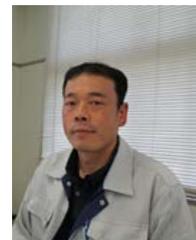


平成27年度終了 豆類振興事業助成金（試験研究）の成果概要

- 1 課題名 ゲノム情報を活用した豆類複合抵抗性品種の開発強化
- 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 中央農業試験場 作物開発部 生物工学グループ 主査 小倉玲奈
- 分担 同上 中央農業試験場 作物開発部 作物グループ
十勝農業試験場 研究部 豆類グループ、生産環境グループ
- 3 実施期間 平成25年度～平成27年度（3年間）



4 試験研究の成果概要

(1) 試験研究の目的

豆サラダ用などの新規用途を目的に交配している母本には炭そ病抵抗性を有していないものも多く、より効率的な DNA マーカーによる炭そ病抵抗性の付与が必要である。また、豆サラダ用の遺伝資源に対しては、黄化病抵抗性 DNA マーカーが適用できない場合があり、これらの遺伝資源に適用できるように DNA マーカーを改良する必要がある。

本研究では、ゲノム情報を活用しながら新たな DNA マーカーの開発と改良を行い、加えてこれまでに開発した DNA マーカーを積極的に利用することによって菜豆の病害抵抗性を効率的に精度良く選抜する。

(2) 実施計画、手法

1) ゲノム情報を活用した新規抵抗性遺伝資源の探索と DNA マーカーの改良

ゲノム情報を活用して選抜した豆サラダ用途向けの交配母本について保毒アブラムシによる接種検定および ELISA 検定を実施する。また、ゲノム情報を活用してインゲン黄化病抵抗性 DNA マーカーを改良する。

2) 菜豆の炭そ病抵抗性 DNA マーカーの開発

炭そ病抵抗性系統と同感受性系統の交配を行い、DNA マーカー開発のための解析材料を養成し、道内に存在する2つの菌群 (race38、race7) を用いて、接種検定で炭そ病抵抗性を評価し、遺伝解析を行う。また、QTL 解析を行い抵抗性に関与する領域を特定するとともに、海外の DNA マーカー情報を活用し、炭そ病抵抗性 DNA マーカーを開発する。

3) DNA マーカーを利用した豆類系統の効率的選抜

現地の黄化病多発圃場での抵抗性1次選抜を行い、DNA マーカー検定による抵抗性2次選抜を行う。

【用語説明】

DNA マーカー：同一生物種の間で DNA の塩基配列を比較したとき、ほとんどの部分では同じだが、個体間で違いのある部分が複数、散在する。こうした違いのある部分を目印（マーカー）にすること。

QTL：農業上有用な形質の多くは、複数の遺伝子の効果の組み合わせによって決定されている。このような形質を総称して量的形質 (quantitative trait) とよび、量的形質を決定している遺伝子座を **QTL** (quantitative trait locus) という。

(3) 成果の概要

1) ゲノム情報を活用した新規抵抗性遺伝資源の探索と DNA マーカーの改良

H25年の試験では、「White Kidney」について発病個体は認められず、「TM8」、「Montcalm 023」、「無蔓菜豆」、「Veranic」の4点については発病個体率がそれぞれ、100%、70.0%、80.0%、100%と抵抗性“弱”の「大正金時」並であった（表1）。

H26年の試験では、「Chamois」および「A195」については圃場での黄化病発病個体は認められないか、低かった（表1）。「Charletown」、「WAF17」、「papuda」の3点については発病個体率が、100%と抵抗性“弱”の「大正金時」並であった（表1）。

「White Kidney」、「Chamois」および「A195」は黄化病抵抗性が“強”以上と判定され、新規の黄化病抵抗性遺伝資源として育種に利用できる。

表1. 保毒虫接種によるインゲンマメ黄化病の発病個体率（%）

| 試験年次 | 品種系統名 または 遺伝資源名 | 既報の 抵抗性 | 圃場での発病個体率（%） （ウイルスの検出率（%）） |
|------|-----------------------|---------------|--------------------------------------|
| H25年 | TM8 | 不明 | 100 (100) |
| | Montcalm 023 | 不明 | 70.0 (70.0) |
| | 無蔓菜豆 | 不明 | 80.0 (50.0) |
| | Veranic | 不明 | 100 (100) |
| | White Kidney | 強 | 0 (0) |
| | 北原紅長 姫手亡 大正金時 | 強 やや強 弱 | 6.7 (0) 13.3 (6.7) 100 (100) |
| H26年 | Charletown | 不明 | 100 (100) |
| | WAF17 | 不明 | 100 (100) |
| | papuda | 不明 | 100 (60.0) |
| | Chamois | 不明 | 10.0 (0) |
| | A195 | 不明 | 0 (0) |
| | 北原紅長 姫手亡 大正金時 | 強 やや強 弱 | 6.7 (3.3) 13.3 (6.7) 100 (100) |

インゲンマメのゲノム情報が公開されているホームページ (<http://www.phytozome.net/>) の配列 (Phvul.002G325300、Phvul.002G324600) を元にサラダ用遺伝資源と「大正金時」等と区別できる共優性マーカーを作成した（表2、図）。

表2 . 改良したDNAマーカーの遺伝子型と黄化病抵抗性

| 品種系統名 または 遺伝資源名 | 改良マーカー | | | 現行 マーカー | 黄化病 抵抗性 |
|---------------------------------------|--------|---------|-------------|------------|------------|
| | P3246 | P3253Mn | P3253MD. RK | DV386 | |
| White Kidney [#] | A | A | A | R | 強 |
| Chamois [#] | - | A | A | R | 強 |
| A195 [#] | A | B | - | - | 強 |
| WAF17 [#] | A | B | - | - | 弱 |
| papuda [#] | B | - | B | - | 弱 |
| Charletown [#] | B | A | A | S | 弱 |
| TM8 [#] | A | B | - | - | 弱 |
| Montcalm 023 [#] | A | B | - | - | 弱 |
| Veranic [#] | A | B | - | - | 弱 |
| 無蔓菜豆 [#] | A | B | - | - | 弱 |
| 北原紅長 | - | - | B | R | 強 |
| 姫手亡 | A | A | A | - | やや強 |
| 大正金時 | B | A | A | S | 弱 |
| Red Kidney Shell [#] | B | - | B | - | 弱 |
| Michigan Dark Red Kidney [#] | B | - | B | - | 弱 |
| 福寿金時 | A | A | A | R | 極強 |
| 大福 | A | A | A | R | 極強 |

注1) R : 抵抗性型、S : 感受性型、A : 大福型、B : 大正金時型、- : 増幅なし

注2) # : 豆サラダ用の遺伝資源

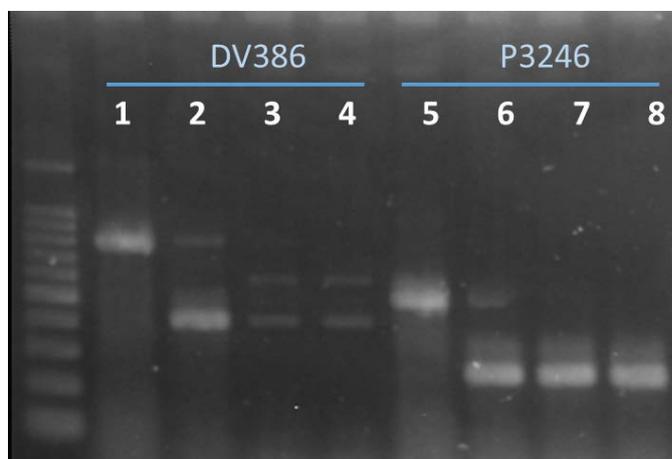


図. 改良した黄化病抵抗性 DNA マーカー

左からサイズマーカー(100bp ラダー)、
1、5 : 大福 (抵抗性)、2、6 : 大正金時 (感受性)、
3、7 : Michigan Dark Red Kidney (感受性)、
4、8 : Red Kidney Shell (感受性)

注) DV386 は Michigan Dark Red Kidney および Red Kidney Shell は増幅しないが、改良した P3246 は増幅する

2) 菜豆の炭そ病抵抗性 DNA マーカーの開発

2 組み合わせ (①Michigan Dark Red Kidney (感受性) × 大正金時 (race38 抵抗性) F₂ 99 個体、②Montcalm 023 (race7 抵抗性) × 大正金時 (感受性) F₂ 98 個体) の F₂ 集団の抵抗性と感受性の個体数は、①では 68 : 31、②では 67 : 31 に分離し、いずれも 3 : 1 の分離比に適合した。炭そ病菌 race38 抵抗性、race7 抵抗性ともに単一の優性遺伝子に支配されていると推定された (表 3)。

Michigan Dark Red Kidney (感受性) × 大正金時 (race38 抵抗性) の F₂ 集団、同 F₃ およ

び Montcalm 023 (race7 抵抗性) × 大正金時 (感受性) の F₂ 集団について、QTL 解析を行ったところ、黄化病抵抗性遺伝子が座乗していると推定される第 2 染色体に効果の大きな QTL が検出された。また、QTL 近傍のマーカーは黄化病抵抗性遺伝子の近くに作成したマーカーである。

表3. 接種検定によるインゲンマメ炭そ病抵抗性の遺伝様式

| 炭そ病菌 レース | 組合せ または 品種名 | 供試 個体数 | 観察値 | | 理論値 | | χ^2 | p値 |
|-------------|-----------------------------------|-----------|-----|----|-------|-------|----------|------|
| | | | R | S | R | S | | |
| race38 | Michigan Dark Red Kidney (感受性) | 15 | 0 | 15 | 0 | 15 | - | - |
| | 大正金時 (抵抗性) | 15 | 15 | 0 | 15 | 0 | - | - |
| | Michigan Dark Red Kidney × 大正金時 | 99 | 68 | 31 | 74.25 | 24.75 | 2.1 | 0.15 |
| race7 | Montcalm 023 (抵抗性) | 15 | 15 | 0 | 15 | 0 | - | - |
| | 大正金時 (感受性) | 15 | 0 | 15 | 0 | 15 | - | - |
| | Montcalm 023 × 大正金時 | 98 | 67 | 31 | 73.5 | 24.5 | 2.3 | 0.13 |

注1) R : 抵抗性、S : 感受性、注2) 単純優性遺伝モデルへの適合性

3) DNA マーカーを利用した豆類系統の効率的選抜

黄化病現地選抜圃場にて、黄化病抵抗性の 1 次選抜を実施し、その後、子実の外観品質により選抜した。H25~H27 年の 3 年間で 21 組合せ 1,743 系統について DNA マーカー検定による 2 次選抜を実施した。

(4) 今後の課題

- ・新規に見出した黄化病抵抗性遺伝資源は母材として活用する。
- ・サラダ用に改良した黄化病抵抗性 DNA マーカーを積極的に活用する。

(5) 成果の波及効果

黄化病抵抗性 DNA マーカーおよび炭そ病抵抗性 DNA マーカーを活用することにより、より効率的な抵抗性系統の選抜が可能となる。また、本課題で選抜された有望系統を品種化することにより、インゲンマメの安定生産に寄与できる。

(6) 論文、特許等

Development and validation of DNA markers linked to Sdvy-1, a common bean gene conferring resistance to the yellowing strain of Soybean dwarf virus

Breeding Science 64: 404–408 (2014) Yoko Yamashita et al.