

平成 30 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 小豆の機械収穫適性を向上させる長胚軸に関する DNA マーカーの開発

2 研究実施者

研究代表者 加藤清明 帯広畜産大学 環境農学研究部門 教授

分担 長澤秀高 北海道立総合研究機構十勝農業試験場研究部小豆菜豆グループ 研究職員



3 実施期間 平成 28 年度～30 年度（3 年間）

4 試験研究の成果概要

（1）試験研究の目的

畑作農家の大規模化により一戸当たりの経営規模が大きくなると、小豆では収穫に要する作業時間が長くかかるため、小豆栽培面積比率を下げざるを得ず、栽培面積を維持できなくなります。そこで、小豆品種の機械収穫適性を向上させる必要がありますが、現行の小豆品種では、胚軸（地際から初生葉節までの長さ）が短いため着莢位置が低く、普通型コンバインによる収穫時の損失が大豆での許容程度の 5%以下に収まりません。長胚軸の特性を有する小豆系統では、着莢位置が高くなり、地上 10 cm 高以下に位置する着莢数がほとんどなくなり、普通型コンバインによる収穫時の損失を減少させることが可能です（図）。長胚軸がどのような遺伝様式であるかを明らかにすることができれば、効率的に品種開発を進められます。加えて、胚軸長は出芽時の気温の影響を受けるので、確実に本特性を有する小豆を選抜するためには長胚軸の DNA マーカーを開発する必要があります。そこで、本課題では、長胚軸系統と普通胚軸をもつ品種・系統との交配後代を用い、遺伝解析により遺伝様式を解明し、小豆ゲノム情報を利用して長胚軸系統を確実に選抜できる DNA マーカーの開発を目的として取り組みました。



普通胚軸品種 長胚軸系統

図 小豆の普通胚軸品種と機械収穫適性の高い長胚軸系統の胚軸長(白矢印)

（2）実施計画、手法

【長胚軸系統と普通胚軸品種・系統の交配後代における遺伝解析】

（平成 28～29 年度、十勝農試）

・ねらい：長胚軸と他の形質との遺伝様式と形質間の相互作用を明らかにするため、長胚軸系統と普通胚軸系統の交配後代について、胚軸長を調査し、遺伝解析を行いました。

・試験項目等：「十系 1095 号」等の長胚軸系統と普通胚軸品種・系統の交配後代 F₂～F₃ 世代について、胚軸長を調査しました。

【長胚軸系統選抜のための DNA マーカーの開発】

(平成 28～30 年度、帯広畜産大学)

・ねらい：平成 28 年度には上記で供試した交配後代から DNA を抽出し、全ゲノムをカバーする Simple Sequence Repeat (SSR) マーカーについて各個体の遺伝子型を決定し、胚軸長の長短や他の形質に關与する SSR マーカーをスクリーニングしました。また、SSR マーカーを補完するために、平成 29 年度には Restriction Site Associated DNA Sequence (RAD-seq) 解析を実施し、一塩基多型 (SNP) を DNA マーカーとして解析しました。さらに、平成 30 年度には長胚軸性に關与する SSR マーカーならびに SNP マーカー周辺について小豆ゲノム情報をもとに DNA 配列の挿入あるいは欠失変異に基づく DNA マーカー (InDel マーカー) を作製し、胚軸長の伸長に關与する遺伝子の有無をより迅速に且つ精度よく判定できるマーカーの開発に取り組みました。

・試験項目等：上記で調査した長胚軸系統と普通胚軸品種系統の交配後代について、SSR マーカー、SNP マーカー、InDel マーカーについて個体ごとの遺伝子型を決定しました。

(3) 成果の概要

【長胚軸系統と普通胚軸品種・系統の交配後代における遺伝解析】

平成 28 年度には、「十系 1095 号」(普通胚軸)と「十系 1121 号」(長胚軸)の交配組合せならびに「十系 1121 号」(長胚軸)と「十系 167 号」(普通胚軸)の交配組合せの F₂ 世代をそれぞれ、78 個体と 358 個体を供試し、十勝農業試験場において試験栽培を実施し、胚軸長を調査しました。平成 29 年度には、昨年度供試した 2 種の交配組み合わせについて F₃ 系統の胚軸長を調査しました。

【長胚軸系統選抜のための DNA マーカーの開発】

平成 28 年度には、小豆の全ゲノムをカバーする 196 種の SSR マーカーを解析しました。このうち、「十系 1095 号」と「十系 167 号」間に 26 種、「十系 1121 号」と「十系 167 号」間に 36 種でそれぞれ多型が得られました。続いて、「十系 1095 号」と「十系 167 号」間ならびに「十系 1121 号」と「十系 167 号」間の交雑組み合わせの F₂ 世代から DNA の抽出を終え、親品種系統間で多型のあった SSR マーカーの調査を終えました。その結果、両交配組合せについて、F₂ 個体の胚軸長と關連する DNA マーカー 1 種を得ることができました。これにより、交雑後代で当該

DNA マーカーについて、長胚軸型親由来の遺伝子型の個体を選抜すれば、長胚軸個体を選抜できる可能性が示されました。

平成 30 年度は、RAD-seq 解析を行い、SSR マーカーでは不十分とされたゲノムのカバー率を向上させて F₂ と F₃ の各世代で長胚軸性に関与する DNA マーカーを選定しました。これにより、平成 29 年度に特定した DNA マーカーに加えてもう一箇所の染色体部分の DNA マーカーが、長胚軸性に関与することが示されました。これにより、長胚軸性には、2 遺伝子に関与するものと結論し、それぞれの長胚軸性遺伝子の遺伝子型を推定できる SSR マーカー 1 種と SNP マーカー 1 種を特定しました。

平成 29 年度までに特定した長胚軸性遺伝子と連鎖する SSR マーカーが育成系統内で多型頻度が低かったこと、もう一方の SNP マーカーが、PCR に加えて制限酵素処理を要するために解析が煩雑で、両マーカーとも育種事業で利用する上で問題がありました。そこで、多型頻度が高く、且つアガロースゲル電気泳動で遺伝子型判定が可能である PCR ベースの InDel マーカーの開発に取り組みました。そして、当該マーカーの有効性を新たな交雑組み合わせについて、検証することとしました。

「エリモショウズ」（短胚軸）と「ほくと大納言」（長胚軸）間の交配 F₂ 世代 92 個体、ならびに「十育 161 号」（長胚軸）と「エリモショウズ」間の交配 F₂ 世代 91 個体を試験栽培し、胚軸長を調査し、各 F₂ 個体の DNA を抽出しました。続いて、F₂ 個体について、新たに作製したマーカー A とマーカー B の遺伝子型を解析し、両親型ホモ接合の個体群間で胚軸長の長さを比較しました。「エリモショウズ」と「ほくと大納言」間の F₂ では、マーカー A、「十育 161 号」（長胚軸）と「エリモショウズ」間の F₂ では、マーカー A と B について、有効性が示されました。

(4) 今後の課題

開発した DNA マーカーを活用して機械化収穫適性を高めた新品種の開発。

(5) 成果の波及効果

本事業で開発した 2 種類の DNA マーカーを育種事業で活用することで、より短期間に機械収穫適性を改良した品種が開発されて、生産現場に普及するものと期待できます。

(6) 論文、特許等

【学会発表】

1. アズキの百粒重と節間長に関わる QTLs の特定. 森正彦、川合のどか、長澤秀高、加藤清明. 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会会報 59 (2018)
2. 長胚軸性アズキの選抜マーカーの開発. 川合のどか、森正彦、長澤秀高、加藤清明. 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会会報 59 (2018)
3. アズキの胚軸長に関わる遺伝子座の特定. 森正彦、河原大悟、山崎絵里、永野惇、佐藤仁、加藤清明. 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会会報 58 (2017)