

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 大納言小豆におけるインゲンマメモザイクウイルス病抵抗性 DNA マーカーの開発とその利用
- 2 研究実施者
研究代表者 京都府農林水産技術センター 生物資源研究センター 応用研究部
副主査 静川幸明
分担 国立大学法人千葉大学 園芸学研究科 准教授 佐々英徳
- 3 実施期間 平成25年度から27年度（3年のうち1年目）

4 試験研究の成果の概要

（1）試験研究の目的

インゲンマメモザイクウイルス（以下 BCMV）は東北以南で栽培される小豆で発生が認められ、BCMV 感染により罹病性品種では株の生育抑制や着莢数、収量の低下を引き起こすことが確認されている。このため、BCMV 抵抗性系統選抜効率化による育種年限の短縮を図るため、本遺伝子に連鎖した DNA マーカーを開発し、作出マーカーの有効性を実証する。また、現地圃場で発生している BCMV には病徴の異なるウイルス株が観察されることから、BCMV を分類することで、BCMV 抵抗性育種の効率化をはかる。

（2）実験計画、手法

①大納言小豆近交系統の BCMV 抵抗性検定及び DNA マーカーの開発（京都農技セ、千葉大）

BCMV 抵抗性品種と罹病性の遺伝資源系統を交配して作出した自殖 F₄ 集団の 100 個体（系統）を検定材料として供試した。BCMV を汁液接種後、3 週間目に DAS-ELISA 分析を行い、抵抗性または罹病性の調査を行った。抵抗性個体と罹病性個体から DNA を抽出し、PCR を行った。PCR 産物について、BCMV 抵抗性と連鎖するマーカーの解析を行った。

②現地ほ場で発生している BCMV 採取株についての発生分布調査（京都農技セ）

ア) 京都府内で栽培されている大納言小豆のうち、BCMV の病徴が観察された株から葉を採取した（図 1、表 1 の T1~4、N1~7 株）。過去に採取した BCMV 株（表 1 の標準株：典型的な病徴を示す）とあわせて、BCMV 罹病性の「京都大納言」と抵抗性の「新京都大納言」に汁液接種を行った。接種後 3 週間目に、病徴観察と DAS-ELISA 分析による感染の有無を確認した。



図1 京都府内で栽培されていた大納言小豆に見られる BCMV の病徴

イ) 病原性や感染性の強弱に関連があると報告されている BCMV 各分離株の HcPro 領域配列について解析を行うため、各分離株の葉から RNA を抽出した。HcPro 領域を増幅するプライ

マーを用いて RT-PCR を行った後、シーケンサーで HcPro 塩基配列を確定すると共に、分子系統樹を作成し、分離株の比較を行った。

(3) 今年度の実施状況

①アズキの 11 連鎖群それぞれに対応する 29 種の SSR マーカーについて多型を調査した結果、8 連鎖群 10 マーカーで多型を得たが、これまでに BCMV 抵抗性と連鎖している SSR マーカーは確認できていない。このため、残り 3 連鎖群を集中的に解析すると共に、シーケンサーを利用することで両親間の数塩基差の多型が確認できるマーカーを用いて解析をすすめる予定である。

②-ア) 異なる地域で採取した BCMV 12 分離株について接種検定を行った結果、各地域において抵抗性品種として育成した「新京都大納言」にも明らかに感染する分離株が確認された(表 1)。このため、「新京都大納言」に感染しないタイプ (A タイプと表記) と「新京都大納言」にも感染するタイプ (B タイプと表記) に分類した。A タイプ BCMV は、病徴として葉脈緑帯のみが観察されたが、B タイプ BCMV では、「新京都大納言」にも葉脈緑帯と葉の周縁部が巻くなどの奇形が観察された(図 2)。

②-イ) BCMV の HcPro 領域塩基配列を解析した結果からも、京都府で発生している BCMV は 2 つの集団を形成することが明らかとなった(データ省略)。以上から、既存 2 品種を検定材料に使用することで BCMV の病原性の評価を行うことが可能となった。

表 1 「京都大納言」及び「新京都大納言」に対する京都府内小豆産地で採種した BCMV の感染率

採取地	BCMV 採取株名	採取年	京都大納言		新京都大納言	
			感染株数 / 接種株数	感染率 (%)	感染株数 / 接種株数	感染率 (%)
中丹地域	標準株	—	10/10	100	0/10	0.0
	T1	—	12/12	100	1/12	8.3
	T2	2011	10/10	100	0/10	0.0
	T3	2011	10/10	100	10/10	100
	T4	2011	10/10	100	6/10	60
南丹地域	N1	—	12/12	100	0/12	0.0
	N2	—	12/12	100	12/12	100
	N3	2012	10/10	100	9/10	90
	N4	2012	10/10	100	0/10	0.0
	N5	2012	10/10	100	0/10	0.0
	N6	2012	10/10	100	0/10	0.0
	N7	2012	9/10	90	0/10	0.0

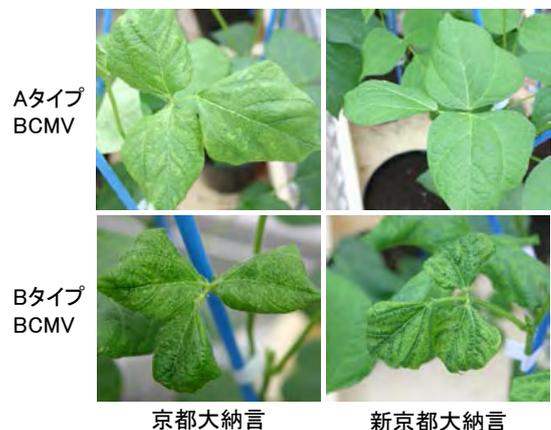


図 2 京都府内大納言小豆産地で採取した BCMV を接種し、上位葉で観察された病徴

(4) 今後の課題および対応

BCMV 抵抗性マーカー開発については、F6 世代以降を供試して抵抗性検定、マーカー解析を行う。得られた結果については、現在選抜中の新京都大納言交配後代系統に適用し、有効性を検証する。また、京都府内外の小豆栽培圃場で発生している BCMV 株の採取と評価を継続し、BCMV 抵抗性品種育成のための基礎資料とする。