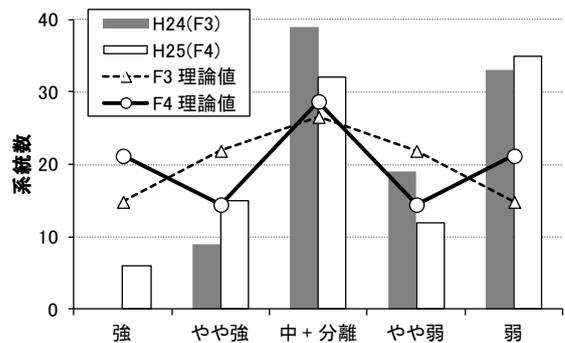


図 1. 十交 1040 の F3、F4 世代における評価別系統数と理論値の比較 (上川農試)

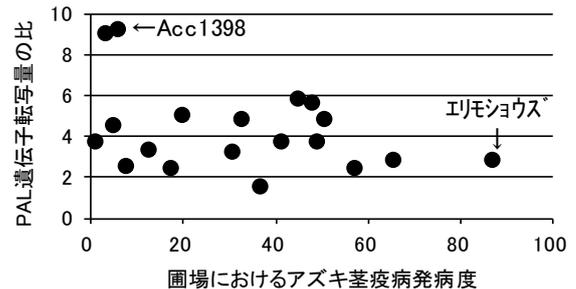


図 2. 「Acc1398」後代の PAL 遺伝子転写量の無接種比と圃場発病度の関係 (北大)

(4) 今後の課題及び対応

新規課題「アズキ茎疫病圃場抵抗性のマーカー開発と DNA マーカー選抜による小豆重要土壌病害抵抗性選抜の効率化」において、萎凋病抵抗性マーカーの改良と実用化、落葉病抵抗性のマーカー選抜、茎疫病圃場抵抗性のマーカー開発を行う。