

課題分類：

研究課題：ダイズシストセンチュウ・レース 1 抵抗性に関する

DNA マーカー選抜法の開発

（ダイズのシスト線虫抵抗性（レース 1）DNA マーカーの開発（平成 11～13 年度））

（ダイズの DNA マーカー選抜による複合障害抵抗性系統の早期選抜（平成 14～15 年度））

担当部署：十勝農試・作物研究部・大豆科

担当者名：

協力分担：

予算区分：国費受託（DNA マーカープロジェクト）

研究期間：1999～2003 年度（平成 11～15 年度）

1. 目的

ダイズシストセンチュウは大豆の土壌病害虫であり、その化学的、耕種的防除は困難であるため抵抗性品種が必要である。現在、道内で被害が拡大傾向にあるレース 1 への抵抗性は、関与する遺伝子座が 4 対(*rhg1*, *rhg2*, *rhg3*, *rhg4*)と多く、抵抗性の選抜には時間と労力がかかる。そこで、抵抗性選抜に用いる DNA マーカーを開発し、レース 1 抵抗性品種の早期育成のための選抜技術法の開発を行った。

2. 方法

- 1) レース 1 抵抗性の遺伝解析：解析集団 TC9703「十系 758 号(感受性)×To-8E(PI84751 由来レース 1 抵抗性)」のレース 1 抵抗性検定を行い、遺伝様式を推定した。
- 2) マーカーの探索：QTL 解析および RILs(組換え自殖系統)によるグラフ遺伝子型の比較により、レース 1 抵抗性の 4 遺伝子座に連鎖する近傍マーカーを選定した。
- 3) マーカーの適用性評価：4 領域の近傍マーカーの 92 品種・系統への適用性および「下田不知系レース 3 抵抗性×レース 1 抵抗性」の組合せにおけるマーカー選抜の適用性を評価した。
- 4) 選抜技術の開発：*rhg1*, *rhg4* 座の近傍マーカーを用いて「下田不知系レース 3 抵抗性×レース 1 抵抗性」の組合せの F₂ 集団および連続戻し交配系統を選抜した。
- 5) DNA マーカー選抜の適用性と残された課題について検討した。

3. 成果の概要

- 1) 解析集団のレース 1 抵抗性は、既存の報告どおり 4 遺伝子座支配（優性 1 対劣性 3 対）の遺伝様式に適合した。
- 2) QTL 解析、RILs のグラフ遺伝子型の解析によりレース 1 抵抗性の 4 遺伝子座に連鎖すると考えられるマーカーを見いだした〔*rhg1* 座(連鎖群 G) : Satt309、*rhg2* 座(B1) : Satt359、*rhg3* 座(D2) : Sat_022、*rhg4* 座(A2) : Satt632〕(表 1)。なお、*rhg2* と *rhg3* は暫定的な定義である。
- 3) 92 品種・系統を用いて、レース 1 抵抗性 4 遺伝子座近傍のマーカーの適用性を検討した結果、*rhg1* 座と *rhg4* 座の近傍マーカーは適用性が高いと判断されたが、*rhg2* 座と *rhg3* 座の近傍マーカーは遺伝子型と抵抗性の適合度が低く適用性が低いと判断された。
- 4) *rhg1* 座にはレース 1 抵抗性型とレース 3 抵抗性型の複対立遺伝子の存在が示唆された。
- 5) レース 1 抵抗性の 4 遺伝子座のうち *rhg4* 座を除く 3 座がレース 3 抵抗性に関与すること、*rhg1* 座にはレース 1 抵抗性型とレース 3 抵抗性型の複対立遺伝子が存在することから、「下田不知系レース 3 抵抗性×レース 1 抵抗性」の交配後代について、*rhg1* 座と *rhg4* 座の 2 領域の近傍マーカーで抵抗性個体を選抜可能であった。
- 6) 「十系 871 号（レース 1 抵抗性）/十育 233 号//十育 233 号（下田不知系レース 3 抵抗性）」のマーカー選抜を利用した連続戻し交配を行い(図 1)、マーカー選抜した BC₃F₂19 個体中、抵抗性の 14 個体を得た(表 2)。戻し交配の途中段階では、*rhg4* 座は Satt632 で選抜可能であったが、*rhg1* 座は Satt309 だけでなく、周辺マーカー（Satt163 と Sat_141）の遺伝子型についても確認して選抜する必要があった(表 2)。
- 7) 上記のマーカー選抜法は、現状の選抜技術では連続戻し交配によるレース 3 抵抗性有望系統へのレース 1 抵抗性の早期導入に有効と考えられた。

表 1 TC9703 の QTLs (F_2) と RILs ($F_{2:6}$) のグラフ遺伝子型(抵抗性系統を抜粋)

連鎖 群	距離 (cM)	TC9703 F ₂				TC9703 RILs F _{2:6} (十系 758 号/To-8E) の系統番号																遺伝子 座の 推定
		相 加 効 果	寄 与 率 (%)	LOD	抵抗性	84	91	131	206	238	51	121	158	67	79	178	192	98	72			
セルトレイ検定結果						レース1抵抗性	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	<i>rhg1</i>	
					レース3抵抗性	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R			
G Satt309	9.3	-15.0	34	8.2		B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	<i>rhg4</i>			
Sat_141	-	-14.9	31	7.4		B	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	B				
A2 Satt632	3.4	- 6.8	9	1.9		B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	A	<i>rhg2</i>			
Sat_162	-	- 6.2	8	1.6		C	C	C	C	C	C	C	C	C	-	A	A	A				
B1 Sat_123	2.3	-10.4	15	3.1		C	C	C	C	C	C	C	C	C	A	C	C	C	<i>rhg3</i>			
Satt359	-	- 9.9	13	2.8		B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B				
D2 Sat_022	13.3	-	-	-		B	B	B	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	<i>rhg3</i>			
Sct_220	-	-	-	-		B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	A				

注) 遺伝子型は A:十系 758 号型(S)、B:To-8E 型(R1)、C:B 型またはヘテロ型(優性マーカー)

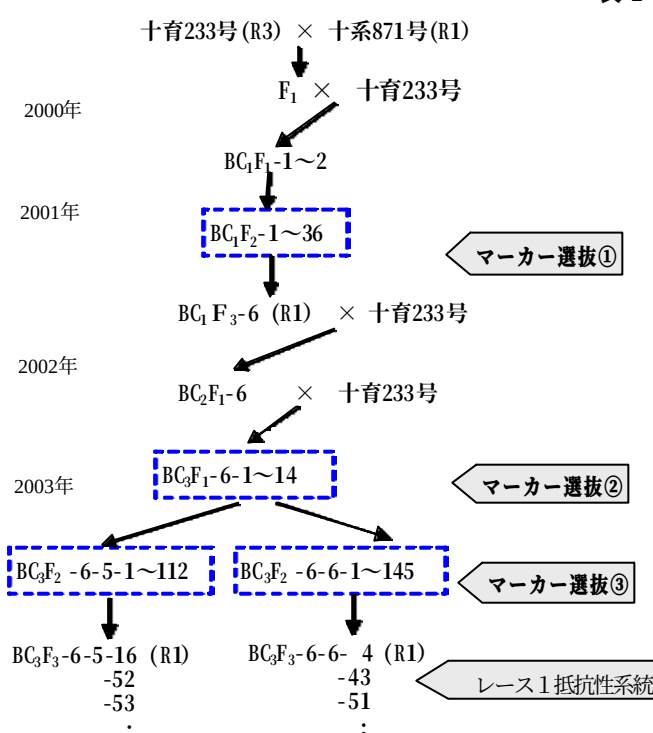
rhg2 と *rhg3* は暫定的な定義である。

表 2 BC_3F_1 、 BC_3F_2 個体のグラフ遺伝子型とレース 1 抵抗性

系統番号	<i>rhg4</i>		<i>rhg1</i>			レース 1 抵抗性
	Satt 632	Sat_ 162	Satt 163	Satt 309	Sat_ 141	
BC_3F_1 -6-5	H	C	H	H	H	-
BC_3F_2 -6-5- 5	B	C	B	B	B	S
16	B	C	B	B	B	R
52	B	C	B	B	B	R
53	B	C	B	B	B	R
65	B	C	B	B	B	R
94	B	C	B	B	B	R
98	B	C	B	B	B	R
32	B	C	B	B	H	R
BC_3F_1 -6-6	H	C	H	H	A	-
BC_3F_2 -6-6- 4	R	C	B	B	A	R
43	B	C	B	B	A	R
51	B	C	H	B	A	R
56	B	C	B	B	A	R
60	B	C	B	B	A	R
107	B	C	B	B	A	R
123	B	C	B	B	A	R
33	B	C	B	B	A	S
55	B	C	B	B	A	S
127	B	C	B	B	A	S
132	B	C	B	B	A	S

注) A:十系 233 号型(R3)、B:十系 871 型(R1)

C:A 以外、Sat_163 は多型無し。レース 1 抵抗性はセルトレイ検定による。



4. 成果の活用面と留意点

- 1) 本研究で開発したマーカー選抜法は、*rhg1* 座と *rhg4* 座の近傍マーカーを用いた「レース 3 抵抗性(繰返し親) × レース 1 抵抗性(供与親)」の組合せの連続戻し交配に有効である。
- 2) 今回得られた結果は「PI84751」に由来するレース 1 抵抗性を用いた技術である。
- 3) 本研究の中でマーカー選抜したレース 1 抵抗性個体は、育種素材または育種材料として利用可能である。

5. 残された問題とその対応

- 1) F_2 集団など、2,000 個体以上で選抜を行う場合は、さらにマーカー選抜作業行程の効率化が必要であり、DNA 抽出、マーカー検出など作業行程の効率化を検討する。
- 2) 「レース 1 抵抗性 × 感受性」の組合せへの適用には、*rhg2* 座および *rhg3* 座に連鎖するマーカーの高精度化および *rhg1* 座および *rhg4* 座に連鎖するマーカーのさらなる高精度化が必要であり、他研究機関の協力と連携を得て実施する計画である。