

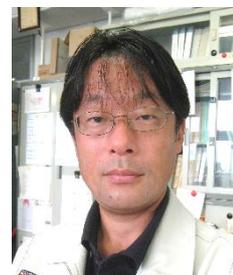
令和元年度終了 豆類振興事業助成金（試験研究）の成果概要

1 課題名 アズキ茎疫病圃場抵抗性 DNA マーカー選抜を利用した
道央道南向け小豆品種開発強化

2 研究実施者

研究代表者 北海道立総合研究機構 中央農業試験場
作物開発部 作物グループ 主査 井上 哲也

分担 同上 中央農業試験場 作物開発部 生物学グループ
上川農業試験場 研究部 地域技術グループ
十勝農業試験場 研究部 小豆菜豆グループ



3 実施期間 平成 29 年度～令和元年度（3 年間）

4 試験研究の成果概要

（1）試験研究の目的

先に開発した「Acc1398」由来の茎疫病圃場抵抗性 DNA マーカーの有効性を検証するとともに、十勝農試における小豆品種改良を強化し、道央・道南地域向けの高品質で多収な茎疫病圃場抵抗性を有する小豆系統を選抜することで小豆品種を早期に開発・普及し、国内最大の産地として道産小豆の安定供給に努める。

（2）実施計画、手法

1) 茎疫病圃場抵抗性 DNA マーカーの有効性の検証と選抜（中央農試、上川農試）

①茎疫病圃場抵抗性 DNA マーカーの有効性の検証（H29～R1）

ねらい：圃場抵抗性“強”である「Acc1398」由来の育成材料を用いて、圃場検定による結果により DNA マーカーの選抜精度を確認するとともに選抜を行う。

供試材料：「Acc1398」由来の茎疫病圃場抵抗性を有する F5 世代系統 2～6 組合せ。

試験方法

接種条件：水田において 5 月下旬～6 月上旬に播種。7 月下旬～8 月上旬までは通常栽培を行い、7 月下旬～8 月上旬に培養増殖した複数レースの茎疫病菌体を圃場内にばらまき、湛水処理を 1 回実施。排水後、発病状況を確認し調査を行う。

調査方法：調査時に各区の個体ごとに以下の基準に基づき発病調査を行い、発病度を算出する。指数 0：発病が認められない、1：僅かな発病が認められる、2：進展性のある病徴が認められる、3：茎の半分程度が萎凋か枯死、4：枯死

発病度 = $(\sum (\text{指数} \times \text{当該個体数}) / (4 \times \text{調査個体数})) \times 100$

②「十育 170 号」が保有する茎疫病抵抗性領域の探索（R1）

ねらい：「十育 170 号」が持つ茎疫病レース 3 抵抗性領域を探索する。

供試材料：「十育 170 号」×「エリモ 167」F3 世代 95 系統。

* 「十育 170 号」：茎疫病圃場検定において累年で安定した抵抗性を示す有望系統

試験方法および調査方法

茎疫病菌レース 3 菌株 (IW1-11) をアズキ幼苗に浸根接種し、2 週間後に病徴を観察。全個体が感染した 9 系統 (感受性ホモ系統)、感染個体が多かった 8 系統 (抵抗性ホモ系統) について、バルク DNA を作成。抵抗性バルクと感受性バルクの SNP を比較し、抵抗性領域を探索した。

2) 道央・道南地域に適した安定多収系統の選抜と地域適応性検定 (中央農試、十勝農試) (H29~R1)

ねらい：道央・道南地域に適した茎疫病菌圃場抵抗性を持つ高品質多収系統を育成する。

供試材料および試験設計

①交配：10~11 組合せ

②集団選抜：F2 世代 8~10 組合せ、株間 10cm、1 粒播き

F3 世代 5~7 組合せ、株間 10cm、1 粒播き

③個体選抜：F4 世代 8~11 組合せ、株間 10cm、1 粒播き

④系統選抜試験：F5 世代 9~11 組合せ約 250~300 系統および 4 比較品種 (エリモ 167、しゅまり、きたあすか、とよみ大納言)、反復なし、一区面積 2.04 m²

⑤小規模生産力検定予備試験：F6 世代 7~10 組合せ 49~70 系統および 4 比較品種 (同上)、乱塊法 2 反復、一区面積 4.1 m²

⑥系統適応性検定試験：F7 世代以降 19~23 系統および 5 比較品種 (上記 4 品種およびほまれ大納言)、乱塊法 3 反復、一区面積 6.3 m²

調査項目：草姿、成熟期、倒伏程度、主茎長、百粒重、屑粒率、外観品質など

3) アズキ茎疫病菌圃場抵抗性の系統選抜と特性検定 (上川農試) (H30~R1)

ねらい：「Acc1398」由来以外の圃場抵抗性を有する系統について選抜、検定を行う。

供試材料および試験設計

①F4 世代雑種集団茎疫病菌圃場抵抗性検定試験：F4 世代 5~10 組合せおよび 5 比較品種 (エリモショウズ、しゅまり、十育 150 号、能登小豆、十系 1077 号)、H29 4 反復 1 区 300 個体、H30~R1 2 反復 1 区 3.0m²

②F5 世代系統茎疫病菌圃場抵抗性検定試験：F5 世代 5~11 組合せ 184~275 系統および 5 比較品種 (同上)、反復なし、一区面積 0.6m²

③F6 世代系統茎疫病菌圃場抵抗性検定試験：F6 世代 5~8 組合せ 20~35 系統および 5 比較品種 (同上)、分割区法 4 反復、一区面積 0.6m²

④茎疫病菌圃場抵抗性検定：地方配付 3~6 系統、育成 8~13 系統および 9 比較品種 (エリモショウズ、しゅまり、十育 150 号、ちはやひめ、十育 149 号、能登小豆、十系 1077 号、Acc832、Acc1398)、乱塊法 4 反復、一区面積 1.2m²

試験方法

1) -①と同じ

4) 道央・道南地域に適した系統の中期世代以降の加工適性検定 (十勝農試)

ねらい：製あん特性の優れた系統を選抜するため、中央農試産の中期世代以降系統の加工適性を検定する。

供試材料

- ①F6 世代系統：小規模生産力予備試験の成績が良好な 21～31 系統および 5 比較品種（エリモ 167、しゅまり、きたあすか、とよみ大納言、ほまれ大納言）
- ②育成系統：中央農試に供試した 22～23 系統および 5 比較品種（同上）
- ③有望系統：中央農試産有望系統 3～6 系統および 4 比較品種（エリモ 167、しゅまり、きたのおとめ、とよみ大納言）（H29 は十勝農試産も含む）

試験方法：原料 50g に 150mL の水を加え 98℃20～40 分間前炊き、洗切り後 200g の水を加え 98℃90～110 分間本炊き（大納言は本炊き 120 分間）。煮熟豆をつぶした後、15 分攪拌し、#60 の篩で呉を除き、生あんを取り出し、2L の水で 15 分 3 回さらしを行い、濾布を用い遠心分離機により脱水し、約 60%水分の生あんを生成。

（3）成果の概要

1）茎疫病圃場抵抗性 DNA マーカーの有効性の検証と選抜（中央農試、上川農試）

① 茎疫病圃場抵抗性 DNA マーカーの有効性の検証（H29～R1）

3 年間で 12 組み合わせ、440 系統を供試し、DNA マーカーの有効性を検証した。H29 年および R1 年度は茎疫病圃場抵抗性マーカーの有効性が認められたが（表 1）、H30 年度では判然としなかった。

② 「十育 170 号」が保有する茎疫病抵抗性領域の探索（R1）

抵抗性および感受性のバルク DNA を GRAS-Di を用いたゲノムワイド SNPs 検出に供試した結果、第 9 染色体に抵抗性バルクに特異的な SNP が複数検出された。そこで、解析材料で種子が残っていた 71 系統を用いて再度接種試験を行い、抵抗性領域近傍にある SSR マーカーの遺伝子型と接種結果を比較したところ、57 系統で遺伝子型と接種結果が一致し、抵抗性遺伝子と連鎖している可能性が示唆された（表 2）。

2）道央・道南地域に適した安定多収系統の選抜と地域適応性検定（中央農試、十勝農試）

十勝農試において、3 カ年で 32 組み合わせの交配を行い 1,877 粒の種子を獲得し、個体選抜（F4 世代）で 2,647 系統を選抜した（表 3）。

中央農試において 3 年間で、系統選抜（F5 世代）809 系統、小規模生産力予備試験（F6 世代）170 系統、系統適応性試験（F7 世代以降：十系系統）65 系統を供試し、有望 4 系統を選抜した（表 3、4）。

3）アズキ茎疫病圃場抵抗性の系統選抜と特性検定（上川農試）

3 年間で系統選抜に F4 世代雑種集団 25 組み合わせ、F5 世代 728 系統、F6 世代 83 系統を供試した。系統特性検定試験では延べ 39 系統を供試し、うち 31 系統を茎疫病圃場抵抗性“中”以上と評価した（表 3、4）。

4) 道央・道南地域に適した系統の中期世代以降の加工適性検定（十勝農試）

中央農試産および十勝農試産生産物を用い、有望系統について製あん試験を実施し、延べ13系統の加工適性検定を行った。加えて、小規模生産力予備試験供試の81系統、系統適応性試験供試の65系統について製あん試験を行い、あん粒子径や生あん色から加工適性の検定を行った（表3、4）。

5) まとめ

「Acc1398」由来の茎疫病圃場抵抗性DNAマーカーは、組合せによって十分な有効性が確認できない場合もあった。第9染色体に「十育170号」が保有する茎疫病レース3抵抗性に関わる遺伝子が座乗していると推測された。

育成された有望系統「十育176号」は茎疫病圃場抵抗性“中”に加え、茎疫病レース1、3、4抵抗性を有し、「エリモ167」に比べ子実重110%と多収であった。「十育177号」は茎疫病圃場抵抗性“弱”であるが、茎疫病レース1、3、4抵抗性を有し、「とよみ大納言」に比べ子実重106%とやや多収であった。「十育178号」は茎疫病圃場抵抗性“強”を有している。「十育179号」は茎疫病圃場抵抗性“弱”であるが、茎疫病レース1、3、4抵抗性を有し、「エリモ167」に比べ子実重110%と多収であった（表4、育性系統の特性は暫定）。

表1 「Acc1398」を片親とするF5世代2組合せの遺伝子型と圃場検定結果(R1)

組合せ	遺伝子型		系統数	発病度平均	
	第8染色体	第9染色体		8/15	8/22
十交1535	A	A	1	0.0	0.0
（「きたろまん」 ×「Acc1398」）	A	B	3	0.0	0.6
	B	A	7	2.1	2.3
	B	B	2	6.1	18.3
十交1535R	A	A	5	0.7	2.8
（「Acc1398」 ×「きたろまん」）	A	B	2	0.0	4.8
	B	A	10	6.6	16.1
	B	B	6	11.5	28.1

注1) 遺伝子型のAは「Acc1398」型、Bは「きたろまん」型を示す。

表2 「十育170号」×「エリモ167」F3系統の遺伝子型と接種結果(R1)

遺伝子型	接種結果			
	抵抗性ホモ	分離	感受性ホモ	不明
十育170号型	21	4	0	0
分離	3	27	0	2
エリモ167型	3	2	9	0

注) 塗りつぶしは遺伝子型と接種結果が一致したもの

表3 年次別試験供試数・選抜数

試験名	世代等	平成29年		平成30年		平成31年		
		供試	選抜	供試	選抜	供試	選抜	
交配および 初期集団選抜 (十勝農試)	交配	組合せ	11組合せ	846粒	10組合せ	572粒	11組合せ	459粒
	集団選抜	F2世代	8組合せ		12組合せ		10組合せ	
		F3世代	7組合せ		5組合せ		5組合せ	
		F4世代	11組合せ	785個体	10組合せ	750個体	8組合せ	1,112個体
系統選抜 および 生産力試験 (中央農試)	系統選抜	F5世代	266系統	79系統	295系統	72系統	248系統	70系統
	小規模生産力予備試験	F6世代	70系統	13	51系統	11	49系統	10
	系統適応性検定試験	F7世代	19系統	7	23系統	11	23系統	9
	選抜有望系統			十育176号 十育177号		十育178号 十育179号		—
茎疫病 圃場抵抗性 選抜・検定 (上川農試)	集団選抜	F4世代	5組合せ		10組合せ		10組合せ	
	系統検定試験	F5世代	269系統		184系統		275系統	
		F6世代	20系統		35系統		28系統	
		十系 十育	13系統 3系統	10 2	4系統 6系統	4 5	8系統 5系統	7 3
加工適性検定 (十勝農試)	中央農試産 十勝農試産	F6世代	21系統		31系統		29系統	
		十系	19系統		23系統		23系統	
		十育	3系統		6系統		4系統	
		十育	3系統		—		—	

表4 試験期間中に選抜した有望系統

年次	種類	品種 または 系統名	病害抵抗性				成 熟 期 月日	倒伏 程度 0-4	主 茎 長 cm	子 実 重 kg/10a	標 準 品 種 比 %	百 粒 重 g	屑 粒 率 %	生あん色			あん 粒子 径 μm	
			茎疫病		圃場	判定								L*値	a*値	b*値		
			レース	圃場														
H29	普通	十育176号 (十系1283号)	R	R	R	19.3	中	9.10	1.5	71	521	110	18.1	5.2	38.21	9.45	8.31	130
	大納言	十育177号 (十系1289号)	R	R	R	24.2	弱	9.15	2.7	67	492	106	28.3	8.5	39.55	10.65	10.69	146
	普通	エリモ167	S	S	S	37.1	弱	9.14	2.5	78	474	100	15.3	5.1	38.91	9.22	8.16	119
H30	普通	十育178号 (十系1241号)	R	R	R	0.6	強	9.26	1.5	46	360	101	16.2	5.8	36.57	8.95	7.86	125
	普通	十育179号 (十系1252号)	R	R	R	50.0	弱	9.29	2.2	53	392	110	17.6	4.8	38.10	9.40	8.11	117
	普通	エリモ167	S	S	S	52.3	弱	9.25	3.0	54	356	100	14.3	5.6	38.51	8.55	7.16	111

注1) 病害抵抗性: 斜体字は可能性があるが未検定。Rは抵抗性、Sは感受性。圃場抵抗性は、選抜翌年の特性検定結果。育性系統の特性は暫定。

2) 標準品種比: 普通小豆は「エリモ167」、大納言小豆は「とよみ大納言(データ省略)」の子実重を100としたときの子実重対比

3) あん粒子径: 島津社製レーザー回折式粒度分布測定装置SALD-200V ERIによる平均粒子径

4) 生あん色: 75%水分に調整した生あんをミノルタ社製MS-5により測定(D65光源、SCE、10°視野)

(4) 今後の課題

本課題で選抜された材料については、引き続き品種化に向けた試験を継続する。育成された有望系統は、道内農業試験場、優良品種決定現地試験や各種特性検定試験、実需者による加工適性評価試験などに供試し、北海道の優良品種化を目指す。

また、「十育170号」が有する茎疫病抵抗性に関係するDNAマーカーの開発を行う。

(5) 成果の波及効果

本課題で選抜された有望系統は、道央・道南地域での栽培に求められる栽培特性、茎疫病抵抗性に加え、優れた加工適性を有することが期待できる。選抜された有望系統が品種化され、地域に普及することで、小豆生産の安定化に寄与する。

(6) 論文、特許等

- ・日本育種学会・日本作物学会北海道談話会(2019)に発表
- ・日本育種学会第137回講演会(2020)にポスター発表