平成26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 小豆の耐冷性高度化を目指した選抜とその遺伝様式の解明
- 2 研究実施者

研究代表者 (地独)北海道立総合研究機構 十勝農業試験場 研究部

豆類グループ 研究主任 堀内優貴

分担 (地独) 北海道立総合研究機構 中央農業試験場 作物開

発部 生物工学グループ 研究主任 小倉玲奈

国立大学法人帯広畜産大学 地域環境学研究部門 植物生産学分野植物ゲノム科学研究室 教授 加藤清明

- 3 実施期間 平成24年度~26年度(3年間)
- 4 試験研究の成果概要
- (1) 試験研究の目的

北海道産小豆の安定生産のためには、耐冷性の優れた品種を育成・普及することが重要である。十勝農業試験場(以下、十勝農試)では、これまでの耐冷性を凌駕する開花着莢期高度耐冷性(極低温条件下で開花・受粉できる耐冷性)を有する系統の選抜を行ってきたが、本耐冷性の母本である遺伝資源に由来する晩生、小粒等の不良農業特性も引き継いでいる。開花着莢期高度耐冷性を有する優良品種を育成するには、優れた耐冷性を維持しながら不良農業特性を取り除く必要がある。また、効率的に選抜できるようにするため、遺伝解析を進め、これら不良農業特性と耐冷性の遺伝的連鎖関係を解明する必要がある。

本研究では、遺伝資源由来の不良農業特性を除いた開花着莢期高度耐冷性の系統を選抜するとともに、効率的な選抜手法の開発のため開花着莢期高度耐冷性とその他不良形質に関する連鎖地図を作成する。

(2) 実施計画、手法

- 1) 開花着莢期高度耐冷性系統の選抜と冷害発生圃場における抵抗性の確認(十勝農試)低温育種実験室を用いて開花着莢期高度耐冷性選抜を行い、選抜系統について実際の冷害条件での耐冷性を確認する。
 - ①花着莢期高度耐冷性系統の選抜
 - 一般農業特性による選抜(F₂~F₃世代):十勝農試圃場で熟期、草型等により選抜。
 - ・低温処理後開花数による簡易選抜(F_4 世代):人工気象条件下で開花期以降 10 日間、極低温(10-15°C)処理後、開花数により選抜。
 - ・開花着莢期高度耐冷性選抜(F₅~F₆世代): 人工気象条件下で開花期以降 10 日間、 極低温(10-15℃)処理後、開花数・正常受粉花率により選抜。



- ②冷害発生条件における開花着莢期高度耐冷性の確認:前項の簡易選抜を経た系統について、耐冷性現地圃(十勝沿海部;大樹町)における収量等を調査。
- 2) 開花着莢期高度耐冷性と不良農業特性との関係解明

解析材料を養成し、形質調査とマーカーの遺伝子型解析から遺伝解析を行う。

- ①開花着莢期高度耐冷性と不良農業特性の連鎖解析(帯広畜産大学、十勝農試):開花着莢期高度耐冷性と不良農業特性の遺伝解析を行うための材料(「十交 0626(「しゅまり」×「Acc2265」)」RILs)を養成し(夏季は花芽分化促進のため短日処理を実施)、農業特性を調査。
- ②遺伝子型解析(中央農試): RILs の DNA を抽出し、SSR マーカーの遺伝子型を解析。
- ③開花着莢期高度耐冷性の遺伝子連鎖地図の作成(帯広畜産大学):①の特性調査による表現型及び②の遺伝子型を用い、本耐冷性を含む諸形質について QTL (量的形質遺伝子座) 解析を行う。

(3) 成果の概要

- 1) 開花着莢期高度耐冷性系統の選抜と冷害発生圃場における抵抗性の確認
 - ①開花着莢期高度耐冷性系統の選抜 (表 1)
 - ・一般農業特性による選抜($F_2 \sim F_3$ 世代): 3 カ年でのべ12 組合せ17,677 個体を供試し、成熟期、草姿等により約1,600 個体を選抜した。
 - ・低温処理後開花数による簡易選抜 (F₄世代):3 カ年で540 個体及び265 系統を供 試し、低温処理後の開花数が「斑小粒系-1」 (開花着莢期高度耐冷性"中")並以 上の153 系統を選抜した。
 - ・開花着莢期高度耐冷性選抜 (F₅~F₆世代):3 カ年で158 系統を供試し、低温処理後の開花数及び正常受粉花率が「斑小粒系-1」を上回る30 系統を選抜した。

表 1 年次別供試数

試験名	世代	平成24年		平成25年		平成26年		合計	
一般農業特性による選抜	F_2	5,226	個体	725	個体	2,202	個体	8,153 個	体
	F_3	2,184	個体	4,080	個体	3,260	個体	9,524 個	国体
低温処理後開花数	Б	540	個体					540 個	本
による簡易選抜	F_4			140	系統	125	系統	265 系	統
開花着莢期高度耐冷性選抜	$F_5 \sim F_6$	12	系統	102	系統	44	系統	158 系	統

②冷害発生条件における開花着莢期高度耐冷性の確認

・耐冷性現地圃における耐冷性の実証:耐冷性現地圃における平成 $24\sim26$ 年の平均 気温(6-9 月)は、十勝農試と比較してそれぞれ 1.8 \mathbb{C} 、、1.2 \mathbb{C} 、1.4 \mathbb{C} 低かった。いずれの年次も低温による生育及び収量への影響は判然とせず、耐冷性の評価はできなかった。

2) 開花着莢期高度耐冷性と不良農業特性との関係解明

- ①開花着莢期高度耐冷性と不良農業特性の連鎖解析
 - ・解析材料の養成:「十交 0626」RILs F_4 世代 148 系統(平成 24 年夏、十勝農試)、 F_5 世代 148 系統(平成 24 年冬、帯広畜産大学)、 F_6 世代 148 系統(平成 25 年夏、十勝農試)を養成した。 F_7 世代(平成 26 年夏)は十勝農試感光処理施設において41 系統、十勝農試圃場において132 系統、帯広畜産大学において111 系統を養成した。
 - ・高度耐冷性調査:短日処理で養成した「十交 0626」RILs(平成 25 年:148 系統、 平成 26 年:41 系統)の開花数、正常受粉花率を調査した。
 - ・農業形質調査:平成25年には百粒重(十勝農試、137系統)、種皮色のL*a*b*値(133系統)、平成26年には主茎長(十勝農試、132系統)、自然日長のポット試験における開花日(帯広畜産大学、88系統)(図1)を調査した。

②解析材料の遺伝子型の解析

- ・「十交 0626」RILs の DNA を抽出し、両親 (「しゅまり」と「Acc2265」) 間に多型 の認められた 81 個の SSR マーカーを用いて、各系統の遺伝子型を決定した。
- ③開花着莢期高度耐冷性の遺伝子連鎖地図の作成(帯広畜産大学)
 - ・「十交 0626」RILs の開花日、百粒重、種皮色の QTL 解析により、「Acc2265」の持つ晩生、小粒、粒色を決定している 1 遺伝子、3 遺伝子、1 遺伝子を連鎖地図上に特定し、各不良形質と連鎖する DNA マーカーを特定した(表 2)。
 - ・開花着莢期高度耐冷性に関する QTL は検出されなかった。このことは、短日処理により RILs の開花期は揃ったものの検定に十分な開花数が得られなかったこと、また、両親間で多型を示すマーカー数が不十分であったことが原因と考えられる(図 2)。

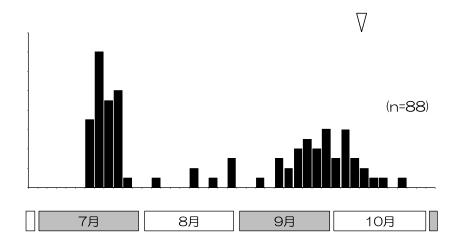


図 1.「十交 0626」RILs の開花日の分布(平成 26 年、帯広畜産大学 屋外ポット試験).

表 2 0626RILs を用いた開花日・百粒重・粒色の QTL 解析の結果

形質	QTL	染色体	マーカー間隔	LOD値a	寄与率 (%)	相加 効果 ^b
開花日	FD2	2	CEDG108 - CEDG275	5.1	21.5	34.6
	FD1	1	CEDG057 - CEDG032	2.9	11.2	-14.0
百粒重	SDW1	1	CEDC030 - CEDG102	4.07	10.5	-0.65
	SDW2	3	CEDC008 - CEDG117	4.08	10.5	-0.65
	SDW3	11	CEDG044 - CEDG098	2.7	6.9	-0.50
種皮色(L*値)	OLB	1	CEDG141 - CEDG001	15.6	32.4	9.14
(a*値)		1	CEDG141 - CEDG001	20.1	49.1	-5.96
(b*値)		1	CEDG141 - CEDG001	16.6	34.6	6.32

a;5%水準の閾値 = 2.6

b;「しゅまり」型対立遺伝子に対する「Acc2265」型対立遺伝子の効果を示す。

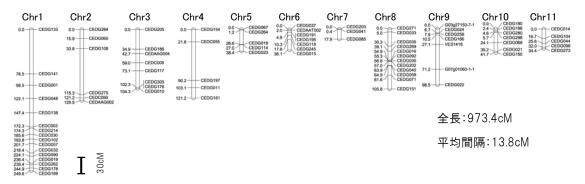


図 2. 「十交 0626」RILs138 系統を用いた連鎖地図.

3) まとめ

- ①開花着莢期高度耐冷性選抜では、本耐冷性を有し一般農業特性の改善された系統を選抜した。平成26年度において最も世代の進んだ2系統(0924-48、0925-75)を「十系1205号」、「十系1206号」として次年度生産力検定予備試験等に供試する。
- ②開花着莢期高度耐冷性に関する QTL が検出されず、晩生・小粒・粒色の QTL との関係 は明らかにできなかったが、これら不良形質と連鎖する DNA マーカーを特定した。

(4) 今後の課題

本課題で選抜された系統の開花着莢期耐冷性を評価し、その他農業形質の改善を進めるとともに、新たな交配母本として育種に活用する。

開花着莢期高度耐冷性に関する QTL 解析では、自然日長で開花期の揃う材料を用い、両親間で多型を示す DNA マーカーを開発する必要がある。このためアズキゲノム情報の公開が待たれる。

(5) 成果の波及効果

本課題の成果により育成される開花着莢期高度耐冷性品種は、昭和 58 年や平成 5 年のような10年に一度程度の厳しい低温条件においても減収程度を軽減できる可能性があり、 北海道産小豆の生産・供給の安定化に寄与する。

(6) 論文、特許等

山本博規・堀内優貴・小倉玲奈・下田直美・佐藤仁・加藤清明. アズキ品種「しゅまり」と開花着莢期高度耐冷性遺伝資源 Acc2265 間の交雑後代で分離する開花期の QTL 解析. 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会口頭発表 (2014.12)

Horiuchi Y, Yamamoto H, Ogura R, Shimoda N, Sato H, Kato K (2015) Genetic analysis and molecular mapping of genes controlling seed coat colour in adzuki bean (*Vigna angularis*). Euphytica. doi:10.1007/s10681-015-1461-9