

イチゴ炭疽病耐病性を識別する新たな DNA マーカーの開発

1. 試験のねらい

イチゴ炭疽病耐病性品種の開発には、接種試験により耐病性の程度を調査する必要があるが、供試する株の増殖や菌の接種、発病調査等に多大な労力と時間を要する。また、炭疽病耐病性には複数の因子が関わっていると推定されており、強度耐病性品種を開発するためには、多くの耐病性遺伝子を集積する必要がある。そこで、育種の効率化を図るため、先に開発した DNA マーカー（研究成果集第 29 号）とは別に新たな炭疽病耐病性識別 DNA マーカーを開発する。

2. 試験方法

(1) 解析集団の作製と耐病性検定

DNA マーカー開発のための解析集団として、栃木農試が育成した炭疽病耐病性育種素材系統 91-21-7 の S₁84 系統を作製した（培養苗）。耐病性検定は、培養苗を水耕栽培で 3~4 週間育成してから炭疽病菌を接種し、接種 7、10、14、17 日後の発病度を調査した。また、罹病性指標品種として、とちおとめの発病度も調査した。

(2) DNA マーカーの収集と解析

2 種類の検出法（AFLP、SSR）により DNA マーカーを収集した。収集したマーカー情報（AFLP マーカー 521 個、SSR マーカー 228 個）と発病度データを用いて GMM（Genotype Matrix Mapping）解析を行い、耐病性を識別する DNA マーカーを選抜した。また、解析集団以外の系統を用いて、マーカーの有無と発病度を比較し、マーカーの信頼性を確認した。

3. 試験結果および考察

- (1) 接種 10 日後の発病度を用いた GMM 解析の結果、耐病性を識別する DNA マーカーが 5 組合せ選抜された（表-1）。
- (2) 表-1 の No. 2 の DNA マーカー組合せ（RG170_184 AG244_154）を用いて選抜した場合、接種 14 日後では、発病度 40 以下の系統（耐病性強系統）が選抜でき、80 より大きい系統（耐病性弱系統）が排除できることから、最も有望な DNA マーカー組合せであると判断した（図）。
- (3) RG170_184、AG244_154 の両方の DNA マーカーを保有している系統の F₁ を用いて耐病性検定を行い、マーカーの有無と発病度を比較した。接種 21 日後（とちおとめの発病度 80）の発病度が 40 以下の系統（10-28-8）が選抜できたことから、マーカーの信頼性が確認できた（表-2）。
- (4) 以上のことから、今回開発した耐病性識別 DNA マーカーは、耐病性強系統を選抜し、耐病性弱系統を除くことができるが、中程度の耐病性については判定できないことが明らかとなった。また、育種選抜に用いた場合は、集団個体数を約 1/2 に減らすことができる。

4. 成果の要約

栃木農試が育成した育種素材系統 91-21-7 由来の炭疽病耐病性識別 DNA マーカーを開発した。開発した DNA マーカーは、育種選抜に用いた場合、集団個体数を約 1/2 に減らすことが可能であり、耐病性強系統を選抜し、耐病性弱系統を除くことができる。

（担当者 生物工学研究室 中澤佳子、癸生川真也、天谷正行*、若槻睦子）

*現 経営技術課

表-1 GMM 法による炭疽病耐病性を識別する DNA マーカーの選抜結果

No.	選抜されたDNAマーカー組合せ	S ₁ 系統数		S ₁ 平均発病度 (接種10日後 ^a)	
		マーカー 有り	マーカー 無し	マーカー 有り	マーカー 無し
1	RG170_184	54	30	41.0	54.0
2	RG170_184 AG244_154	41	43	39.0	53.0
3	RG170_184 AG244_154 HC388_128	28	55	34.0	51.0
4	RG205_124 AG244_154 HC388_128	28	55	34.0	51.0
5	AG266_114 AG244_154 HC388_128	28	54	34.0	51.0

a. 罹病性指標品種とちおとの発病度は53

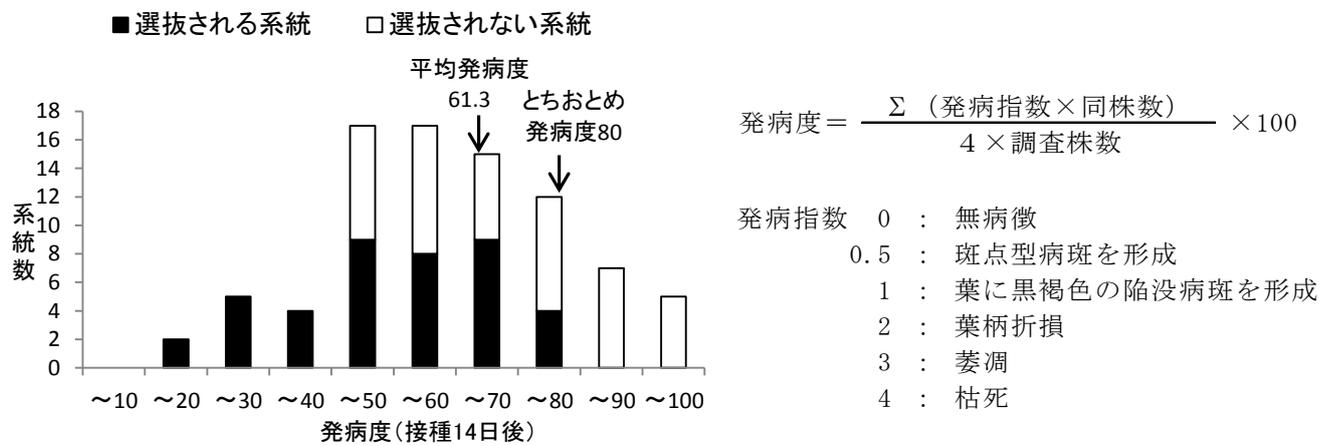


図 表-1 の No. 2 の DNA マーカー組合せで選抜した S₁ 系統の発病度分布

表-2 91-21-7 由来炭疽病耐病性識別 DNA マーカーによる F₁ の選抜結果と発病度

交配組合せ ^a	系統名	DNAマーカー ^b		発病度		DNAマーカー による選抜
		RG170_184	AG244_154	14日後	21日後	
栃木i27号×栃木29号	10-38-3	○	○	55	65	○
	10-28-3	○	○	35	43	○
	10-28-5	×	○	53	65	
栃木i27号×栃木素材2号	10-28-6	○	○	38	55	○
	10-28-7	○	×	50	70	
	10-28-8	○	○	23	33	○
栃木i27号×03-33-2	10-30-2	○	×	50	80	
	10-30-6	○	×	50	55	
	10-30-8	○	○	48	68	○
	10-30-9	○	×	70	85	
とちおとめ		×	○	58	80	

a. 栃木i27号は両方のマーカーを持っていない。栃木29号、栃木素材2号、03-33-2は両方のマーカーを持っている。

b. ○ : マーカー有り, × : マーカー無し。