

ハスモンヨトウ抵抗性ダイズ新品種‘九州 155 号’の育成とその特徴

北海道農業研究センター 小 松 邦 彦
九州沖縄農業研究センター 高橋 将一・大木 信彦・高橋 幹

はじめに

ハスモンヨトウ (*Spodoptera litura* Fabricius) は日本の西南暖地のダイズ作における主要な害虫の一つであり、総合的病害虫管理の考えに則った防除法の確立が望まれている。包括的な技術である総合的病害虫管理の中で、抵抗性品種は中核的役割を果たすため、現在の九州沖縄農業研究センター大豆育種研究九州サブチームおよびその前身の研究室において、その育成が行われてきた。まず、ハスモンヨトウに抵抗性を示す系統の探索が行われ、‘ヒメシラズ’、‘操田大豆’等免疫的ではないものの高い圃場抵抗性を示す系統が見いだされた(原・大庭, 1981)。しかし、これらの抵抗性系統は極端な晩生で栄養成長が過剰となり草型が劣悪なこと、種子が小粒・褐目であること等、栽培・流通上好ましくない性質が多いため、優良品種の育成は難航していた。これら抵抗性系統を親として交配を行うと、上記の劣悪な性質が後代にも遺伝してしまい、実用栽培に適した優良な品種を選抜することが難しくなるためである。最近、小粒で納豆用のハスモンヨトウ抵抗性品種‘九州 156 号’が育成されるなど、長年の育種努力の積み重ねによる成果も出始めてはいるが、従来の育成手法のみで不良な性質を完全に排除するのは現在でも大変困難である。

一方、その問題を打破することができると品種育成上の技術「DNA マーカー選抜」がこの 10 年ほどの間に顕著に発達し、その結果、ハスモンヨトウ抵抗性で栽培特性や豆腐加工適性が‘フクユタカ’とほぼ同等な新品種‘九州 155 号’が育成されるに至った。本稿ではその新たな育種技術と育成された‘九州 155 号’の特性について紹介する。

I ハスモンヨトウ抵抗性育種選抜上の新技術と‘九州 155 号’の育成

ハスモンヨトウに抵抗性をもち、かつ、上記のような劣悪な性質がなく栽培・流通上の性質に優れる品種を育成するには、「連続戻し交配」と呼ばれる育成手法が有効と考えられる。連続戻し交配とは、抵抗性親と優良な品種を交配し、その後代で抵抗性をもつ個体を選抜し、さらに優良品種を交配していくことを繰り返す手法である。この方法では、交配を行うたびに後代の性質は優良品種に近づくことになり、経験的に 6～7 回程度優良品種を交配すれば基本的な性質については交配させた優良品種とほぼ同等になることが知られている。この手法の問題は育成に時間と手間がかかることである。従前の方法で連続戻し交配育種を行う場合、交配、F₂ 後代育成、抵抗性評価による選抜、交配、という手順を繰り返す必要があり、1 回の戻し交配のために 1 年半ほどの時間を必要とし、かつ、抵抗性評価では数十～百個体ほどのダイズ個体を対象とする必要があり、非常に煩雑で育成に長い時間がかかることが予想された。そのため、連続戻し交配による育種は事実上困難とみなされ、積極的に取り組まれていなかった。

一方、2000 年ころからダイズにおいて育種選抜上画期的な技術、「DNA マーカー選抜」が実用可能になってきた。DNA マーカーとは、生命活動の基本的な設計図とも言える DNA を言わば「タイプ分け」する目印のことだが、それを応用すると子の染色体のどの部分がどちらの親に由来するかを正確に把握することができる。逆に言えば、ある性質(例えばハスモンヨトウ抵抗性)に関連する遺伝子がどの染色体のどの部分にあるかがわかっていれば、実際の調査をしなくてもその個体の特性を予測することができる。DNA マーカーの利用は簡便で、かつ、その特性上、F₂ 集団を養成する必要がないため、選抜作業の簡便・迅速化が図れ、特に連続戻し交配による品種育成には画期的な技術となると考えられた。

このような背景から、九州沖縄農業研究センター大豆育種研究九州サブチームでは DNA マーカーを用いたハスモンヨトウ抵抗性の品種育成を一つの目標と定め、そ

A New Common Cutworm Resistant Soybean Cultivar Developed with DNA Marker Assisted Selection. By Kunihiro KOMATSU, Masakazu TAKAHASHI, Nobuhiko OKI and Motoki TAKAHASHI

(キーワード: 耐虫性, 総合的病害虫管理, DNA マーカー選抜, 戻し交配)

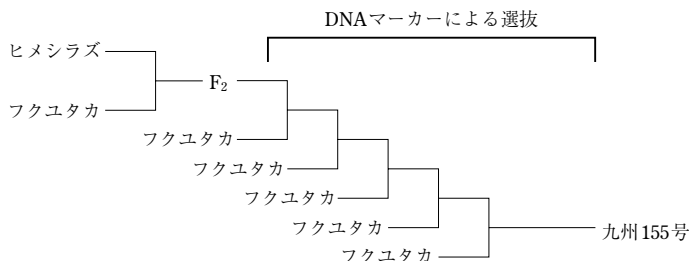


図-1 '九州155号'の育成経過

各交配では上段が花粉親、下段が種子親。種苗法による品種登録出願時の九州155号の世代は戻し交配を5回繰り返し、その後7回自家受粉させたBC₅F₈であった。

のための基礎研究を行った。DNAマーカーの利用では抵抗性に関連する遺伝子の染色体上の位置が重要な情報となるため、まずその解析を行う必要があった。解析に先立って抵抗性評価の基軸となる手法が検討され、従来行われていた選好性による評価(羽鹿ら, 1995)に替えてハスモンヨトウ終齢(6齢)幼虫をサンプル葉で飼育して、脱皮して蛹となるまでの期間とその蛹重をパラメータとした指数、(蛹重)/(蛹化までの期間)を抵抗性の指標とすることにした(KOMATSU et al., 2004)。この指数はハスモンヨトウ幼虫の一種の成長率と言え、成長指数と名付けられた。低い成長指数を示すダイズほど幼虫の成長を抑制する、すなわち抵抗性が高いとみなせる。この評価法を用いて抵抗性系統'ヒメシラズ'と九州の基幹品種でハスモンヨトウに弱い'フクユタカ'のF₂集団を評価し、各個体のDNAマーカーの情報と抵抗性の関係を解析するQTL解析を行ったところ、ダイズの第七染色体(連鎖群M)の長腕部にハスモンヨトウ抵抗性にかかわる遺伝子が二つあることが明らかになった(KOMATSU et al., 2005)。この知見が得られたことで、DNAマーカーを利用した連続戻し交配による品種育成が可能となり、実際に'ヒメシラズ'を抵抗性親、'フクユタカ'を反復親として計6回の交配による品種育成が行われた(図-1)。「ヒメシラズ」由来の抵抗性遺伝子を二つもつこの戻し交配系統には、後に'九州155号'との名称が付けられ、ハスモンヨトウ抵抗性を含む様々な特性の調査が行われた。

II '九州155号'の特性

1 ハスモンヨトウ抵抗性

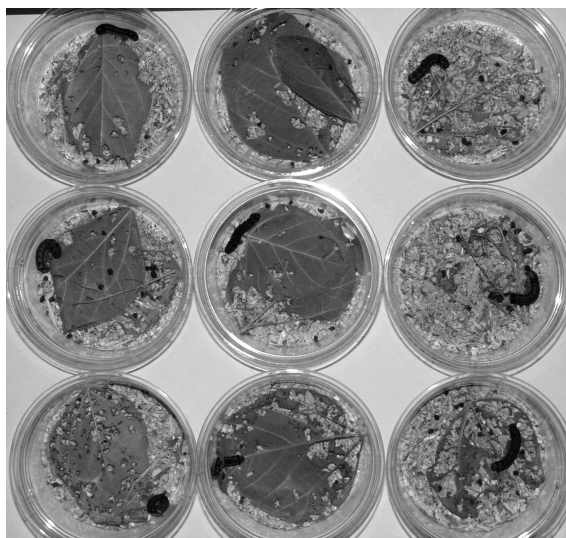
'九州155号'に関しては、ハスモンヨトウ抵抗性に関して、成長指数による評価および実際の圃場における幼虫の生息密度抑制効果の評価が行われた。成長指数は前

表-1 葉でハスモンヨトウ6齢幼虫を飼育した場合の成長指数^{a)}

ダイズ品種	試験年次		
	2005 ^{b)}	2006 ^{b)}	2007 ^{b)}
ヒメシラズ	9.47 ± 0.85 a	9.67 ± 0.87 a	6.91 ± 2.10 a
九州155号	15.45 ± 1.15 b	11.33 ± 0.95 b	11.21 ± 1.43 b
フクユタカ	20.51 ± 0.92 c	17.05 ± 0.80 c	16.04 ± 1.67 c

^{a)} 成長指数 = (蛹重)/(蛹化までの期間)。一種の成長率であり、低い値を示すダイズ系統ほど抵抗性が高い。

^{b)} 成長指数±標準偏差を示した。同一列内の異なるアルファベット間にTukey-Kramer多重比較による5%水準の有意差がある。



ヒメシラズ 九州155号 フクユタカ

図-2 ハスモンヨトウ6齢幼虫のダイズ葉摂食量の違い
脱皮後3日目の幼虫にサンプル葉を与えて摂食させ、
20時間程度経過した状態。

章で述べたとおり、ダイズ葉で飼育したハスモンヨトウ幼虫の一種の成長率で、低いほどその品種がハスモンヨトウに対して高い抵抗性を示す。‘九州155号’は反復親である‘フクユタカ’よりも有意に成長指数が低く、ハスモンヨトウ抵抗性が付与されていることが示された(表-1)。この抵抗性の違いは飼育時の摂食量の違いからも明確に推察できる(図-2)。一方、抵抗性親‘ヒメシラズ’と‘九州155号’の間にも成長指数に有意差があり、‘九州155号’の抵抗性は‘ヒメシラズ’と同じ水準とは言

えないことも明らかになった。なお、‘九州155号’の成長指数についてはKOMATSU et al. (2008)に遺伝子型との関係も含めた詳しい解析結果がまとめられている。

圃場におけるハスモンヨトウ幼虫の生息密度抑制効果については、実際に圃場に‘九州155号’とその親系統‘ヒメシラズ’、‘フクユタカ’を完全無防除で栽植し、ランダムに選んだ個体上のハスモンヨトウ幼虫の数を計測することで調査した。方法は小松ら(2009)にまとめられている。2007年および08年の結果を図-3に示した。

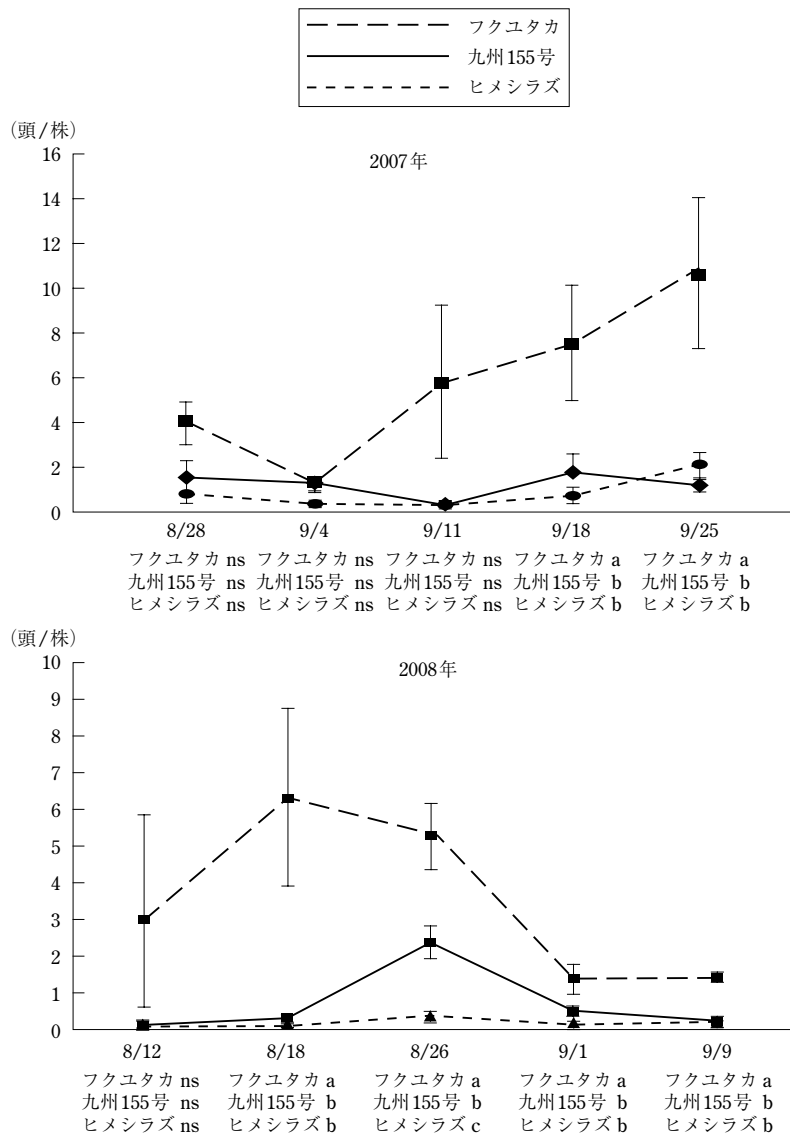


図-3 圃場におけるハスモンヨトウ幼虫の生息密度の推移

図中縦線は標準偏差を示す。同一調査日内で異なるアルファベットが付加されている系統間に Tukey-Kramer の多重比較検定による 5%水準の有意差がある。

調査月日にもよるが、07 年の 9 月中旬以降あるいは 08 年の 8 月下旬以降等、ハスモンヨトウ幼虫の生息密度が高まった条件下では‘九州 155 号’と‘フクユタカ’には生息個体数に有意な差があり、圃場においても‘九州 155 号’に一定の抵抗性があることが示された。‘九州 155 号’と‘ヒメシラズ’の差については、平均値では‘ヒメシラズ’上の幼虫個体数のほうが少ない傾向があるが、有意差はない場合が多かった。‘フクユタカ’と‘九州 155 号’についてはハスモンヨトウおよびカメムシ類に対する慣行的防除が行われている一般生産者の現地圃場においても実証試験を行ったが、そこでも同様に‘フクユタカ’でハスモンヨトウ幼虫の生息密度が上昇した条件下で‘九州 155 号’では生息密度が有意に低かった（データ略）。

これらの結果から、‘九州 155 号’は今回発見された‘ヒメシラズ’由来のハスモンヨトウ抵抗性遺伝子二つを確実に受け継ぎ、圃場においても抵抗性を発揮することが示された。一方、その抵抗性自体は‘ヒメシラズ’と同等とは言い切れない場合があり、未知の抵抗性遺伝子が存在する可能性があると考えられた。

2 栽培・利用上の諸特性

前述のように、ハスモンヨトウ抵抗性品種の育成における大きな問題は抵抗性親の劣悪な性質であった。‘九州 155 号’については‘フクユタカ’の連続戻し交配で育成されているため、その生育特性、種子の品質特性等は‘フクユタカ’に類似すると考えられたが、染色体上でハスモンヨトウ抵抗性遺伝子の近くに劣悪な性質につながる遺伝子がある場合などは劣悪な性質が残っている可能性がある。そのため、‘九州 155 号’の育成にあたっては、その生育および種子品質の特性について精力的に調査が行われた。

‘九州 155 号’と‘フクユタカ’の特性を表-2 にまとめた。評価項目の中では種子の百粒重にやや差があるが、その差は 1.5 g 程度と小さく、また、収量性については差がないため、実際の栽培あるいは流通・利用上問題になることはほとんどないと考えられる。その他の性質についてはほぼ同等である。生態的特徴が変わらないことから‘九州 155 号’の栽培適地は‘フクユタカ’と一致しており、栽培法についても‘フクユタカ’のものを踏襲できると考えられる。なお、データは省略するが、‘九州 155 号’についてウイルス病、紫斑病、立ち枯れ性病害（黒根腐病が中心）およびシスト線虫に対する抵抗性についても検定が行われており、それらも‘フクユタカ’並みであることが明らかにされている。また、‘フクユタカ’は豆腐向きの品種で実需者からも高い評価を得ており、そ

表-2 九州 155 号とフクユタカの生育および種子成分の特性

品種	開花期 (月/日)	登熟期 (月/日)	主茎長 (cm)	主茎節数	分枝数
九州 155 号	8/21	10/31	67	16.7	4.5
フクユタカ	8/20	11/1	65	16.4	4.5

2007～09 年の九州沖縄農業研究センターの試験圃場における標準播（7 月上旬）栽培の平均を示した。

a) 近赤外分光分析法で測定した、粗タンパク質含有率の係数は 6.25 を用いた。

(続き)

品種	収量 (kg/a)	百粒重 (g)	粗タンパク質 含有率 (%) ^{a)}	粗脂肪含有率 (%) ^{a)}
九州 155 号	39.1	27.7	41.7	22.1
フクユタカ	39.4	29.2	41.8	22.0

れが品種の特徴の一つとなっている。よって‘九州 155 号’の豆腐加工に関する適性は品種として定着が可能かどうかの一つのポイントなる。そこで複数の加工メーカーで試作試験を実施したが、その結果、‘フクユタカ’に近い性質で、おおむね豆腐加工適性が高いという結果を得た（データ略）。これらのことから、‘九州 155 号’ではハスモンヨトウ抵抗性親である‘ヒメシラズ’の不良な諸特性はほとんど排除できており、当初の計画どおり連続戻し交配によって実用栽培に適した豆腐用大粒のハスモンヨトウ抵抗性品種を育成することができたと考えられる。このように優良品種の育成が実際に可能であった事実は、開発した DNA マーカーの有効性を示すものでもあり、今後のハスモンヨトウ抵抗性ダイズ品種の育成上、一つの重要な到達点となると考えられる。

III 今後の課題

前章までに記したとおり、‘九州 155 号’は既存の優良品種‘フクユタカ’と比べてハスモンヨトウ抵抗性に優れ、かつ、その他の諸特性は‘フクユタカ’とほぼ同等で、非常に優れた品種であることがわかった。一方、その利用、特に害虫防除の側面に関してはまだ明らかにすべき点が非常に多く残されている。前章で記したように、無防除条件下においても‘九州 155 号’ではハスモンヨトウ幼虫の生育密度が有意に抑制されていた。ただし、幼虫が全く成育できないというわけではなく、ある程度の発生は例年観察されている。また、現在のところカメムシ類など吸汁性の害虫に対する抵抗性は評価が行われていないが、筆者の圃場における観察では‘九州 155 号’に抵

抗性があるようには見受けられず、実際に生産者が栽培する場合はカメムシ類に対する防除は必須であると考えられる。これらのことから、‘九州155号’においても完全無防除栽培は現実的ではなく、今後、どの程度殺虫剤の散布回数あるいは量を減らして栽培することが可能なのか検討し、‘九州155号’にあった害虫防除体系を構築する必要がある。‘九州155号’は平成22年度に種苗法による登録出願が行われる予定で、今後は種子の入手・利用が容易となる。それを機に、生産者による試作あるいは各種公的機関等による試験が促進され、‘九州155号’の特性に合致した防除体系構築のための知見が集積されることを望みたい。

また、今後の品種育成上の問題点としては、‘九州155号’と‘ヒメシラズ’の抵抗性にはいまだ差があること、抵抗性のメカニズムが解明されていないことの二点が挙げられる。前述のように、‘九州155号’と‘ヒメシラズ’でハスモンヨトウ幼虫を飼育したときの成長指数には有意な差がある。‘ヒメシラズ’を親に使い、DNAマーカーを用いない選抜手法で育成された系統の中には、‘九州155号’よりも有意に高い抵抗性を示すものも多くあり、筆者らの解析で見いだせていない抵抗性遺伝子が‘ヒメシラズ’の中にまだある可能性が高い。今後、DNAマーカーを用いた抵抗性選抜をより実用的なものとするために、未知の抵抗性遺伝子の探索と、DNAマーカーの開発が不可避である。新規マーカー開発については九州沖縄農業研究センターで現在も継続して研究が行われており、今後の研究の発展が待たれる。

また、抵抗性のメカニズムについてはほとんど何もわかっていないというのが現状である。考え得るメカニズムとしてダイズ葉上の毛茸密度が食葉性昆虫に対する抵抗性と関係するという報告があるが(LAMBERT et al., 1992; KANNO, 1996)、少なくとも筆者らが見いだした二つの抵抗性遺伝子は毛茸密度に影響を与えないこと、解析に用いた分離集団の成長指数と毛茸密度に有意な相関が見られないこと(KOMATSU et al., 2007)等から、毛茸密度が成長指数(ひいては幼虫の成長抑制効果)に及ぼす影響は小さいと考えられる。ただし、抵抗性は成長指数のみで説明できるものではなく、例えば筆者らの抵抗性評価法では使っていない若齢幼虫に対する抵抗性や成長抑制効果ではない忌避効果(非選好性)等に毛茸が関

連している可能性も大きく、毛茸を包括的な抵抗性の要因から排除してしまうのは早計であろうと思われる。筆者らは、抵抗性メカニズムの解明のうえで大きなポイントとなるのは、遺伝子そのものの解析であると考えている。2010年にダイズの全ゲノム配列の解読が報告され、その情報はWeb上(<http://www.phytozome.net/soybean>)で広く利用が可能になっており、いわゆるポジショナルクローニングによる遺伝子単離が十分可能になった。遺伝子本体の塩基配列がわかれば、現在までに解析が終わっている他種生物の遺伝子との比較などを通してその機能を類推することが可能で、抵抗性がどのようなメカニズムによるのかも明らかにできる可能性が高い。現在、筆者らが見いだした遺伝子の解析を行うべく準備・研究を進めており、今後の進展が期待される。

おわりに

これまでに述べたように、DNAマーカーの開発とそれを利用した連続戻し交配育種によって、栽培・加工特性に優れ、ハスモンヨトウに対して抵抗性をもつ‘九州155号’が育成された。このことは、抵抗性育種という観点から一つの到達点として評価してよいと考えられる。一方で、抵抗性をさらに上げ得る余地があること、抵抗性を生かした害虫防除法が確立されていないこと等残された課題もあり、品種、防除体系を含む包括的な低農薬ダイズ栽培体系の構築という最終到達点はまだ先にあると言わざるを得ない。‘九州155号’の試作あるいは各種試験によって様々な知見が集積され、その最終目標にさらに近づくことができれば幸いである。なお、ハスモンヨトウ抵抗性選抜のためのDNAマーカーの開発については、農林水産省新農業展開ゲノムプロジェクト(DD-3240)の支援を受けて行われた。関係各位に感謝の意を表する。

引用文献

- 1) 羽鹿牧太ら(1995): 育種学雑誌 45 (別1): 205.
- 2) 原 正紀・大庭寅雄(1981): 日作九支報 48: 65 ~ 67.
- 3) KANNO, H. (1996): Appl. Entomol. Zool. 31: 597 ~ 603.
- 4) KOMATSU, K. et al. (2004): Breed. Sci. 54: 27 ~ 32.
- 5) ——— et al. (2005): Crop Sci. 45: 2044 ~ 2048.
- 6) ——— et al. (2007): Genet. Mol. Biol. 30(3): 635 ~ 639.
- 7) ——— et al. (2008): Crop Sci. 48: 527 ~ 532.
- 8) 小松邦彦ら(2009): 育種学研究 11 (別2): 48.
- 9) LAMBERT, L. et al. (1992): Crop Sci. 32: 463 ~ 466.