

平成 29 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 小豆におけるダイズシストセンチュウ抵抗性の選抜強化と DNA マーカーの開発

2 研究実施者

研究代表者 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 主査（小豆菜豆）佐藤 仁



分担 十勝農業試験場研究部生産環境G、中央農業試験場作物開発部生物工学G、病虫害部クリーン病害虫G、農研機構北海道農業研究センター生産環境研究領域、高度解析センターゲノム情報大規模解析チーム

3 実施期間 平成 27 年度～29 年度（3 年間）

4 試験研究の成果概要

(1) 試験研究の目的

農業形質の優れたダイズシストセンチュウ（以下、SCN）抵抗性系統を選抜する。SCN 抵抗性に関する QTL を探索し、DNA マーカーを開発する。SCN 抵抗性小豆の SCN 密度低減効果を確認することにより、SCN 抵抗性小豆の有用性を明らかにする。

(2) 実施計画、手法

1) SCN 抵抗性を有する小豆系統の選抜

① 初期集団の養成と選抜:

ねらい：SCN 抵抗性品種育成のため人工交配、F2～F3 世代で集団選抜、F4～F5 世代で個体選抜を行い、系統を養成する。

供試材料：人工交配、F2～F5 世代各 3～6 組合せ（/1 年間）。

試験設計：人工交配 30 花/組合せ、集団及び個体選抜 500～2,000 個体/組合

② 中期世代系統の選抜：

ねらい：系統を養成し、SCN 現地選抜圃（更別村）に栽植し、シスト寄生指数から抵抗性を判定、選抜する。

供試材料：F5～F6 世代 200～300 系統（2～6 組合せ）

試験設計：1 区 0.6 m² 10 個体、反復なし

調査方法：5 月下旬に現地試験圃に播種し、7 月下旬～8 月上旬に個体当りに寄生する雌成虫数よりシスト寄生指数を割り当て、区ごとに下記の計算式によりシスト寄生程度を算出し、シスト寄生程度が 4 以下を抵抗性とした（表 1）。

表1 シスト寄生指数の基準

個体当り雌成虫数	寄生指数
0	0.0
5	0.5
10	1.0
11～20	1.5
21～50	1.7
51～100	2.0
101～500	3.0
501～	4.0

$$\text{シスト寄生程度} = \Sigma (\text{調査個体の寄生指数}) \times 100 / (4 \times \text{調査個体数})$$

③ 中後期世代の抵抗性検定および生産力試験：

ねらい： F7 世代以降系統の生産力を予備的に検定し、他の特性も併せて選抜する。

供試材料： F7 世代以降系統および比較品種

試験設計： SCN 抵抗性現地検定試験（更別村）： 1 区 0.6 m²、乱塊法 4 反復

生産力検定予備試験（十勝農試）： 1 区 6.1 m²、乱塊法 3 反復

調査項目：シスト寄生程度、成熟期、主茎長、倒伏程度、子実重対比、百粒重等。

接種検定：「十系 1277～1280 号」について現地検定圃（更別村）由来の個体群 A と、A とは異なる由来の個体群 B、C に対する接種検定を実施。1 系統 5 個体について第 1 本葉展開期に 2 期幼虫を接種し、およそ 30 日後に雌成虫寄生数を調査。「しゅまり」の寄生数に対する百分比から FI 値（Female Index）を算出し、FI 値が 10 以下を抵抗性と評価した。

④ 遺伝資源、中間母本の抵抗性評価

ねらい： 遺伝資源、中間母本について SCN 抵抗性の強弱を明らかにし、より優れた抵抗性の母本を探索する。

供試材料： SCN 抵抗性が“強”と判定された遺伝資源、中間母本から純系分離系統を養成し、1 系統 5 個体ずつ供試。

試験方法： 1 ポットに 5 個体栽植し、第 4～5 本葉期に 1 ポット当り 800 個体雌成虫を接種する。1 か月後にポット当りの雌成虫数を調査し、感受性品種「しゅまり」、抵抗性遺伝資源「Acc2766」との雌成虫寄生数の差から抵抗性を判断した。現地検定圃（更別村）より強い寄生性を示す個体群 D、E を供試した。

2) SCN 抵抗性選抜マーカーの開発

ねらい： SCN 抵抗性に関与する QTL を探索し、DNA マーカーを開発する。

供試材料： 「しゅまり」×「Acc2766」の F2 集団 128 個体

試験方法： 次世代シーケンサーを用いて SCN 抵抗性である「Acc2766」、「Acc2195」および感受性である「しゅまり」の塩基配列を解読し、それぞれの多型情報を解析し、QTL 解析用の DNA マーカーを作成した。セルトレイ検定によるダイズシストセンチウに対する抵抗性評価を実施し、各個体から DNA を抽出し、両親間に多型がみられた SSR マーカーおよび多型情報から作成した SNP マーカーを用いて各系統の遺伝子型を調査し、QTL 解析を実施した。

3) SCN 抵抗性小豆栽培の有用性の検証

ねらい： SCN 抵抗性小豆の密度低減効果を明らかにする。

供試材料： 「十系 1219 号（抵抗性系統）」、「Acc2766（抵抗性遺伝資源、抵抗性親）」、「しゅまり」あるいは「きたろまん」（感受性品種）

試験方法： 道央および道東地域における SCN 発生圃場（計 8 圃場）において、供試材料を栽培し、シスト寄生程度および栽培前後の土壌中の SCN 密度を調査した。

(3) 成果の概要

1) SCN 抵抗性を有する小豆系統の選抜

人工交配では延べ 14 組合せを行ない、1,352 粒の交配種子を得た。F2、F3 世代集団選抜では 6～8 組合せを供試し、8,236～13,600 粒を選抜した。F4、F5 世代個体選抜では 9 組合せを供試し、480 個体を選抜した (表 2)。

表2 SCN抵抗性品種育成のための人工交配および初期世代集団選抜成績(2015～2017年)

年次 (西暦)	人工交配			F2世代集団選抜			F3世代集団選抜			F4,5世代個体選抜		
	組合 数	交配 花数	収穫 粒数	組合 数	供試 粒数	収穫 粒数	組合 数	供試 粒数	収穫 粒数	組合 数	供試 粒数	選抜 個体数
2015	5	139	386	3	3,183	3,236	5	5,808	5,000	-	-	-
2016	6	180	720	5	7,163	9,808	2	3,236	1,764	5	7,000	237
2017	3	90	246	4	4,512	8,800	2	3,878	4,800	4	6,727	243
合計	14	409	1,352	12	14,858	21,844	9	12,922	11,564	9	13,727	480

SCN 抵抗性選抜では F5、F6 世代系統を延べ 475 系統供試し、抵抗性と判定された 120 系統を選抜した。SCN 抵抗性検定では F6、F7 世代を延べ 281 系統供試し、抵抗性と判定された 163 系統を選抜した (表 3)。

表3 SCN抵抗性選抜及び検定試験成績(2015～2017年)

年次 (西暦)	SCN抵抗性選抜						SCN抵抗性検定					
	世 代	組合 数	供試 系統数	抵抗性判定			世 代	組合 数	供試 系統数	抵抗性判定		
				抵抗性	感受性	分離				抵抗性	感受性	分離
2015	F5,F6	4	238	97	80	61	F6	5	49	3	17	29
2016	-	-	-	-	-	-	F6,F7	4	232	160	46	26
2017	F5,F6	5	237	23	14	200	-	-	-	-	-	-
		9	475	120	94	261		9	281	163	63	55

育成系統では、2017 年供試の「十系 1277 号」、「十系 1278 号」、「十系 1279 号」は「きたろまん」並の成熟期で、耐倒伏性に優れ、多収であった (表 4)。

表4 SCN抵抗性育成系統の試験成績(2017年)

品 種 名	SCN抵抗性					生産力検定予備試験成績					加工適性			
	現地検定	判 定	接種検定(FI)			成 熟 期 (月日)	倒 伏 程 度	主 茎 長 (cm)	子 実 重 対 比 (%)	百 粒 重 (g)	平均 あ ん 粒 子 径 (μ m)	生あん色		
また は 系 統 名	シスト 寄生 程度		個 体 群 A	個 体 群 B	個 体 群 C							L*値	a*値	b*値
十系1277号	1.7	R	0.3	3.9	23	9.20	1.7	67	109	17.4	128	40.55	10.11	8.72
十系1278号	1.2	R	1.0	8.1	27	9.22	1.3	60	106	17.6	125	38.98	9.57	8.11
十系1279号	2.0	R	0.5	3.3	34	9.20	2.0	69	111	17.5	120	40.27	10.82	8.70
十系1280号	0.6	R	0.0	3.4	0	9.19	4.0	104	103	14.6	116	40.44	8.48	7.95
Acc2746	0.5	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acc2766	-	-	0.2	1.1	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
十系1219号	-	-	0.1	0.3	1.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
きたろまん	37.9	S	-	-	-	9.18	3.3	82	100	16.7	122	39.11	9.46	7.17
エリモ167	-	-	-	-	-	9.19	4.0	82	97	15.8	119	39.22	8.45	7.46
しゅまり	-	-	(131)	(109)	(144)	9.21	2.7	85	92	14.7	112	42.39	8.40	6.82

注1)SCN抵抗性(現地検定):更別村に設置したSCN抵抗性現地検定試験場における試験結果。

2)SCN抵抗性(接種検定):「しゅまり」の()は、雌成虫寄生数(平均)を示す。

3)倒伏程度:成熟期における倒伏程度、0(無)~4(甚)の4段階評価。

4)子実重対比(%):同一年次の「きたろまん」の子実重を100とした子実重対比。

5)加工適性は、十勝農試における標準法で製あん法し、生あん色、平均あん粒子径を測定した。

そこで、「十系1280号」も含め、3SCN個体群による接種検定を実施したところ、「十系1277~1279号」は、寄生性強の個体群B、Cでは、抵抗性遺伝資源に比べやや抵抗性が劣った。このことから「十系1277~1279号」は今後SCN抵抗性や他農業特性をより詳細に検討する必要があると考えられた。

SCN抵抗性“強”の遺伝資源「Acc2195」について、純系分離により養成された系統ごとにSCN抵抗性検定を実施したところ、系統間でSCN抵抗性に大きな差があり、元の遺伝資源内で抵抗性の分離が認められた。遺伝資源「Acc2766」、「Acc2586」、「Acc2587」についても同様にSCN抵抗性にばらつきが確認された(データ省略)。SCN抵抗性が“強”だった「Acc2195」系統は、より寄生性の強い個体群Dに対しても安定した抵抗性を示した。また、「Acc2195」由来の抵抗性を有する中間母本「1041」の系統内におけるSCN抵抗性を評価したところ、いずれの系統でも安定した抵抗性が確認された(表5)。

表5 「Acc2195」および「1041(F4)」後代における寄生性強個体群に対する抵抗性 (2017年)

供試材料	雌成虫寄生数		供試材料	雌成虫寄生数	
	個体群D	個体群E		個体群D	
しゅまり	372	346	1041(F4)	-1	8
Acc2195(標)	31	7		-2	4
Acc2195	-4	9		-4	5
	-11	23		-5	17
	-18	16		-6	7
	-20	3		-10	3
	-25	3		-11	4
	-26	18			

注1) 各データは5ポット平均値を示す。

2) Acc2195(標)は、これまで抵抗性遺伝資源の標準品種として使用してきた遺伝資源。

3) 個体群DはアズキSCN抵抗性遺伝資源に対してこれまでで最も強い寄生性を示す。

2) SCN 抵抗性選抜マーカーの開発

解析材料「しゅまり」×「Acc2766」のF2集団(128個体)の抵抗性評価を行った。MAPMAKER/EXP3.0を用いて連鎖地図を作成し、FI(Female index)に関するQTL解析(QTL cartographerによるコンポジットインターバルマッピング)を行ったところ、第9染色体上に「Acc2766」由来の抵抗性に関与するQTLが検出された(図1)。

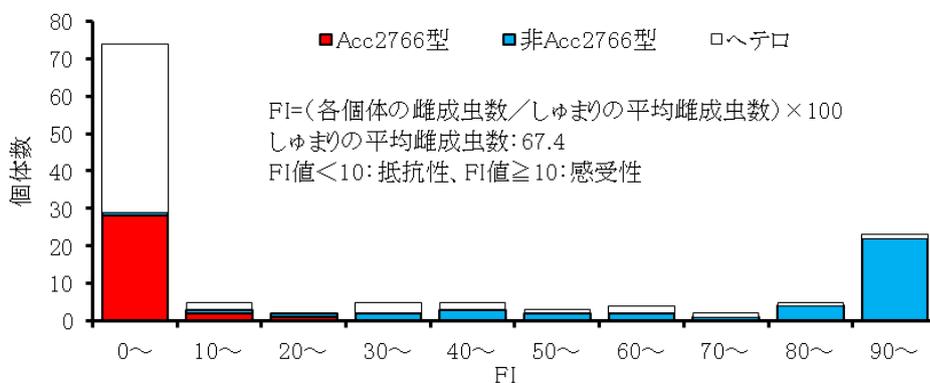


図1 F2集団のFIの頻度分布とQTL近傍のDNAマーカーの遺伝子型

現在、QTL周辺領域の塩基配列を解析し、DNAマーカーを作成中である。

3) SCN 抵抗性小豆栽培の有用性の検証

SCN発生圃場における「十系1219号」のシスト寄生程度は0~1.3で感受性品種と比較してかなり低かった(表6)。また、「Acc2766」のシスト寄生程度は0~0.1で「十系1219号」と概ね同程度であった。

全8圃場中、感受性品種栽培後にSCN密度が栽培前と比較して増加した6圃場において、「十系1219号」では31~75%栽培後のSCN密度が減少した(図1)。一方、「Acc2766」の減少率は25~61%であった。

表6 SCN抵抗性アズキ「十系1219号」のシスト寄生程度

圃場	年次	地域	栽培前 SCN密度 (卵/g乾土)	シスト寄生程度		
				十系 1219号	Acc 2766	感受性 品種 ¹⁾
A	2015	道央	4.0	0.0	0.0	2.5
B	2015	道東	91.7	0.2	0.0	64.6
C	2016	道央	177.6	1.3	0.0	63.1
D	2016	道東	304.6	0.4	0.0	49.4
E	2016	道東	25.1	0.0	0.1	67.5
F	2017	道央	6.7	0.3	0.0	15.9
G	2017	道東	10.6	0.2	0.04	71.3
H	2017	道東	94.0	N.D. ²⁾	N.D.	N.D.

注1)道央は「しゅまり」、道東は「きたろまん」を供試した。

2)未調査。

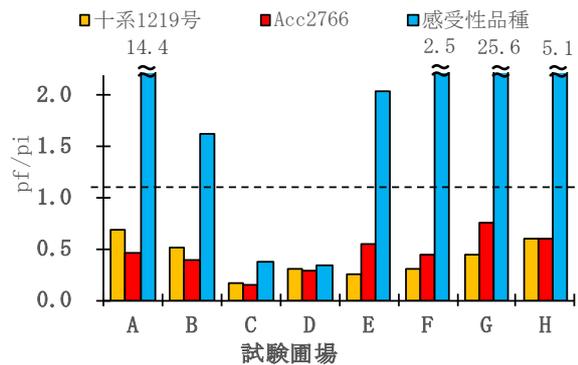


図2 小豆栽培後の土壤中SCN密度 (pf)/栽培前密度 (pi)
 図中数値は感受性品種 (道央は「しゅまり」、道東は「きたろまん」を供試) のPf/Pi値を示す。
 C~Eは小豆の生育が不良であった。
 道央: A, C, F 道東: B, D, E, G, H
 2015年: A, B 2016年: C~E, 2017年: F~H

以上のことから、「十系1219号」は「Acc2766」のSCN抵抗性が不足なく受け継がれており、本系統と同程度のSCNを有する場合、そのSCN密度低減効果から、豆類のSCN対策に極めて有用であると考えられた。

(4) 今後の課題

本研究課題で育成された材料は引き続き品種化に向けて選抜、育成を継続し品種化を目指す。安定したSCN抵抗性を有する遺伝資源、中間母本を用い、道内に広く分布するSCN個体群に対し抵抗性を有する母本を用いた品種育成を行なう。

(5) 成果の波及効果

本研究課題で供試・選抜されたSCN抵抗性系統が品種化されることにより全道のSCN発生地域において小豆の生産が安定化される。加えて、SCN抵抗性大豆を含む輪作体系を組むことにより、大豆SCNレース抵抗性を持続的に維持しながら畑作物の生産安定に寄与することが期待でき、本道の豆類栽培の振興に資することができる。

(6) 論文、特許等 特になし。