



Title	アズキ落葉病抵抗性遺伝子と連鎖したDNAマーカーの開発とその有効性に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	鈴木, 孝子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第11386号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55786
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Takako_Suzuki_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称： 博 士（農学）

氏名 鈴 木 孝 子

学 位 論 文 題 名

アズキ落葉病抵抗性遺伝子と連鎖した DNA マーカーの開発と

その有効性に関する研究

アズキ落葉病は土壌伝染性の重要病害で、薬剤防除が難しく、長期輪作以外には抵抗性品種の作付けによる被害回避がもっとも効果的である。本病害は感染から発病までにおよそ2～3ヶ月と時間を要し、発病までの管理に労力が必要であった。また発生圃場を利用した選抜では、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するため、抵抗性系統の作付け増加にともな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。以上のことより、簡便で高精度な抵抗性判定法が求められていた。本研究では、北海道で多く分布しているアズキ落葉病菌レース1に対する抵抗性遺伝子と連鎖したDNAマーカーとともに、新たに発生が確認されたアズキ落葉病菌レース2に対する抵抗性遺伝子と連鎖したDNAマーカーを開発し、品種改良における有効性を検証した。また、アズキ落葉病菌レース1抵抗性遺伝子およびレース2抵抗性遺伝子とアズキ萎凋病抵抗性遺伝子との関係を明らかにした。その概略は以下の通りである。

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

(1) レース1抵抗性遺伝子 (*Pga1*) と連鎖した DNA マーカーの開発

アズキ落葉病菌レース1抵抗性の「しゅまり」と同感受性の「斑小粒系-1」の交配後代を利用して試験を行った。バルク法を利用した AFLP 解析によって、抵抗性バルクと感受性バルク間で多型を示した5つの AFLP マーカーを探索し、得られた増幅断片およびその周辺配列の領域を利用してアガロースゲルの DNA マーカーを開発した。開発した5つの DNA マーカーの中から、抵抗性遺伝子に最も近く、育種において適用範囲が広いと推察された Pg118 をホモ接合型、ヘテロ接合型の区別が可能な共優性マーカーに改良した。

「しゅまり」×「斑小粒系-1」の F₂ 大規模集団 4278 個体を用いた試験においても Pg118 の遺伝子型とレース1抵抗性検定結果は一致しており Pg118 は非常に高精度な DNA マーカーであると考えられた。

育成品種・系統を調査した結果、Pg118 による遺伝子型が「しゅまり」（抵抗性）型なのは、「赤豆」、「Acc259」および「Acc2515」およびその後代を除いてアズキ落葉病菌レース1抵抗性を示した。このことにより、これまで育種で利用されてきた「小長品-10」「円葉（刈63号）」などは「しゅまり」や「黒小豆（岡山）」と同様の抵抗性遺伝子 *Pga1* を有する可能性が高いと考えられた。また十勝農業試験場で保有している遺伝資源の中で、アズキ落葉病抵抗性の可能性があった209点についての Pg118 による遺伝子型スクリーニングと落葉病菌レース1、2、3による接種試験の結果、56点が *Pga1* を保持していると推察された。

一方でアズキ落葉病レース1かつレース2抵抗性である「赤豆」および「Acc259」などは、Pg118 の遺伝子型は「斑小粒系-1」型となり、その抵抗性と遺伝子型が一致しなかったことから *Pga1* 以外の抵抗性遺伝子を持っている可能性が高いと考えられた。

(2) レース2抵抗性遺伝子 (*Pga2*) と連鎖した DNA マーカーの開発

アズキ落葉病菌レース2抵抗性の「Acc259」と同感受性の「斑小粒系-1」の交配後代を利用して試験を行った。バルク法を利用した AFLP 解析によって、抵抗性バルクと感受性バ

ルク間で多型を示した 4 つの AFLP マーカーを探索した。レース 1 抵抗性判別マーカーではる Pg118 を利用した系統検定の結果から、*Pga1* と *Pga2* は強連鎖あるいは対立遺伝子である可能性が高かったことから、連鎖解析は行わず「Acc259」の Pg118 対立座領域を利用して「Acc259」を判別できる優性マーカーPg118(R2)を設計した。またその配列情報からプライマーを設計しやすいと判断した Pg204 を共優性マーカーとした。二つの DNA マーカーは *Pga2* と 1cM 以下で連鎖しており、育種における抵抗性選抜においては十分の精度であると推察された。

F₃ 個体および育成系統を利用した調査の結果 Pg204 と Pg118 (R2) の遺伝子型およびアズキ落葉病菌レース 2 抵抗性は一致していた。また十勝農業試験場で保有している遺伝資源の中で、アズキ落葉病抵抗性の可能性があった 209 点について Pg204 の遺伝子型による判別と落葉病菌レース 1、2、3 の接種結果より、21 点が *Pga2* を保持していると推測された。

(3) *Pga1* と *Pga2* の関係

「しゅまり」×「斑小粒系-1」の F₂ 世代 140 個体を供試した連鎖解析の結果、*Pga1* と強連鎖している DNA マーカーである Pg118 と *Pga2* と強連鎖している DNA マーカーである Pg204 は第 3 連鎖群の末端の同じ位置にマップされた。また、*Pga1* 保持系統と *Pga2* 保持系統の交配後代からは、二つの抵抗性遺伝子を保持した系統は得られなかった。以上のことより *Pga1* と *Pga2* は対立遺伝子であり、二つの抵抗性遺伝子を同時に保持させることは困難であると推察された。

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

育成系統・品種の Pg118 の遺伝子型とアズキ萎凋病菌レース 3 抵抗性(以下萎凋病抵抗性)は一致していた。また「しゅまり」×「斑小粒系-1」の F₂ 世代 192 個体で解析を行った結果、萎凋病抵抗性は優性の 1 遺伝子に支配されており、Pg118 の遺伝子型がヘテロ型あるいは「しゅまり」(落葉病レース 1 および萎凋病抵抗性)型の個体は 1 個体を除いて萎凋病抵抗性を示し、「斑小粒系-1」(落葉病レース 1 および萎凋病感受性)型はすべて感受性となった。このことより *Pga1* と「しゅまり」由来のアズキ萎凋病抵抗性遺伝子 *Rfoa1* は同一あるいは強連鎖していると考えられた。一方で「Acc259」×「斑小粒系-1」の F₂ 世代 306 個体の調査の結果、「Acc259」由来の萎凋病抵抗性は優性の 1 遺伝子に支配されているが、Pg204 の遺伝子型とは一致せず、「Acc259」由来の萎凋病抵抗性遺伝子 *Rfoa2* は *Pga2* とは独立して遺伝することが示唆された。*Pga1* と *Pga2* が対立遺伝子であること、第 3 連鎖群末端は報告されているマーカーが少なく組み換え頻度が低い可能性があることから、*Pga1* と *Rfoa1* は同一遺伝子ではなく連鎖している可能性が高いと考えられた。