

平成26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
主任研究員 小西あや子
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2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図る。

(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（新京都大納言）と罹病性の遺伝資源系統（No. 225）を交配して作出した自殖 F₆集団の 136 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。同時に自殖 F₆集団から 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）

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。過去に採取した BCMV 株（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

(3) 今年度の実施状況

①国立研究開発法人農業生物資源研究所開発の SSR マーカー66 種について、両親系統の多型を調査した。両親系統の DNA を鋳型とした PCR の増幅産物をポストラベル法で蛍光標識し、DNA シーケンサーで解析した。66 種の SSR マーカーのうち、両親間で多型が得られた

のは 24 種であった。

F₆近交系集団のうち BCMV 接種試験の結果、抵抗性であった 16 系統および罹病性であった 16 系統を用い、両親間で多型が得られた 24 の SSR マーカーについて多型を調査した。F₆近交系集団の表現型(抵抗性/罹病性)と各マーカーの遺伝子型(新京都型/No. 225 型)の一致率を調査したところ、CEDG144 では 87.5%の系統で表現型と遺伝子型が一致しており、BCMV 抵抗性と連鎖していると推定された。そこで、F₆近交系集団 134 系統について CEDG144 の多型の調査を行ったところ、106 系統で表現型と遺伝子型が一致し、一致率は 79.1%であった。CEDG144 はアズキの第 1 連鎖群(LG1)に位置し、CEDG144 と BCMV 抵抗性遺伝子との距離は約 23cM であると考えられた(図 2)。

アズキの LG1 に座乗する SSR マーカーのプライマー配列、及び CEDG144 とその周辺の 2 マーカー(CEDG133、CEDG141)の増幅産物の配列を決定し、アズキと同じインゲンマメ連に属するインゲンマメゲノムに対して相同性検索を行った。その結果、アズキ LG1 の CEDG144 周辺と、インゲンマメ第 2 染色体(Chr2)の 42.7Mb~49.0Mb にシンテニーが認められた。この結果を基に、インゲンマメのゲノム情報を用いたマーカー開発を行い、BCMV 抵抗性遺伝子との距離が約 10cM である dCAPS マーカー(dARF2)を得た(図 2)。

インゲンマメ Chr2 の長さは約 49.05Mb であり、dARF2 はインゲンマメゲノム上では Chr2 の 49.0Mb とほぼ末端に存在している。しかし連鎖地図上では、BCMV 抵抗性遺伝子は dARF2 よりも更にテロメア側に約 10cM 離れた位置に座乗している。これは、インゲンマメゲノム情報が不完全であるためか、アズキ LG1 に対応する染色体ではインゲンマメ Chr2 の末端に相当する部分よりも更に先に配列が存在するためであると考えられた。

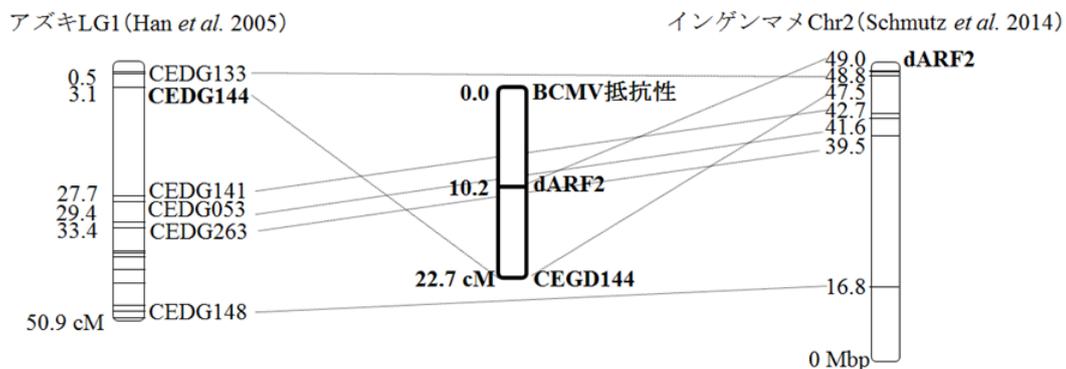


図2 アズキのBCMV抵抗性遺伝子に連鎖するDNAマーカー

②26 年度は現地における BCMV の発生が少なく、採取した 83 個体中 ELISA 分析で BCMV 感染が確認されたのは 6 個体のみであった。これらについて接種検定を行った結果、そのうち 2 株が「新京都大納言」にも感染するタイプであった(データ省略)。

(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、ゲノム情報を活用し、BCMV 抵抗性遺伝子により緊密に連鎖する新たな DNA マーカーを開発する。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。