

非選好性に着目したダイズ(*Glycine max* (L.) Merr.) のハスモンヨトウ (*Spodoptera litura* Fabricius) 抵抗性に関する遺伝育種学的研究

農業・食品産業技術総合研究機構 九州沖縄農業研究センター 大木信彦

第1章 総合緒言

ハスモンヨトウはダイズの重要害虫であり、日本の西南暖地では生産の不安定要因の1つとなっている。ハスモンヨトウ抵抗性を向上させた品種を育成できれば、収量の向上、安定につながるだけでなく、農薬散布の削減によるコストカットにもつながるため、抵抗性品種の育成が試みられてきた。しかし、鱗翅目害虫に対する抵抗性を示す遺伝資源は低収、極晩生、極小粒などの劣悪な農業形質をもつため、通常の交配育種では優良系統の選抜が困難であった。一方で、遺伝解析により抵抗性遺伝子を探索し、DNA マーカーを用いて優良品種へ導入すれば、他の農業形質を損なうことなく抵抗性を向上させられると期待される。これまでに抵抗性品種「ヒメシラズ」について QTL (Quantitative trait locus) 解析が行われ、抗生性に関する抵抗性遺伝子、*CCW-1* および *CCW-2* が見つかっている。これらの遺伝子を DNA マーカーを用いた連続戻し交配により西日本の主力品種、「フクユタカ」に導入し、準同質遺伝子系統が育成された。*CCW-1* または *CCW-2* のみをもつ系統、および両方をもつ系統について抗生性試験を行った結果、有意に抵抗性が向上しており、これらの抵抗性遺伝子の効果が確認された。*CCW-1* と *CCW-2* の両方をもつ準同質遺伝子系統は、ハスモンヨトウ抵抗性が向上しており、収量性、熟期、子実品質などの形質が「フクユタカ」と同等であったことから、「フクミノリ」として品種登録された。しかし、圃場で栽培した際の「フクミノリ」の抵抗性は「ヒメシラズ」よりも明らかに劣っており、「フクユタカ」と比較してもハスモンヨトウによる食害程度に明確な差が見いだされなかったため、「フクユタカ」と置き換えて普及させることはできなかった。本研究では、新規抵抗性遺伝子を探索するとともに、既知の抵抗性遺伝子とピラミディングし、「フクユタカ」を置き換えることができる、高度な抵抗性を有する系統の育成を目指した。

第2章 ハスモンヨトウ抵抗性 QTL が圃場における幼虫生息密度に与える効果

CCW-1 および *CCW-2* の効果は抗生性試験においてのみ確認されており、圃場における効果について検証されていなかった。圃場におけるハスモンヨトウ幼虫は、成虫が産卵したダイズ周辺に偏っており、同一品種であっても反復間に被食程度のばらつきが生じる。その一方で、葉をサンプリングして被食面積を実測するには膨大な時間と労力が必要であり、現実的ではない。そこで、ダイズ植物体を強く揺さぶって、落ちてくるハスモンヨトウ幼虫を捕らえ、頭数を計測する払落し法を用いた。払落し法では、反復を増やして調査できるため、圃場内にお

いてハスモンヨトウ幼虫の生息密度が偏っていても、ダイズ系統間の抵抗性を比較できると期待される。本試験では5年間にわたり、「フクユタカ」に *CCW-1*, *CCW-2* のどちらか、またはその両方を導入した準同質遺伝子系統について、払い落とし法により圃場におけるハスモンヨトウ幼虫生息密度調査を行った。その結果、*CCW-1* をもつ準同質遺伝子系統では、幼虫生息密度が「フクユタカ」よりも有意に低くなっており、*CCW-1* は圃場において効果をもつことが確認された。しかし、*CCW-2* を導入した準同質遺伝子系統の幼虫生息密度は「フクユタカ」に近く、圃場における効果はみられなかった。これらの結果から、少なくとも *CCW-1* は圃場においても効果を有しており、他の遺伝子とピラミディングすることにより、抵抗性品種の育成に寄与できることが示された。*CCW-2* については、幼虫生息密度以外の面で圃場において抵抗性を発揮している可能性もあり、調査法を変えて検討する必要がある。

第3章 非選好性試験による「ヒメシラズ」由来の新規抵抗性遺伝子の探索

CCW-1 および *CCW-2* と集積してより抵抗性を強化した系統を育成するには、これらと座乗位置が異なる新規抵抗性遺伝子の探索が必要である。抵抗性のメカニズムは抗生性と非選好性に分類されるが、非選好性試験による「ヒメシラズ」の遺伝解析は行われていなかった。そこで非選好性試験により、「フクユタカ」と「ヒメシラズ」の交配に由来する組換え自殖系統の抵抗性評価を行い、全ゲノムの連鎖地図を作成し QTL 解析を行った。非選好性試験の標準品種は「アキセンゴク」を用い、水で濡らしたろ紙を敷いたシャーレに、25 mm の正方形に切り取った標準葉と試験葉を並べ、約 14 時間後の各葉の食害面積から非選好性を評価した。2009 年と 2010 年に試験を行った結果、共通して *CCW-1* と同じ Gm07 の領域と Gm12 に抵抗性遺伝子が検出され、これらを *qRslx1* (*QTL for resistance to spodoptera litura antixenosis 1*) , *qRslx2* と命名した。*qRslx1* は「ヒメシラズ」型が抵抗性であり、「フクユタカ」の抵抗性強化に利用できるが、*CCW-1* と同座であると考えられるため、「フクミノリ」の抵抗性を強化する目的には用いることができない。*qRslx2* は「フクユタカ」型が抵抗性であり、「フクミノリ」は既に抵抗性型をもっている。そのため、「フクミノリ」の抵抗性をさらに強化する抵抗性遺伝子を、「ヒメシラズ」から見つけることはできなかった。また、*qRslx2* の相加効果および分散に占める割合は *qRslx1* よりも大きかった。「フクユタカ」と「ヒメシラズ」の非選好性の差に関与する遺伝子が *qRslx1* と *qRslx2* だけであれば、「フクユタカ」のほうが強い抵抗性を示すはずであり、「ヒメシラズ」の抵抗性に寄与する未知の遺伝子が存在すると考えられる。その一方で、*qRslx1* の近傍に毛茸長の QTL が、*qRslx2* の周辺に毛茸長と毛茸密度の QTL が検出され、*qRslx1* や *qRslx2* が毛茸に関係している可能性が考えられた。毛茸に着目した解析を行えば、抵抗性との関係が明らかになり、効率的な抵抗性系統の選抜を行えるようになると期待される。

第4章 ツルマメ由来の新規抵抗性遺伝子の探索

CCW-1 および CCW-2 と集積できる新規抵抗性遺伝子を探索するため、抵抗性遺伝資源としてダイズの野生種であるツルマメに着目した。日本に広く分布するツルマメは、ダイズと容易に交配が可能である上、高い遺伝的多様性を有しており、新規抵抗性遺伝子を探索するための材料として有望であると考えられる。また、栽培ダイズと異なり、農薬の散布が行われないツルマメは、より強い害虫によるストレス下にあると考えられ、抵抗性を向上させる突然変異が蓄積していると期待される。本研究では、広島県において収集したツルマメを用いて、非選好性試験による抵抗性評価を行った結果、「フクユタカ」よりも強い抵抗性を示すことが明らかになった。そこで、ツルマメと「フクユタカ」の交配に由来する組換え自殖系統の非選好性試験による抵抗性評価を行い、全ゲノムの連鎖地図を作成して QTL 解析を実施した。2012 年と 2013 年に試験を実施した結果、非選好性に関わる抵抗性遺伝子が Gm07 および Gm02 に共通して見出だされ、*qRslx3* および *qRslx4* と命名した。これらの遺伝子はいずれもツルマメ型が抵抗性であり「フクユタカ」の抵抗性向上に利用できる。また、CCW-1 および CCW-2 とは座乗位置が異なる新規の抵抗性遺伝子であり、これらの遺伝子を集積すれば、より高度な抵抗性を有する品種の育成に寄与できると期待される。

第5章 *qRslx3* および *qRslx4* を導入した準同質遺伝子系統の抵抗性評価

qRslx3 および *qRslx4* の効果を検証するため、これらの抵抗性遺伝子を DNA マーカーを用いた連続戻し交配により「フクユタカ」に導入し、準同質遺伝子系統を育成した。非選好性試験による抵抗性評価を行った結果、ツルマメ型の *qRslx3* を有する準同質遺伝子系統は有意に抵抗性が向上していたが、ツルマメ型の *qRslx4* を有する準同質遺伝子系統の抵抗性は「フクユタカ」とほぼ同等であった。単独で効果を有する *qRslx3* はハスモンヨトウ抵抗性育種に利用しやすい遺伝子であると期待される。一方、「フクユタカ」を遺伝背景とした準同質遺伝子系統において *qRslx4* の効果を確認できなかった原因については今後解明する必要がある。抵抗性遺伝子の中には、他の抵抗性遺伝子と相互作用して効果を発揮するものがあるため、*qRslx4* を他の抵抗性遺伝子と集積すれば効果をj確認できる可能性がある。さらに、*qRslx3* と CCW-1、CCW-2 を集積した準同質遺伝子系統を育成し、非選好性試験による評価を行った。その結果、CCW-1 をもつ準同質遺伝子系統、および CCW-1 と CCW-2 をもつ「フクミノリ」よりも強い抵抗性を示したが有意差は検出されなかった。そこで、「アキセンゴク」を標準とするのではなく、「フクミノリ」と *qRslx3*、CCW-1、CCW-2 を集積した準同質遺伝子系統を同じシャーレに並べてハスモンヨトウ幼虫に摂食させ、各葉の摂食面積を直接比較した。その結果、*qRslx3* を集積することにより、「フクミノリ」よりも抵抗性が強化されていることが示された。これらの結果から、ツルマメ由来の抵抗性遺伝子を利用することにより、既存品種の抵抗性を強化で

きると考えられた。

第6章 総合考察

温暖化が進むと、ハスモンヨトウによる被害発生地域が拡大し、大発生による深刻な減収も頻発すると考えられている。現在、ハスモンヨトウの対策は農薬の散布が中心であるが、今後は抵抗性品種を導入し総合的に対策する必要がある。本研究では、非選好性に着目して解析を行い、新規抵抗性遺伝子の探索、抵抗性を強化した準同質遺伝子系統の育成を行った。ハスモンヨトウ抵抗性の評価には、抗生性試験と非選好性試験が利用されてきたが、抗生性試験は再現性が非選好性試験と比較して高いものの、飼育期間が長く、必要とされる葉の量も多いため、多くの系統を評価するのは難しい。また、絶対値としての評価となるため、2品種間で比較しようとする場合、抵抗性の差が小さいと検出が難しい場合がある。一方で非選好性試験は、「アキセンゴク」のように、中程度の抵抗性を有する品種を標準とする方法だけでなく、2品種を直接比較することもできる上、ツルマメのように葉が小さな系統の評価にも利用できる。また、多くの系統を扱うのも抗生性試験よりも容易であり、抵抗性品種のスクリーニング有効であると期待される。このため、非選好性試験を活用すれば、品種育成に貢献する遺伝解析や遺伝資源探索を効率的に実施できると考えられる。また本研究により、圃場におけるハスモンヨトウ抵抗性遺伝子の効果の検証方法が確立され、*CCW-1* の圃場における効果が確認された。さらに、野生種であるツルマメ由来の抵抗性遺伝子を *CCW-1*、*CCW-2* と集積し、「フクミノリ」よりも抵抗性を強化した系統の育成に成功した。今後、収量など重要な農業形質に与える影響を調査し、品種化へ向けたデータの収集を行う予定である。ジーンバンク事業により、日本全国から多くのツルマメ系統が収集されている。本試験において用いたものとは異なる地点で収集されたツルマメ系統を用いて遺伝解析を行えば、*qRslx3* および *qRslx4* とは異なる新規抵抗性遺伝子を見出すことができる可能性が高い。これらを優良品種に DNA マーカーを用いた選抜で集積することにより、より高度な抵抗性と実用的な農業形質を有する系統を育成できると考えられる。本研究から得られた知見は効率的なハスモンヨトウ抵抗性育種を可能にし、ダイズ生産の低コスト化、安定化、多収化に寄与すると期待される。