特集記事

非選好性に着目したダイズハスモンヨトウ抵抗性に関する遺伝育種学的研究

大木信彦

農研機構・九州沖縄農業研究センター, 熊本県合志市須屋, 〒861-1192

Genetic and breeding studies of antixenosis resistance to common cutworm (*Spodoptera litura* Fabricius) in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.)

Nobuhiko Oki

Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, NARO, Suway, Koshi, Kumamoto 861-1192, Japan

キーワード

ダイズ, 育種, ハスモンヨトウ, 抵抗性遺伝子, 非選好性

1. はじめに

ハスモンヨトウ (*Spodoptera litura* Fabricius) はダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) に深刻な被害を与える鱗翅目害虫であり, 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低コスト化にもつながる. しかし, 強い抵抗性を有する遺伝資源が低収や極晩生などの劣悪な農業形質を示すことや, 抵抗性の遺伝様式が複雑であることから, 優れた農業特性と実用的な抵抗性を両立した品種は育成できていない. そこで, DNA マーカーを用いて抵抗性遺伝子をピンポイントで優良品種に導入する手法が有効であると考えられた. ハスモンヨトウ抵抗性を評価する手法は, 非選好性と抗生性に分けられる. 非選好性は, 評価対象と標準系統を幼虫に自由に摂食させ, 各系統の被食量を比較して評価を行う. 一方, 抗生性は評価対象系統のみを幼虫に摂食させ, 摂食量, 体重, 蛹重などを指標として評価を行う. これまでに抵抗性品種「ヒメシラズ」について遺伝解析が行われ, 抗生性に関する量的形質遺伝子座 (Quantitative trait loci: QTL), *CCW-1* および *CCW-2* が見つかった (Komatsu *et al.* 2004, 2005). DNA マーカーを用いた連続戻し交配により, これらの遺伝子を「フクユタカ」に導入し, 「フクミノリ」が育成された. しかし, 「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, 農薬散布の削減や, 収量の向上には結びつかなかったため, 「フ

クユタカ」を置き換えて普及させることはできなかった. 本研究では, 既知の抵抗性遺伝子とピラミディングできる, 新規抵抗性遺伝子を探索し, 高度な抵抗性を有する系統の育成を目指した.

2. 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

鱗翅目害虫への抵抗性メカニズムは, 抗生性と非選好性に分けられ, 関与する抵抗性遺伝子が異なることが知られている (Rector *et al.* 1998, 1999, 2000). 「ヒメシラズ」の非選好性は「フクユタカ」よりも強く, *CCW-1* および *CCW-2* とは異なる抗生性に関与しない抵抗性遺伝子が寄与している可能性がある. *CCW-1* および *CCW-2* と集積して抵抗性を強化した系統を育成するため, 非選好性試験により「ヒメシラズ」由来の新規抵抗性遺伝子を探索した. 非選好性試験は, シャーレに抵抗性を比較する2系統の葉片を並べ, ハスモンヨトウ幼虫を入れて約14時間後に各葉片の摂食面積を比較して実施した (図1). 「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群の抵抗性評価を, これらの品種の中間程度の抵抗性を示す「アキセンゴク」を標準として行い, 各葉片の摂食面積から, *C* 値と呼ばれる抵抗性の指標を算出した. *C* 値が小さいほど, 抵抗性が強いことを示す. 連鎖地図を作成して QTL 解析を行った結果, 第7染色体の *CCW-1* と同じ領域に抵抗性遺伝子 *qRslx1* を, 第12染色体に *qRslx2* を見出した (図2, 表1, Oki *et al.* 2012). *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. また *qRslx2* は「フクユタ

図1. 「フクユタカ」(各シャーレ左)と「フクモリ」に抵抗性 QTL, *CCW-1* および *CCW-2* を導入して育成した準同質遺伝子系統, 「フクモリ」(各シャーレ右)の非選好性試験による抵抗性評価. 各系統の完全展開葉を約 25 mm の正方形に切り取り, 約 14 時間ハスモンヨトウ幼虫に摂食させた結果, 達観でも明確なほどに「フクモリ」のほうが摂食面積が小さかった.

カ」型が抵抗性であった. 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.

予想と反し, *qRslx2* の効果は *qRslx1* よりも大きかった (表 1). 非選好性に関する QTL が *qRslx1* と *qRslx2* のみと仮定すると, 「フクユタカ」の方が強い抵抗性を示すことになるが, 実際には「ヒメシラズ」の方が強い抵抗性を示す. そのため, 「ヒメシラズ」の非選好性に寄与する未検出の抵抗性遺伝子があると考えられる. 解析に用いた連鎖地図は, ほぼ全ゲノムをカバーしており, マーカーの無い領域に強い抵抗性遺伝子が存在している可能性は低い. また, Rector *et al.* (1998, 1999, 2000) は, ダイズの鱗翅目害虫であるオオタバコガ (*Helicoverpa zea* Boddie) に対する抵抗性の遺伝解析を行い, *qRslx1* (*CCW-1*) と同じ位置に, 抵抗性遺伝資源, 「PI 229358 (Soden-daizu)」に由来する QTL を検出した. この QTL は検出された中で最も効果が大きく, 抗生性・非選好性の両方の効果を有しており, *qRslx1* (*CCW-1*) と同座であることが示されている (Komatsu *et al.* 2008). これら

図2. 非選好性 QTL, *qRslx1* および *qRslx2* の座乗位置. 縦棒は染色体を模式的に表したものであり, 左側のラベルはマーカー名を表す. 第 12 染色体の破線部分は連鎖地図が途切れていることを表す. 染色体の右側の三角形は非選好性 (A: antixenosis) の QTL が検出された位置を表す. 黒色の文字は「フクユタカ」型で抵抗性が強くなることを表し, 白色の文字は「ヒメシラズ」型で抵抗性が強くなることを表す. 灰色の三角形は 2009 年の試験結果を, 白色の三角形は 2010 年の試験結果を表す.

表 1. 「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群を用いた, 非選好性試験による QTL 解析結果

年次	染色体	LOD ^a	r ^{2b}	相加効果 ^c	QTL 領域 (cM ^d)
2009	7	5.06	0.104	0.131	CCW1_1 (33.6)–CCW1_15 (37.8)
	12	7.91	0.191	–0.178	Sat_218 (39.0)–LGH_2 (45.0)
2010	7	5.95	0.099	0.137	CCW1_1 (33.6)–CCW1_15 (37.8)
	12	15.69	0.300	–0.237	Sat_218 (39.0)–LGH_2 (45.0)

^a Logarithm-of-odds.

^b 全表現型分散に占める, 各遺伝子座による遺伝分散の割合.

^c 「フクユタカ」型の相加効果を表す, マイナスの値は「フクユタカ」型で抵抗性が強くなることを示し, プラスの値は「ヒメシラズ」型で抵抗性が強くなることを示す.

^d Centimorgan.

のことから、「ヒメシラズ」由来の抵抗性 QTL の中でも効果が大きいのは *qRslx1* であると考えられ、効果の小さな QTL の集積により「ヒメシラズ」の高度な抵抗性が発現されていると予想された。これらの QTL を検出するには、精度の高い抵抗性評価法の開発や、染色体断片置換系統群の利用が必要になると考えられる。

九州沖縄農業研究センターでは 30 年以上にわたり、ハスモンヨトウ抵抗性育種が行われてきたが、実用的な農業特性と高度な抵抗性を両立した品種の育成には至っていない。これは、ハスモンヨトウ抵抗性に寄与する遺伝子数が多く、集積が困難であることが障害となっていたためと考えられる。

高度なハスモンヨトウ抵抗性を有する有望品種を育成するには、少ない遺伝子数で実用的な抵抗性を付与する必要がある。「ヒメシラズ」が持つ未知の抵抗性遺伝子の個々の効果は小さいと予想されるため、他の遺伝資源を用いた解析が必要であると考えられた。

3. ツルマメ由来の新規ハスモンヨトウ抵抗性遺伝子の探索

qRslx1 (*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 (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) に着目した。日本に広く分布するツルマメは、高い遺伝的多様性を有している。また、収集したツルマメを圃場で栽培すると、鱗翅目害虫の被害をほとんど受けないことから強い抵抗性を有していると期待され、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た。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群の非選好性試験による抵抗性評価を行い、連鎖地図を作成して QTL 解析を行った。その結果、非選好性に関わる新規抵抗性遺伝子、*qRslx3* および *qRslx4* が見出され、いずれもツルマメ型が抵抗性であった (図 3, 表 2, Oki *et al.* 2017)。これらの遺伝子は、「ヒメシラズ」由来の抵抗性 QTL とは座乗位置が異なるため集積が可能である。現在育成中の、「フクユタカ」に、「ヒメシラズ」とツルマメに由来する抵抗性 QTL を集積した準同質遺伝子系統は、「フクミノリ」を上回る抵抗性を有すると期待される。

4. 異なるツルマメ系統が有するハスモンヨトウ抵抗性遺伝子の探索

野生種であるツルマメは遺伝的に多様であり、系統ごとにハスモンヨトウ抵抗性の程度や、寄与する抵抗性遺伝子が異なると考えられる。そこで、*qRslx3* および *qRslx4*

図 3. 非選好性 QTL, *qRslx3* および *qRslx4* の座乗位置。縦棒は染色体を模式的に表す。染色体の右側に DNA マーカー名を表記する。白色の円は 2012 年、灰色の円は 2013 年の試験により検出された QTL であることを表す。

の由来となった広島県で収集したツルマメとは異なる系統を用いて抵抗性遺伝子の探索を行った。熊本県において収集したツルマメの抵抗性を非選好性試験により評価した結果、「フクユタカ」を上回る抵抗性を示したため、「フクユタカ」と交配して組換え自殖系統群を育成し、非選好性試験による抵抗性評価を実施するとともに、連鎖地図を作成して QTL 解析を行った (Oki *et al.* 2019)。その結果、*qRslx3* および *qRslx4* の近傍に QTL は検出されず、「ヒメシラズ」を用いた抗生性の解析で検出された *CCW-2* とほぼ同じ領域に、ツルマメ型が抵抗性を示す QTL が検出された (表 3)。「ヒメシラズ」型の *CCW-2* は非選好性の効果を示さないことが分かっており、ツルマメから検出された QTL は *CCW-2* とは、異なる遺伝子座であるか、もしくは同座でツルマメが非選好性アレルを持つと考えられる。

広島県と熊本県において収集したツルマメと「フクユタカ」の組換え自殖系統群を用いて QTL 解析を行った結果、共通する QTL はなく、異なる領域に抵抗性 QTL が検出された。このことから、野生種であるツルマメはハスモンヨトウ抵抗性についても遺伝的多様性を有しており、異なる地点において採集された系統を用いて解析することにより、新たな抵抗性 QTL を見つけることができると考えられた。

表 2. 広島で収集したツルマメと「フクユタカ」の交配に由来する組換え自殖系統群を用いた、非選好性試験による QTL 解析結果

年次	染色体	QTL	LOD ^a	PVE ^b	相加効果 ^c	QTL 領域 (cM ^d)
2012	2	<i>qRslx4</i>	2.7	4.9	-0.173	Satt459 (127.3)–GMES2618 (144.4)
2012	7	<i>qRslx3</i>	7.6	12.8	-0.281	GMSC514 (0.0)–Satt150 (9.0)
2012	9		4.1	5.4	0.182	C09-BARC-015513-01990 (34.2)–Satt055 (35.4)
2012	14		5.8	8.5	-0.229	C14-BARC-044549-08718 (30.1)–Satt416 (39.1)
2012	16		2.8	4.3	0.163	C16-BARC-016775-02320 (16.0)–s016200713 (23.5)
2012	19		5.2	9.9	-0.247	Satt561 (68.4)–Sat_286 (82.8)
2013	2	<i>qRslx4</i>	2.8	4.5	-0.163	C02-BARC-026065-05239 (120.5)–Satt274 (127.2)
2013	6		5.6	7.9	-0.217	sF3H (122.6)–Satt708 (126.8)
2013	7	<i>qRslx3</i>	11.8	24.7	-0.384	GMSC514 (0.0)–Satt150 (9.0)
2013	18		2.2	3.1	-0.136	Satt352 (43.4)–Satt505 (50.9)

^a Logarithm-of-odds.

^b Percentage of variance explained.

^c ツルマメ型の相加効果を表す。マイナスの値はツルマメ型で抵抗性が強くなることを示し、プラスの値は「フクユタカ」型で抵抗性が強くなることを示す。

^d Centimorgan.

表 3. 「フクユタカ」と熊本で収集したツルマメの交配に由来する組換え自殖系統群を用いた、非選好性試験による QTL 解析結果

染色体	LOD ^a	r ^{2b}	相加効果 ^c	QTL 領域 (cM ^d)
7	12.0	0.25	0.22	BARCSOYSSR_13_0173 (18.2)–Satt567 (28.8)

^a Logarithm-of-odds.

^b 全表現型分散に占める、各遺伝子座による遺伝分散の割合。

^c 「フクユタカ」型の相加効果を表す。マイナスの値は「フクユタカ」型で抵抗性が強くなることを示し、プラスの値はツルマメ型で抵抗性が強くなることを示す。

^d Centimorgan.

5. おわりに

温暖化が進むと、鱗翅目害虫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 (Jepsen *et al.* 2008, Parmesan *et al.* 1999)。本研究では、野生種であるツルマメ由来の新規抵抗性 QTL を発見し、ツルマメがハスモンヨトウ抵抗性遺伝資源として有望であることを示した。農業生物資源ジーンバンクには、日本全国から 2,000 を超えるツルマメ系統が収集、保存されている。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新規抵抗性遺伝子を探索し、集積を進めれば、より高度な抵抗性を有する系統を育成できると考えられる。これらの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。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、多くの皆様のご協力、ご支援を賜りました。改めて篤く御礼を申し上げます。ハスモンヨトウ抵抗性遺伝解析の基礎を築き、材料の育成、解析に協力していただいた、農研機構・西日本農業研究センターの小松邦彦氏をはじめ、大豆育種に関わる皆様に心より感謝いたします。石本政男氏、加賀秋人氏をは

じめ、農研機構・次世代作物開発研究センターの皆様には、材料の育成、遺伝解析支援から論文執筆のご指導まで多大なご協力を賜りましたことを御礼申し上げます。また、私の過大なお願いに協力してくださった、多くの同僚、業務科職員、契約職員の皆様に心より御礼申し上げます。さらに、研究の恩師であり推薦者でもある谷坂隆俊名誉教授と奥本教授をはじめ、京都大学育種学研究室の皆様には、心より感謝いたします。

本研究は農林水産省新農業展開ゲノムプロジェクト (DD-3240, DD-3260)、気候変動に対応した循環型食料生産等の確立のための技術開発 (1006, 3002)、次世代ゲノム基盤プロジェクト (SFC1009) の支援を受け実施されました。

引用文献

- Jepsen, J.U., S.B. Hagen, R.A. Ims and N.G. Yoccoz (2008) J. Anim. Ecol. 77: 257–264.
- Komatsu, K., S. Okuda, M. Takahashi and R. Matsunaga (2004) Breed. Sci. 54: 27–32.
- Komatsu, K., S. Okuda, M. Takahashi, R. Matsunaga and Y. Nakazawa (2005) Crop Sci. 45: 2044–2048.
- Komatsu, K., M. Takahashi and Y. Nakazawa (2008) Crop Sci. 48: 527–532.
- Oki, N., K. Komatsu, T. Sayama, M. Ishimoto, M. Takahash and M.

- Takahashi (2012) *Breed. Sci.* 61: 608–617.
- Oki, N., A. Kaga, T. Shimizu, M. Takahashi, Y. Kono and M. Takahashi (2017) *PLoS ONE* 12: e0189440.
- Oki, N., K. Takagi, M. Ishimoto, M. Takahashi and M. Takahashi (2019) *Breed. Sci.* 69: 529–535.
- Parmesan, C., N. Ryrholm, C. Stefanescu, J.K. Hill, C.D. Thomas, H. Descimon, B. Huntley, L. Kaila, J. Kullberg, T. Tammaru *et al.* (1999) *Nature* 399: 579–583.
- Rector, B.G., J.N. All, W.A. Parrott and H.R. Boerma (1998) *Theor. Appl. Genet.* 96: 786–790.
- Rector, B.G., J.N. All, W.A. Parrott and H.R. Boerma (1999) *Crop Sci.* 39: 531–538.
- Rector, B.G., J.N. All, W.A. Parrott and H.R. Boerma (2000) *Crop Sci.* 40: 233–238.