

令和 2 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 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

2 研究実施者

研究代表者 北海道立総合研究機構 十勝農業試験場 研究部

豆類畑作グループ 研究職員 長澤 秀高

分担 北海道立総合研究機構 中央農業試験場 作物開発部

生物学グループ 主査（生物学） 相馬 ちひろ

北海道立総合研究機構 十勝農業試験場 研究部

生産技術グループ 研究主任 東岱 孝司



3 実施期間 平成 30 年度～令和 2 年度（3 年間）

4 試験研究の成果概要

(1) 試験研究の目的

豆類の安定栽培を脅かす重要土壌病害虫の一つであるダイズシストセンチュウ（以下、SCN と記載）に抵抗性を有する品種開発に向けて、選抜の継続や DNA マーカー選抜技術の導入効果の検証、および SCN 抵抗性育種素材抵抗性評価を行い、SCN 抵抗性小豆品種開発の高度化を図る。

(2) 実施計画、手法

1) 小豆 SCN 抵抗性の選抜強化（十勝農試豆類畑作 G、中央農試生物学 G）

ねらい：これまで育成してきた中間母本、抵抗性育成系統を用いた組合せから農業特性や品質の優れる品種育成のための選抜、検定を行う。

①初期集団の養成と選抜

供試材料：人工交配 4～5 組合せ/年、 F_2 ～ F_5 世代各 3～5 組合せ/年。

試験内容：人工交配 30 花/組合せ、集団選抜（ F_2 ～ F_3 ）1200～2000 個体/組合せ、個体選抜（ F_3 ～ F_4 、 F_4 ～ F_5 ）20～90 個体/組合せ。

②中期・後期世代系統の選抜

供試材料： F_4 ～ F_8 世代系統

試験内容：DNA マーカー選抜（ F_4 ・ F_5 ）、SCN 抵抗性系統ほ場選抜・検定。

③既存品種への SCN 抵抗性導入を目指した反復戻し交配

供試材料：反復戻し交配 6 組合せ（反復親：「きたろまん」・「エリモ 167」・「エリモショウズ」、1 回親「Acc2766」・「Acc2195」）

試験内容：令和元年度から DNA マーカー開発の進捗に伴い、これまでの単交配による系統育成を中止し、現行品種に SCN 抵抗性遺伝資源の SCN 抵抗性導入を目的として、反復戻し交配及びマーカー精度向上のための組換え個体養成を実施する。

2) SCN 抵抗性 DNA マーカーの有効性検証 (中央農試生物工学G)

ねらい：開発中の SCN 抵抗性 DNA マーカーの選抜効果を確認し、SCN 抵抗性品種育成のための選抜技術として育種に導入した効果を検証する。

①SCN 抵抗性 QTL の有効性検証

1) で行った圃場検定の結果をもとに、QTL の保持非保持と SCN 抵抗性との関係を明らかにする。

②DNA マーカーの高精度化

供試材料：1) で養成した組換え個体

試験内容：QTL 近傍の DNA マーカーの遺伝子型を調査する。遺伝子型が固定している個体については世代を進めて SCN 抵抗性検定を行い、DNA マーカーの絞り込みを行う。

③反復戻し交配による抵抗性の導入

供試材料：1) で養成した反復戻し交配において得られた個体

試験内容：QTL 近傍の DNA マーカー遺伝子型を確認する。

3) 育種素材の SCN 抵抗性評価 (十勝農試生産技術G)

ねらい：線虫接種検定により、高度な SCN 抵抗性系統の育成を実現し、SCN 抵抗性の有望度を評価する。

①中期及び後期世代における SCN 抵抗性評価

供試材料：F₆ 世代以降系統、道内で代表的な SCN 個体群

試験内容：SCN 個体群をそれぞれ小豆に接種し、FI※により抵抗性であるかどうかを評価する。

※Female Index (FI)：線虫の抵抗性検定における抵抗性の程度の指標で感受性対照との相対値。次式により求める。FI が 10 未満の場合“抵抗性”であるとした。

FI = 当該材料における平均雌成虫数 / 感受性対照における平均雌成虫数 × 100

(3) 成果の概要

1) 小豆 SCN 抵抗性の選抜強化

①初期集団の養成と選抜

平成 30 年度に、人工交配 5 組合せについて、各 30 花実施した。F₃ 世代集団選抜 4 組合せについては、各 1200~1800 個体実施した。

②中期世代系統の選抜

平成 30 年度に、播種前に F₄~F₅ 世代 235 系統について、第 9 染色体上に座乗する DNA マーカー (Vi09G0158, 0269, 0395, 0544) を用いて選抜を行い、DNA マーカーすべてが抵抗性型の 58 系統を選抜した。SCN 現地検定ほ場に選抜した 58 系統を供試したところ、“強”と判定されたのが 26 系統であり、第 9 染色体上以外にも SCN 抵抗性に関する QTL が存在することが示唆された (表 1)。また、同現地ほ場に、F₄~F₅ 世代 194

系統、F₆ 世代 19 系統および十系 3 系統を供試しシスト着生数の少ない系統を選抜した。F₆ 世代以降系統については十勝農試場内ほ場において生産力試験を実施し、収量性、加工適性等を確認した。

令和元年以降は、DNA マーカーの高精度化のための組換え系統を SCN 現地検定ほ場に供試し、抵抗性を判定した。

表 1 中期世代系統の SCN 発生ほ場検定成績

交配番号	組合せ		世代	供試系統数	判定			
	母	父			弱	中	強	分離
十交1436	十育163号	0831-52-2-2	F ₅	46	36	1	6	3
十交1532	十育167号	十交1450F1	F ₅	16	13	0	2	1
十交1533	十育165号	十交1450F1	F ₅	38	36	0	1	1
十交1530	十育167号	十交1041(F5)	F ₄	94	61	3	22	8
計				194	146	4	31	13

注1)十交0831：きたろまん×Acc2766

注2)十交1450：十交1041F3×十育167号

注3)十交1041：きたろまん×Acc2195

令和元年に夏季温室にて「きたろまん」等を反復親とし、SCN 抵抗性の遺伝資源である「Acc2766」と「Acc2195」をそれぞれ1回親とした6組合せの交配を実施した。得られた種子の一部を12月中旬に温室に播種し、個体毎に第1, 8, 9染色体QTL近傍のDNAマーカーの遺伝子型をヘテロで持つことを確認し、1月下旬以降1回目の戻し交配を実施し、交配種子を835粒得た。その後、同様の方法で令和2年度に2～3回目の戻し交配を実施し、それぞれ合計310粒、250粒交配種子を得た(表2)。また、マーカー精度向上のための材料を養成した。

表 2 既存品種への SCN 抵抗性導入を目指した反復戻し交配の獲得整粒数

反復親 (母)	一回親 (父)	獲得整粒数			
		F1	BC1	BC2	BC3
きたろまん	Acc2195	144	194	16	4
きたろまん	Acc2766	155	130	98	74
エリモ167	Acc2195	87	129	39	0
エリモ167	Acc2766	146	139	72	78
エリモショウズ	Acc2195	80	133	0	0
エリモショウズ	Acc2766	97	110	85	94
合計		709	835	310	250

注) F1・BC1はR1年度、BC2・BC3はR2年度に実施。

2) SCN 抵抗性 DNA マーカーの有効性検証

①SCN 抵抗性 QTL の有効性検証

GRAS-Di によるジェノタイピングおよび QTL 解析を行ったところ、既知の第 9 染色体上以外に第 1、8 染色体上に抵抗性に関与する QTL が検出された (図 1)。この QTL の有効性を検証するため、SCN 発生現地ほ場 (SCN レース 3 が優占) に供試した系統について、QTL 近傍の DNA マーカーの遺伝子型を調査した。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 マーカーが概ね A 型 (Acc2766 型) であった。(表 3)。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た。

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組換え個体のうち、第 8、9 染色体上の DNA マーカーが A 型 (Acc2195 型) で固定している 7 系統及びいずれか一方が B 型 (きたろまん型) で固定していた 9 系統の計 16 系統について、SCN 発生現地ほ場 (レース 3 が優占) に供試した。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 型で固定している系統は、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た (表 4)。

これまでの試験結果より、レース 3 抵抗性を示すためには第 8、9 染色体上の QTL が必要であることが明らかとなった。また、一部のマーカー (Vi09G015800 など) が座乗する領域は抵抗性に寄与していないと考えられ、一部 QTL が座乗する領域の絞り込みができた。

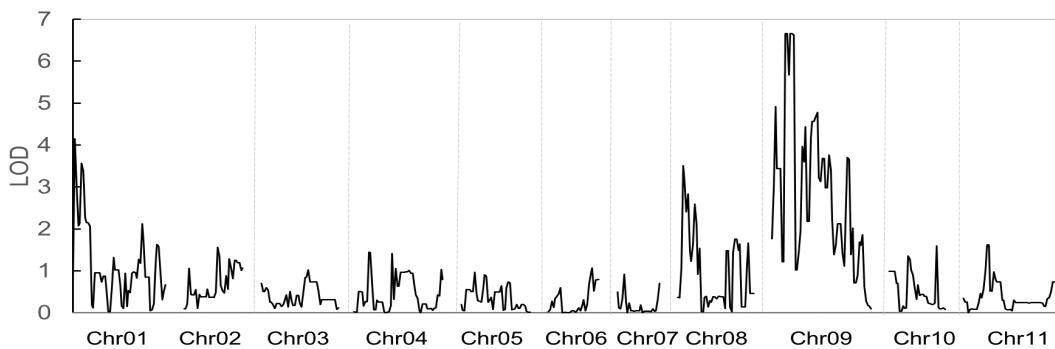


図 1 小豆 SCN の QTL 解析結果

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

交配番号	世代 (2018)	抵抗性 由来	Chr01		Chr08			Chr09					現地圃場 検定結果 (2018)
			Marker1	Marker2	Marker3	Marker4	Marker5	Marker6	Marker7	Marker8			
Acc2766			A	A	A	A	A	A	A	A	A	R	
しゅまり			B	B	B	B	B	B	B	B	B	S	
1436 - 1	F ₅	Acc 2766	B	A	A	A	A	A	A	B	R		
- 17	F ₅		A	A	A	A	A	A	B	R			
- 20	F ₅		A	H	A	A	A	A	B	R			
- 55	F ₅		B	A	A	A	A	A	B	R			
- 56	F ₅		B	B	A	B	A	A	B	R			
1532 - 10	F ₅		H	A	A	A	A	A	A	R			
- 17	F ₅	A	A	H	A	A	A	A	R				
1533 - 21	F ₅	Acc 2195	A	151 ^H	B	A	A	A	A	R			
1530 - 21	F ₄		B	A	A	H	A	A	A	R			
- 22	F ₄		B	A	A	A	A	A	A	R			
- 43	F ₄		B	B	H	H	A	A	A	R			
- 98	F ₄		B	A	A	A	A	A	A	R			
1436 - 2	F ₅		Acc 2766	B	-	A	B	B	B	B	S		
- 3	F ₅	A		B	B	B	B	B	B	S			
- 5	F ₅	H		A	A	B	B	H	H	S			
- 7	F ₅	A		B	B	A	A	A	H	S			
- 8	F ₅	A		A	A	B	B	B	B	S			
- 9	F ₅	B		B	B	B	B	B	B	S			
1532 - 1	F ₅	Acc 2195	A	A	A	B	B	B	B	S			
- 2	F ₅		A	A	A	B	B	B	B	S			
- 7	F ₅		A	B	B	B	B	B	B	S			
1533 - 1	F ₅		A	B	B	B	B	B	B	S			
- 5	F ₅		A	151 ^B	B	A	B	B	B	S			
1530 - 1	F ₄		B	A	A	B	B	B	B	S			
- 20	F ₄	B	H	H	H	A	A	B	S				
- 23	F ₄	B	B	B	B	B	B	B	S				
- 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) マーカー名は任意であり、他の表のものと一致するとは限らない

表4 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				更 別 検 定 結 果
	Vi08G060800	Vi08G082500	CEDG271	CEDG035	Vi09G015800	Vi09G030400	Vi09G051700	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

注1) A:Acc2195型、B:きたろまん型
 注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
 注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

②DNA マーカーの高精度化

1) 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の接種検定を行った。

「Acc2195」および「Acc2766」由来の供試系統はSCN抵抗性(Female index (FI)が10未満)と判定され、第1、8、9染色体上のQTLは「Acc2766」型であった(表5)。一方、「十交1331」は抵抗性と判定するにはややFIが大きかった。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「Acc2766」「Acc2195」

並に低かった（表6）。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た。

第 1 染色体上の DNA マーカーを絞り込むため、第 8、9 染色体上の QTL が抵抗性型で固定している系統をレース 1 接種検定に供試した。その結果、Vi01G051300 から CEDG003 が座乗する領域は抵抗性に寄与していないと考えられた（表7）。しかし、CEDG133 から Vi01G006600 の間は、「Acc2766」「Acc2195」と「エリモショウズ」との間で多型が見られず、供試した系統の遺伝子型がどちらに由来するかわからず、それ以上の絞り込みはできなかった。

表 5 QTL 近傍のマーカー遺伝子型と SCN レース 1 抵抗性の関係

交配 番号	世 代	抵抗性 由来	Chr.01					Chr.08					Chr.09					Female index ¹⁾		現地圃場検定 (参考)			
			Marker1	Marker2	Marker3	Marker4	Marker5	Marker6	Marker7	Marker8	Marker9	Marker10	Marker11	Marker12	Marker13	Marker14	Marker15	Marker16	Marker17	試験1	試験2	シスト 寄生 程度	判定
			1331-8	F8	Acc	233 ²⁾	B	148	B	B	B	B	B	A	175	B	A	A	A	A	B	146	12
1331-105	F8	2586	233	B	148	A	B	B	B	B	A	175	B	A	A	A	A	B	146	16	13	3.5	強
Acc2586	233		B	148	A	B	B	B	B	A	175	B	A	A	A	A	B	146	12	12	2.4	強	
1333-37	F7		A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	2	1	4.9	強	
1436-17	F6	Acc	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	187	A	A	A	A	B	1	1	3.4	強	
1436-20	F6	2766	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	187	A	A	A	A	B	1	2	3.1	強	
Acc2766			A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	0	0	0.7	強	
1532-17	F6		A	A	A	B	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	150	0	0	1.1	強	
1533-21	F6		A	A	A	B	A	B	B	A	B	149	B	A	A	A	A	150	3	7	3.7	強	
1530-21	F5	Acc	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	150	2	1	2.1	強	
1530-36	F5	2195	A	A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	150	1	2	2.0	強	
1530-98	F5		A	A	A	H	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	150	0	0	0.3	強	
Acc2195			A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	150	4	3	2.2	強	
しゅまり			A	B	148	B	B	B	B	A	B	149	B	B	B	B	B	B	100	100	41.1	弱	

() 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)

3) マーカー名は任意であり、他の表のものとは一致するとは限らない

表 6 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 index ¹⁾	
			Marker1	Marker2	Marker3	Marker4	Marker5	Marker6	Marker7	Marker8	Marker9	Marker10	Marker11	Marker12	Marker13	Marker14	試験1	試験2	
			1529-22	F5	Acc 2766	A	H	A	-	A	A	A	B	A	A	A	A	-	B
1529-81	F5	A	A	A		A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	5	3		
1529-168	F5	A	A	A		A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	1	2		
1529-30	F5	B	B	B		A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	48	37		
1529-89	F5	B	B	B		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	B	42	38		
Acc2766			A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	0.2	0.5		
1531-4	F5	Acc	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	1	1		
1531-163	F5		2195	B	B	B	H	A	A	A	A	A	A	A	A	25	36		
Acc2195			A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	150	5	3		
しゅまり			B	B	B	B	B	B	149	B	B	B	B	B	B	100	100		

() 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)

3) マーカー名は任意であり、他の表のものとは一致するとは限らない

表7 QTL近傍マーカーの遺伝子型とSCNレース1抵抗性の関係（一部抜粋）

	Chr01										レース1 接種 検定 結果	
	V101G003700	CEDG133	V101G006300	V101G006400	V101G006500	V101G006600	V101G006900	V101G007200	V101G051300	V101G075400		CEDG003
Acc2195	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
Acc2766	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
ワシントン	B	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	
十交1529-24	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	R
十交1531-99	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	R
十交1529-2	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	R
十交1531-43	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	R
十交1529-97	A	A	A	A	A	A	B	B	B	A	A	S
十交1529-153	B	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	S
十交1531-84	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	A	R
十交1531-126	B	A	B	B	B	B	B	B	B	A	A	R
十交1531-28	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	S
十交1531-81	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	S
十交1531-208	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	S
十交1531-228	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	S

③反復戻し交配による抵抗性の導入

1) の反復戻し交配において、BC₁以降、個体毎に第1, 8, 9染色体QTL近傍のDNAマーカーの遺伝子型をヘテロで持つことを確認し、交配親とした。

3) 育種素材のSCN抵抗性評価

平成30年に1)のSCN発生現地ほ場（レース3が優占）で抵抗性“強”と判定されたF₆世代3系統（十交1331-8、-105、十交1333-37）に対して、SCN抵抗性検定を実施した。本検定ではFemale index (FI) < 10未満を抵抗性と判定するが、供試した3系統のFIはそれぞれ、8、11、12となり、雌成虫数の個体間差が比較的大きかった。十系3系統（十系1277~1279号）は、線虫接種検定におけるFemale index (FI)値が「Acc2766」および抵抗性中間母本の「十系1219号」よりも劣った（表8）。また、接種した個体群により、抵抗性の基準としている10を越える場合があり、SCN抵抗性は不十分であると考えられた。

また、2)のDNAマーカーの高精度化のために、1)で養成した系統について、SCNレース1を接種検定し、それぞれ抵抗性を判定した。この結果とDNAマーカー型から、DNAマーカーの絞り込みを実施した。

表8 SCN 個体群接種による抵抗性検定成績

個体群	寄生性 ¹⁾	Female index ²⁾				
		十系1277号	十系1278号	十系1279号	十系1219号	Acc2766
A	3gpr	N.T. / N.T. ⁴⁾	14 / 6	8 / 7	0.4 / 0	0 / 0.3
B	5gpr	21 / 15	23 / 21	19 / 21	3 / 1.3	0 / 0.6
C	1gpr	N.T. / N.T.	50 / N.T.	48 / N.T.	5.6 / N.T.	0.3 / N.T.
D	3gpr	N.T. / N.T.	13 / 24	13 / 21	1 / 0.4	0 / 0.2
E	3gpr	N.T. / N.T.	24 / 34	26 / 32	1 / 1.1	1 / 0.5
F	3gpr	N.T. / N.T.	43 / 31	28 / 25	4 / 1.4	0.4 / 0.2
G	5gprt	N.T. / N.T.	40 / 32	47 / 33	2 / 1.6	0 / 1.9
H	N.T. ³⁾	11 / 9	14 / 9	12 / 12	3 / 0	0.8 / 0
I	6gprst	1 / 1	3 / 2	1 / 0	0.1 / 0.4	0.1 / 0
J	3g	5 / N.T.	7 / N.T.	6 / N.T.	1 / N.T.	0.3 / N.T.

1) 数字はレース、英小文字が付された場合、各抵抗性品種に寄生性を有することを示す。

g : ユキホマレ、p : ユキシズカ、r : ユキホマレR、s : スズヒメ、t : スズマルR

2) (供試材料の平均雌成虫数÷しゅまりの平均雌成虫数) × 100 10未満を抵抗性としている。

3) 未試験。

4) 試験1/試験2

(4) 今後の課題

- 1) 「きたろまん」等の現行品種に SCN 抵抗性を導入した系統を育成する。
- 2) より高精度な SCN 抵抗性 DNA マーカーの開発を行い、より効率的な育種を行う。
- 3) SCN 抵抗性 QTL と不良形質 QTL との連鎖有無の調査や SCN 抵抗性系統の導入効果検証を行う。

(5) 成果の波及効果

生産現場からのニーズが高い SCN 抵抗性小豆品種の早期開発に貢献し、北海道における小豆の安定生産に資する。

(6) 論文、特許等

相馬ら (2019) ゲノムワイド SNPs データを用いた小豆のダイズシストセンチュウ抵抗性 QTL の解析. 育種学研究 21 (別 1) :189 (講要)