

平成22年度豆類振興事業助成金（試験研究）の成果概要

1 課題名 複数病害に対して持続的に抵抗性を示す小豆品種の開発強化

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 主査 (小豆菜豆) 佐藤 仁

分担 同上 上川農業試験場 研究部 生産環境グループ

同上 中央農業試験場 作物開発部 生物工学グループ

国立大学法人 北海道大学大学院農学研究院 作物生産生物学分野

3 実施機関 平成19年度～平成22年度（4年のうち4年目）

4 試験研究の成果概要

(1) 試験研究の目的

落葉病と茎疫病は小豆の重要土壌病害である。病原菌がレース分化しやすい茎疫病では、レースに影響されない圃場抵抗性育種を実現するための選抜・検定手法を確立し、雑種後代の初中期世代集団、系統について選抜・検定を行う。同時に、茎疫病圃場抵抗性の発現機作を検討する。落葉病については、新レースを含めたDNAマーカーによる選抜法を確立し、選抜を行う。

(2) 実施計画、手法

1) 茎疫病圃場抵抗性を持つ複合抵抗性系統の選抜(十勝農試、上川農試)

① 集団系統選抜試験(十勝農試)

供試材料：F2、F4世代7組合せ8集団13,462個体

② 茎疫茎疫病圃場抵抗性の集団選抜及び系統検定(上川農試)

(a)供試材料 集団・個体選抜：F3～F4世代9組合せ9集団16,524個体

系統検定：F5世代11組合せ316系統、F6世代41系統群205系統、F7世代16系統

(b)茎疫病発生助長処理：7月29日から28日にかけて約24時間、水深約10cmに湛水。

(c)試験区設計 系統検定 1区0.6㎡、1区制

(d)発病程度の調査方法

8月25、26日に達観により発病程度を0～4の5段階で調査した。系統内で発病程度に個体間差がある場合は、発病程度別の個体割合も勘案して評価。

2) 茎疫病圃場抵抗性の効率的選抜・検定手法の確立(上川農試)

(a)供試材料 F7世代以降5組合せ9系統、基準品種5品種系統、指標品種2品種系統

(b)試験区設計 系統検定 1区0.6㎡、4区制 耕種概要、処理、調査法は1)に同じ。

3) 茎疫病圃場抵抗性の機作解明と茎疫病菌病原性分化機構解明による検定手法の高精度化

(北海道大学)

① アズキ病菌感染時に特異的に発現する遺伝子の探索

アズキ茎疫病菌の菌糸磨砕液を小豆胚軸に接種し、24時間後に接種部位近傍からRNAを抽出して、long-SAGE法により抵抗性の反応において多く転写される遺伝子を検索する。

② アズキのファイトアレキシン、Kievitone生合成に関わるPAL遺伝子の探索

Kievitone生合成の鍵酵素であるフェニルアラニンアンモニアリアーゼ(PAL)遺伝子を検出するためのプライマーを設計する。

4) 落葉病抵抗性マーカーによる効率的選抜と新規マーカー開発

F5世代13組合せ799系統について落葉病抵抗性遺伝子*Pga1*、*Pga2*でDNAマーカー検定する。

(3) 今年度の実施状況

1) 茎疫病圃場抵抗性を持つ複合抵抗性系統の選抜(十勝農試、上川農試)

①十勝農試内の長期輪作圃、および落葉病レース 1 抵抗性優占圃場において、7 組合せ 8 集団から 916 個体を選抜した。

②上川農試内激発圃場では、6 月下旬からの降雨により湛水前から茎疫病の初発が認められたものの、灌水処理後の品種間差に影響は無かった。圃場にて種子伝染性の茎腐細菌病が発生したことから、F2～F4 世代集団は収穫せず全組合せを廃棄とした。F5～F7 世代 537 系統について発病程度を調査した。F6 世、F7 代では圃場抵抗性遺伝資源を交配親とする「0432」「0525」「0526」およびレース 4 抵抗性を交配親とする「0608」において、発病程度が低い系統が多かった、F5 世代では圃場抵抗性遺伝資源を交配親とする 3 組合せの系統において発病程度が低かった。

2) 茎疫病圃場抵抗性の効率的選抜・検定手法の確立(上川農試)

レース 4 抵抗性遺伝資源を交配親とする 2 系統、圃場抵抗性遺伝資源を交配親とする 4 系統の計 6 系統を圃場抵抗性“強”と評価した(表)。発病度が最も低かった「0432-7-13-2」を圃場抵抗性“強”の基準品種として選定し、「十系 1077 号」の系統番号を付与した。

3) 茎疫病圃場抵抗性の機作解明と茎疫病菌病原性分化機構解明による検定手法の高精度化

①合計 5480 の long-SAGE タグから感受性/抵抗性で転写量に差がある計 43 タグが確認された。

抵抗性レース接種の胚軸で発現頻度が高かったのは、PAL、protein kinase 遺伝子などで、これらはアズキの抵抗性反応に関与すると推定される。

②エンドウ、ダイズおよびササゲの PAL1 遺伝子の相同配列からプライマー組合せを設計した。

これを用いた PCR によりアズキ DNA からの増幅(約 700bp)が確認され、Kievitone 蓄積量と関連する遺伝子発現量の比較に利用できると期待される。

4) 落葉病抵抗性マーカーによる効率的選抜と新規マーカー開発

13 組み合わせ 799 系統中、Pga1 が抵抗性型のものは 277 系統、Pga2 が抵抗性型のものは 244 系統あった。

表 圃場抵抗性遺伝資源を用いた交配後代における育成系統の圃場抵抗性評価

品種・系統名	世代	組合せ		区分	熟莢率 (%)	発病度	圃場抵抗性評価	
		母	父				本年	既存
0432-4-4-2	F7	エリモシヨウス'	Acc1398	圃	96	2.5 c	強	(強)
0432-4-8-3	F7	エリモシヨウス'	Acc1398	圃	91	1.3 c	強	(強)
0432-7-13-2	F7	エリモシヨウス'	Acc1398	圃	93	0.0 c	強	(強)
0432-12-6-5	F7	エリモシヨウス'	Acc1398	圃	95	0.6 c	強	(強)
エリモシヨウス'				感受性	100	87.9 a	弱	弱
基準品種 十育149号		十育137号	十系651号	レース4	88	48.2 b	やや弱	やや弱
能登小豆		-	-	レース1	0	45.0 b	中	中
Acc832		-	-	感受性	0	5.6 c	やや強	やや強
Acc1398		-	-	感受性	0	0.0 c	強	強
指標 しゅまり				レース3	98	83.8 a	弱	弱
品種 十育150号		十育137号	十系651号	レース4	93	76.9 a	弱	弱

注1) 同じアルファベットはTukey法で有意差(5%)がない。

注2) 熟莢率は8月28日の達観調査。圃場抵抗性評価の()は暫定。

注3) 発病度判定基準:0-3(強)、3-10(やや強)、10-45(中)、45-70(やや弱)、70-100(弱)

(4) 今後の課題及び対応

茎疫病圃場抵抗性の DNA マーカー開発による同抵抗性選抜の高精度化・効率化と、複数病害抵抗性の効率的な選抜体制の確立について、新規課題「DNA マーカー選抜による小豆の土壌病害複合抵抗性系統の選抜強化(平 23~25 年)」の中で取り組む。