# 平成２３年度　成績概要書

**研究課題コード：６１０１－６９２３９１（公募型研究）、１１２２３２（道費研究）**

## １．研究成果

**１）研究成果名**：アズキ落葉病抵抗性選抜に有効なDNAマーカーの開発
（予算課題名：複数病害に対して持続的に抵抗性を示す小豆品種の開発強化（H19-22））
（予算課題名：小豆の病害複合抵抗性品種の開発強化（H14-18））

**２）キーワード**：DNAマーカー、小豆、アズキ落葉病、抵抗性育種

**３）成果の要約**：本研究によって開発したアズキ落葉病菌レース1、3抵抗性遺伝子*Pga1*、およびレース1、2抵抗性*Pga2*と連鎖したDNAマーカーを利用することによって、効率的かつ高精度にアズキ落葉病抵抗性系統を選抜することができる。

## ２．研究機関名

**１）担当機関・部・グループ・担当者名**：中央農試・生物工学G・鈴木孝子、十勝農試・豆類G

**２）共同研究機関（協力機関）**：なし

## ３．研究期間：平成14～23年度（2002～2011年度）

## ４．研究概要

**１）研究の背景**

アズキ落葉病は、収量と品質に大きく影響する深刻な土壌伝染性病害であり、本病発生圃場を利用した選抜により抵抗性品種の育成が行われてきた。しかし、発生圃場を利用した選抜は、汚染土壌の拡散防止に注意が必要なことに加え、発病助長のために短期輪作で圃場を利用したため、抵抗性系統の作付け増加に伴って優占レースに変化が生じ、目的とする病原レースに対する抵抗性を正確に判定できない場合があった。さらに本病害は感染から発病までにおよそ2～3ヶ月と時間を要するため、簡便で高精度な抵抗性判別法が求められていた。

**２）研究の目的**

簡便かつ高精度にアズキ落葉病抵抗性を判定できるDNAマーカーを開発し、有効性を検証する。

## ５．研究方法

１）アズキ落葉病抵抗性遺伝子と連鎖したDNAマーカーの開発
・ねらい　*Pga1*および*Pga2*とそれぞれ連鎖したDNAマーカーを開発する。
・試験項目等（１）「しゅまり」（*Pga1*保持）および「Acc259」（*Pga2*保持）を利用したDNAマーカーの開発（２）育成系統および遺伝資源を用いたDNAマーカーの有効性検証
２）アズキ落葉病抵抗性遺伝子とアズキ萎凋病抵抗性遺伝子の関係解明
・ねらい　開発したDNAマーカーがアズキ萎凋病抵抗性選抜にも応用できるかを検討する。
・試験項目等　（１）アズキ落葉病抵抗性遺伝子とアズキ萎凋病抵抗性遺伝子の連鎖解析

## ６．研究の成果

１）「しゅまり」由来のアズキ落葉病菌レース1､3抵抗性遺伝子*Pga1*、「Acc259」由来のアズキ落葉病菌レース1、2抵抗性遺伝子*Pga2*の有無を判定できるDNAマーカーを開発した（図1、図2）。

２）開発したDNAマーカーを利用すると、99%以上の精度で抵抗性遺伝子の有無を判定でき、1日あたり200系統の検定が可能であった（表1）。これにより、圃場での中期世代の抵抗性選抜を省略でき、育種の大幅な効率化が実現できた。また、本マーカーはアズキ落葉病菌各種レースに対して同じ抵抗性反応を示す複数の遺伝資源およびその後代にも適用可能であった（表2）。

３）*Pga1*保持系統と*Pga2* 保持系統の交配後代230系統をもちいた検定の結果、両抵抗性遺伝子を併せ持つ系統は出現しなかったことから、二つの抵抗性遺伝子は対立遺伝子あるいは強連鎖している可能性がある。

４）4278個体の$F_2$集団を調査した結果、*Pga1*と「しゅまり」由来のアズキ萎凋病抵抗性遺伝子(*Rfoa1*)は強連鎖していると推察され、開発したDNAマーカーで同時に選抜することが可能であった。一方で*Pga2*と「Acc259」由来のアズキ萎凋病抵抗性遺伝子(*Rfoa2*)は独立していた。

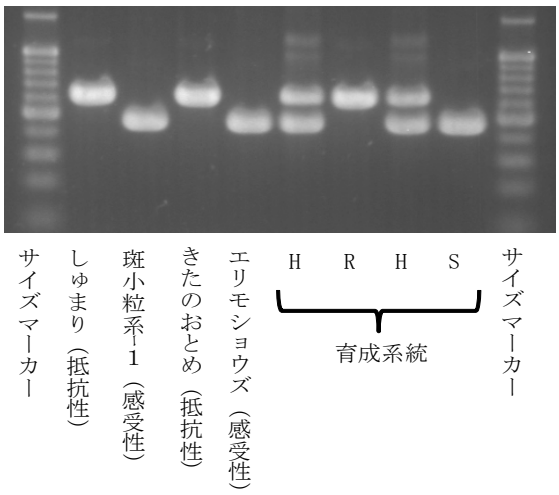


図１　Pg118（*Pga1*判別マーカー）を利用した検定結果

注）　R：抵抗性　H：ヘテロ　S：感受性

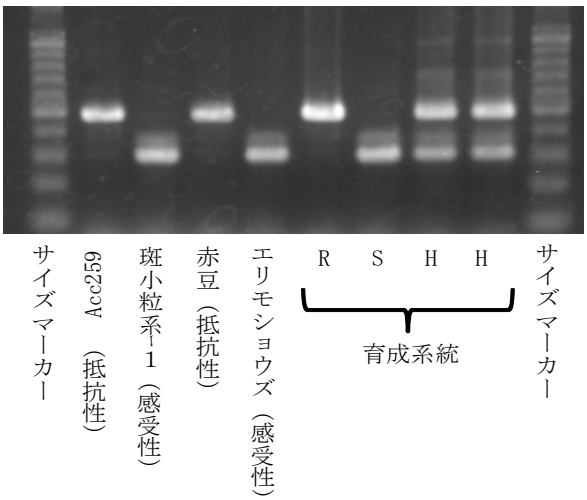


図2　Pg204（*Pga2*判別マーカー）を利用した検定結果

注）　R：抵抗性　H：ヘテロ　S：感受性

表1　アズキ落葉病抵抗性検定法の比較

| 比較項目 | 検定方法 | | |
|---|---|---|---|
| | 落葉病検定圃場利用 | 人工接種法 | DNAマーカー |
| 判定方法 | 8月下旬～9月上旬の病徴 | 病徴および茎切断面の褐変 | PCRによる増幅断片 |
| 検定に要する期間 | 播種後3ヶ月程度 | 接種後2～3ヶ月 | 1日（200点） |
| 問題点 | 1年に1回しか検定できない<br>優占レースが変化する場合がある | 一度の検定における供試点数は、温室のスペースに影響され、100点前後 | 特になし |

表2　DNAマーカーを利用した判定結果とアズキ落葉病、萎凋病接種検定結果

| 品種・系統名 | DNAマーカーによる判定結果 | | アズキ落葉病接種検定結果 | | | アズキ萎凋病接種検定結果 | 抵抗性由来 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *Pga1* | *Pga2* | レース１ | レース２ | レース3 | | |
| しゅまり[注1)] | ＋ | － | R | S | R | R | 黒小豆（岡山） |
| Acc259[注2)] | － | ＋ | R | R | S | R | |
| 斑小粒系-1[注3)] | － | － | S | S | S | S | |
| 黒小豆（岡山） | ＋ | － | R | S | R | R | |
| 円葉（刈63号） | ＋ | － | R | S | R | R | |
| 小長品-10 | ＋ | － | R | S | R | R | |
| きたのおとめ | ＋ | － | R | S | R | R | 円葉（刈63号） |
| 赤豆 | － | ＋ | R | R | S | R | |
| 十育159号 | － | ＋ | R | R | S | S | Acc259 |
| エリモショウズ | － | － | S | S | S | S | |

注１）「しゅまり」は*Pga1*の有無を判定するDNAマーカー開発に利用した抵抗性親
注２）「Acc259」は*Pga2*の有無を判定するDNAマーカー開発に利用した抵抗性親
注３）「斑小粒系-1」は両DNAマーカー開発時に利用した感受性親
注４）＋：抵抗性遺伝子保持固定型　－：抵抗性遺伝子非保持固定型　　注５）R：抵抗性　S：感受性

## ７．成果の活用策

### １）成果の活用面と留意点

（１）DNAマーカーを用いた効率的なアズキ落葉病抵抗性系統の選抜に活用できる。

（２）*Pga1*の有無を判定するDNAマーカーを利用すると、アズキ萎凋病抵抗性系統も選抜できる。

### ２）残された問題とその対応

なし。