

平成24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2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）

F5世代において、落葉病レース1, 3抵抗性遺伝子 *Pga1* について7組合せ749系統、同レース1, 2抵抗性遺伝子 *Pga2* について7組合せ695系統をマーカー遺伝子型による選抜に供試した。また新たに地方配布番号を付した有望系統等数百点について *Pga1* 遺伝子型を調査した。

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）の後代系統を材料に、萎凋病抵抗性のDNAマーカーを開発し、既存の育成系統等を用いてマーカーの有効性を確認する。

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）

「Acc1398」由来の圃場抵抗性を持つ交配後代において茎疫病菌圃場抵抗性の検定を行い、遺伝様式を解明する。北海道大学において、①で育成した解析材料を用いて茎疫病菌接種による抗菌物質 kievitone の産生量と抗菌物質産生に關与するとされる PAL 遺伝子転写量の解析を行い、激発圃場での発病程度との比較から本圃場抵抗性の機作を解明する。

(3) 今年度の実施状況

- (1) *Pga1* は749系統中405系統が抵抗性、*Pga2* は695系統中295系統が抵抗性と判定された。
- (2) 萎凋病抵抗性バルクに特異的なAFLP断片とその周辺配列を利用して共優性マーカーを作成した。育成系統や遺伝資源を用いてDNAマーカーの有効性を検討したところ、「Acc259」を母本とする系統ではDNAマーカーの遺伝子型と、接種検定による抵抗性/罹病性の表現型が一致

した(表1)。また、アズキのSSRプライマー(186個)を用いて、解析に用いたF3系統の多型を調査したところ、萎凋病抵抗性遺伝子は連鎖群1に座乗していることが明らかとなった。(3)上川農試では、「十交1040」(きたのおとめ/十系1077号)のF1、F2、F3世代および両親の茎疫病菌抵抗性調査を行った。F1世代個体の発病指数は両親の中間のものが多く、F2世代個体では圃場抵抗性“強”基準の「十系1077号」並に低いものが多かったが連続的に分布した(図1)。F3世代系統の発病度は正規分布した。これらの結果から、本抵抗性には2対以上の遺伝子が関与している可能性が示された。

(4)「十交0432」(エリモショウズ/Acc1398)後代F8世代16系統について、圃場での発病度と茎疫病菌接種後の胚軸中におけるKievitone蓄積量、PAL及びC4H遺伝子転写量を比較した。発病度とKievitone蓄積量との相関は明確ではなかった。PAL及びC4H遺伝子転写量については、発病度25以下の抵抗性系統7系統においては接種12時間後の転写量と発病度に相関が認められた。この結果から、PALあるいはC4H遺伝子転写量が茎疫病菌抵抗性の評価指標として有効である可能性が示された。

表1 開発したDNAマーカーの遺伝子型と表現型の比較

品種系統名	落葉病抵抗性母本	落葉病抵抗性遺伝子型	指数 ^{注1)}		DNAマーカーの遺伝子型 ^{注2)}
十系1065号	Acc259	<i>Pga2</i>	0.70	R	Acc259型
十系1066号	Acc259	<i>Pga2</i>	3.00	S	斑小粒系1型
十系1067号	Acc259	<i>Pga2</i>	3.00	S	斑小粒系1型
十系1071号	Acc259	<i>Pga2</i>	0.13	R	Acc259型
十系1072号	Acc259	<i>Pga2</i>	2.60	S	斑小粒系1型
十系1126号	Acc812	<i>Pga2</i>	0.87	R	斑小粒系1型
十系1127号	Acc812	<i>Pga2</i>	0.53	R	斑小粒系1型
Acc259	—	<i>Pga2</i>	0.00	R	Acc259型
Acc812	—	<i>Pga2</i>	0.00	R	Acc259型
赤豆	—	<i>Pga2</i>	0.00	R	Acc259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
明朝体はマーカー遺伝子型と一致しなかったもの
注2)マーカー遺伝子型はAcc259型が抵抗性、斑小粒系1型が罹病性

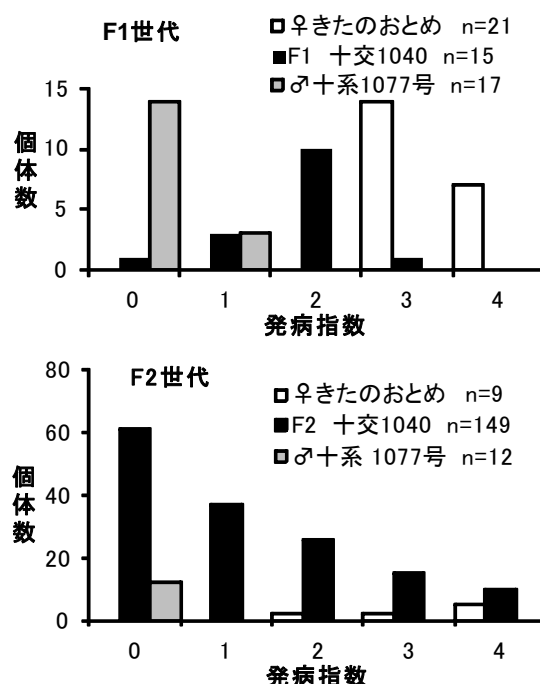


図1 「十交1040」のF1、F2世代における茎疫病菌発病指数の分布

(4) 今後の課題及び対応

①落葉病のマーカーを用いて年間数百点のF5世代系統の検定を行う。②前年に選定した2点のAFLPマーカーについて、新たに周辺配列を決定し、断片と周辺の配列を利用して萎凋病抵抗性に特異的なDNAマーカーを作成する。また、既存の育成系統および解析材料などを用いて作成したマーカーの有効性を確認する。③圃場抵抗性遺伝解析の交配組合せ「十交1040」について、F4世代等の後代系統を供試し、上川農試の茎疫病菌発生圃場で圃場抵抗性評価を行い、遺伝様式を解明する。十勝農試ではRILs養成を行う。④これらの材料について異なるアズキの年齢における茎疫病菌接種後のPAL遺伝子とC4H遺伝子転写量の解析を行い、圃場での発病程度との比較により茎疫病菌抵抗性の機作に関わる物質を探索する。