# 赤かび病抵抗性コムギ品種育成を核にした デオキシニバレノール汚染低減へ向けた北海道の取り組み

(独)北海道立総合研究機構農業研究本部中央農業試験場 相 馬 潤

# はじめに

コムギ赤かび病は古くから知られた病害であり、その病原菌の一部が人畜に有害な複数のかび毒を生産することも知られている。近年、かび毒の一つであるデオキシニバレノール(本稿では以下 DON と省略する)に関して大きな変化があった。2002年に厚生労働省によって、コムギに含まれる DON 濃度の暫定基準値が 1.1 ppm と定められた。暫定基準値を超えたコムギは出荷不能となるため、これ以降、DON 汚染への対処はコムギ生産の最重要課題となったといえる。

北海道において赤かび病は、程度の差はあるがほぼ毎年発生の見られる常発病害であり、年次によっては大きな被害を被ってきた。北海道の気象条件では感染時期として重要な開花期に降雨に遭遇することがあり、そのような場合に多発することが多い。したがって、北海道においても生産行程の中でいかにしてDONを低く抑えるかが喫緊の課題となり、北海道立農業試験場の試験研究によって開花始からの薬剤散布の有効性、収穫後の選別・調製の有効性が示され、生産現場で実施されてきている。

このような対策がとられているものの、問題も残されている。たとえ適切な対策がとられたとしても、気象条件などにより赤かび病が多発した場合、DON 汚染が高まり、製品とするための調製段階で歩留まりが低下する。あるいは、DON 汚染の視点からは本来避けるべき赤かび病抵抗性の劣る品種が市場性の良さなどの理由から栽培されることがあり、そのような場合には4~5回を超える多数回の薬剤散布が行われるケースも見られる。このようなケースでは、多発年には多数回の防除によっても十分な DON 汚染低減効果が得られないこともあった。より効率的に、より確実に DON 汚染を低く抑えるためには、DON 汚染の少ない新しい赤かび病抵抗性品種の育成とその利用による薬剤散布回数の削減が求

Research on Reduction of Deoxynivalenol Contamination in Wheat by Developing Resistant Cultivars in Hokkaido. By Jun Souma

(キーワード:コムギ赤かび病,抵抗性品種,反復戻し交配, QTL,薬剤防除) められている。

このような中、(独)農研機構・九州沖縄農業研究センターが中核機関となり 2006 年に「先端技術を活用した農林水産研究高度化事業」(2008 年から制度が変わり、「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」に移行した)として採択された『赤かび病抵抗性小麦品種の育成・利用を核にしたかび毒汚染低減』に、北海道立中央農業試験場、北見農業試験場、十勝農業試験場が参画し、上記の抵抗性品種の育成と利用に関する試験を2009 年まで 4 年間実施した。本稿では、この研究の成果を紹介したい。なお、北海道立農業試験場は 2010 年に地方独立行政法人北海道立総合研究機構の一部として改組されている。

# I 研究の方向性

コムギ品種の赤かび病抵抗性向上による DON 汚染リスクの低減とそれに応じた薬剤散布回数の削減を研究の目標とした。

## 1 抵抗性品種育成の戦略

北海道においては数十年前から赤かび病抵抗性の改善が試みられてきた。しかし、抵抗性が十分に改善された実用品種を世に出すことはできなかった。この原因として不良形質の連鎖があった。赤かび病抵抗性を高めるために抵抗性の優れる品種系統を優良品種に交配すると、赤かび病抵抗性が高まる一方で、収量や品質に関する不良形質が付随する連鎖を断ち切ることが困難であった。表-1にその例を示した。抵抗性系統として選抜した'北系春 768'は実用品種である'春よ恋'(抵抗性「中」)、'ハルユタカ'(「やや弱」)に比較して赤かび病抵抗性が改善され、DON 濃度も低くなっているが、標準品種の'春よ恋'よりも収量性が劣っていた。

このような不良形質を打破するために、本課題では二つの手法、① DNA マーカー選抜、②反復戻し交配を利用した準同質遺伝子系統の育成、を用いた。抵抗性の優れる遺伝資源'蘇麦 3 号'の赤かび病抵抗性に関与するQTL(量的形質遺伝子座)の DNA マーカーに関しては様々な報告があり、これを利用することが可能となっている。図-1 に模式的に示したように、抵抗性を導入しようとする優良品種に'蘇麦 3 号'を交配した後代( $F_1$ )

に優良品種を繰り返し交配する(反復戻し交配)。そして、各段階で DNA マーカー検定を行い、'蘇麦 3 号'のQTL の存在を確認していく。これを繰り返すことによって、抵抗性 QTL が導入されており、その他のゲノム(遺伝子)は元の優良品種とほぼ同じ「準同質遺伝子系統」を育成することができる。6 回の戻し交配で理論的には 99.2%が優良品種のゲノムとなる。

本課題ではこれら手法を用いて、春播のパン用コムギとして製パン性と収量性に優れる'はるきらり'、日本めん用として優れ多収の秋播コムギ'きたほなみ'に'蘇麦3号'の抵抗性を導入することとした。

#### 2 薬剤防除の検討

本課題の目的の一つは、抵抗性品種を用いて薬剤散布 回数を削減することである。抵抗性が向上することによ り、薬剤散布回数をどこまで削減することが可能である のかについて検討を加えた。

表-1 従来の手法で選抜された赤かび病抵抗性系統の収量性 (2005年, 北見農試)

品種名		赤かび病		子実重 (kg/ 10 a)	標準 対比 (%)	千粒重 (g)
m性石 または 系統名	たは発病	DON <sup>b)</sup> 濃度 (ppm)	抵抗性 評価			
北系春 768 a)	4.4	0.37	やや強	293	71	37.8
春よ恋	6.5	0.54	中	415	100	44.4
ハルユタカ	7.5	1.89	やや弱	404	97	43.2
蘇麦3号	2.9	0.26	強	_	_	_

a) 北系春 768: 龍麦 13 号/蘇麦 3 号//空系春 2/Grandin.

# Ⅱ成果の概要

## 1 準同質遺伝子系統の育成

## (1) 春播コムギ

良質多収の春播コムギ品種 'はるきらり' に'蘇麦 3 号' の抵抗性 QTL を有する系統 'GS02-71' を交配し, 反復 戻し交配した準同質遺伝子系統 (BCsFs) 17 系統を育成した。これらの系統は抵抗性 QTL 近傍の三つの DNA マーカー, 3BS (gwm533, gwm493), 5AS (gwm304, wmc705, gwm293), 6BS (wmc398, wmc397) がすべて蘇麦 3 号型であることを確認した (表-2)。

これら 17 系統について,赤かび病の発生程度,DON 汚染程度を調査した。2009 年に北見農試において試験を実施した。開花期に病原菌 Fusarium graminearum の大型分生胞子( $5 \times 10^2$  個/ml)を噴霧接種し,発病指数( $0 \sim 8$ ),赤かび粒率,DON 濃度を調査した。その結果,三つの QTL を導入した 17 系統は発病指数,赤かび粒率ともに反復親である'はるきらり'よりも低かっ

表-2 準同質遺伝子系統の遺伝子型

	抵抗性 QTL 近傍の遺伝子型 a)			
	3BS	5AS	6BS	
21S78 ~ 21S94 (BC5F5 世代,17 系統)	S	S	S	
はるきらり(反復親)	K	K	K	
GS02-71 (抵抗性親)b)	S	S	S	

a) S:蘇麦3号型, K:はるきらり型.

b) GS02-71:蘇麦3号/空系春14,抵抗性「強」.

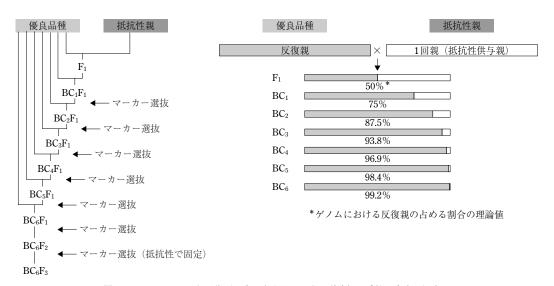


図-1 DNAマーカーと反復戻し交配を利用した準同質遺伝子系統の育成の概念図

 $<sup>^{\</sup>mathrm{b)}}$ 中央農試における開花始からの 2 回防除のサンプルの値.

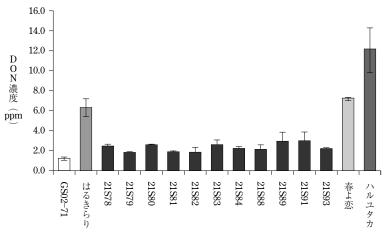


図-2 抵抗性 QTL を導入した準同質遺伝子系統の DON 汚染程度 (2009 年, 北 見農試)

DON 濃度の測定は 2.2 mm 目の篩上のサンプルについて ELISA 法で実施した. DON 濃度は 3 反復の平均値. エラーバーは標準誤差を示す.

品種名または系統名	出穂期 (6月)	成熟期 (8月)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	倒伏 (0 ~ 5)	子実重 (kg/10 a)	はるきらり 対比 (%)	千粒重 (g)	穂発芽 程度 (0~5)	赤さび病 (0 ~ 100)
21S78 ~ 21S94 の 17 系統の平均	27	18	93	8.0	3.5	290	96	35.1	0.5	0
最大値	28	20	96	8.4	3.8	321	107	37.0	1.3	0
最小値	27	14	90	7.7	3.3	247	82	30.9	0.1	0
はるきらり (反復親)	27	19	92	7.5	2.8	301	100	36.9	0.7	0
GS02-71 (抵抗性親)	23	9	94	8.0	3.3	277	92	33.8	0.5	20

表-3 準同質遺伝子系統の農業特性(2009年, 北見農試)

た。また, 11 系統について DON 濃度を調査した結果, いずれも反復親の'はるきらり'よりも低かった(図-2)。

次に、17 系統の農業特性について調査した(2009 年、 北見農試)。その結果、表-3 に示したように、出穂期と 成熟期は 'はるきらり'とほぼ同等であった。また、倒伏 の影響により、系統間で収量や千粒重のばらつきが大き くなったが、'はるきらり' 並の多収を示す系統が得られ ている。さらに、穂発芽耐性、赤さび病抵抗性も 'はる きらり' 並と考えられた。

さらに、準同質遺伝子系統の品質の評価を行った(2008年、北見農試)。その結果、製粉歩留は'はるきらり'とおおむね同程度であった。また、製パン適性に影響の大きい高分子量グルテンサブユニット(HMW-GS)の遺伝子型も'はるきらり'と同タイプであった(表-4)。これらのことから準同質遺伝子系統は優良な品質特性を備えていると考えられる。

表-4 準同質遺伝子系統の品質特性(2008年, 北見農試)

	製粉 a)	HMW-GS b)			
品種名または系統名	歩留 (%)	Glu A1	Glu B1	Glu D1	
21S78 ~ 21S94 の 17 系統の平均	67.4	2	7 + 9	5 + 10	
最大値	69.5	_	_	_	
最小値	65.7	_	_	_	
はるきらり (反復親)	69.1	2	7 + 9	5 + 10	
GS02-71(抵抗性親)	54.5	n	7 + 8	5 + 10	

a) ブラベンダーテストミルによる.

優良品種 'はるきらり' に'蘇麦 3 号' 由来の三つの抵抗 性 QTL を導入した準同質遺伝子系統は、赤かび病抵抗 性が改善され、DON 汚染が低く、'はるきらり' とほぼ 同等の農業形質・品質を有することが明らかとなった。

b) 高分子量グルテンサブユニットの遺伝子型.

### (2) 秋播コムギ

秋播コムギについては日本めん用として高品質で多収の 'きたほなみ'を反復親とし、'蘇麦 3 号'を抵抗性親として抵抗性 QTL を導入した。春播コムギでは 3BS, 5AS, 6BS の抵抗性 QTL を導入したが,秋播コムギではこれらに加えて、2DL、4BS のマーカーも加えた。2009 年までにこれら 5 種のマーカーが蘇麦 3 号型である系統(BC $_{7}$ F1 世代)を育成した。さらに,2~4 種のマーカーが蘇麦 3 号型の系統(BC $_{3}$ F4 世代)について,反復親である 'きたほなみ'と赤かび病発生程度,DON 汚染程度を比較したところ,これらが低い系統が認められた。さらに,農業特性と品質についても検討したところ,改良されていることが明らかとなった。

以上のように、春播コムギ、秋播コムギともに DNA マーカー選抜と反復戻し交配を利用することにより、赤かび病抵抗性が向上し、農業特性、品質に優れた系統を 短期間に育成することができた。

## 2 準同質遺伝子系統に対する薬剤防除法の検討

'蘇麦 3 号' 由来の三つの抵抗性 QTL を'はるきらり' に導入した準同質遺伝子系統(BC6F4 世代,赤かび病抵 抗性「やや強」相当)に対する薬剤防除試験を 2009 年 に中央農試で実施した。

F. graminearum の培養エンバク粒を圃場にばらまいた接種条件と、自然発生条件において、DON 汚染低減効果の高い殺菌剤であるテブコナゾール水和剤(2000倍)を 0 回, 2 回, 3 回, 4 回散布する処理を行った。供試材料は 'はるきらり' 準同質遺伝子系統のほか, 'ハ

ルユタカ'(抵抗性「やや弱」) および反復親である'は るきらり'(抵抗性「中」) を供試した。薬剤散布は各品 種・系統とも開花始から約1週間間隔で行った。

自然発生条件における DON 汚染程度を図-3に示した。'ハルユタカ'の 0 回散布では暫定基準値(1.1 ppm)を大きく超える 9.66 ppm の高汚染状況であった。このとき,'はるきらり'準同質遺伝子系統の汚染程度は 0.69 ppm と低かった。また,2 回散布での DON 濃度は'ハルユタカ'の 4 回散布よりも低く,'はるきらり'での3回,4 回散布とほぼ同等であった。接種条件での試験では,'ハルユタカ'と'はるきらり'の 0 回散布の DON 濃度はそれぞれ 40.7 ppm,37.1 ppm とさらに高汚染条件となった。このような高い汚染状況では,品種間差,薬剤処理間差がより明確となり,'はるきらり'に対する 4 回散布よりも準同質遺伝子系統に対する 2 回散布の汚染程度が低かった(図-4)。

以上のことから、'はるきらり' 準同質遺伝子系統は DON 汚染に対するリスクが従来の品種よりも低く、かなりの多発生条件においても2回散布で十分な防除効果が得られることが示された。'はるきらり' 準同質遺伝子系統が品種化された場合、現行で春播コムギに対しては4~5回を超える散布事例に比べて、薬剤散布回数を半減することができると考えられた。

秋播コムギについては,準同質遺伝子系統の育成経過が春播よりも遅れていたため(秋播コムギは春播コムギに比較して世代促進が困難であることによる),準同質遺伝子系統を用いた防除試験は実施できなかったことか

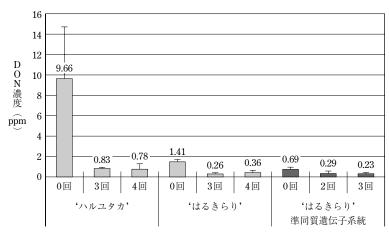


図-3 'はるきらり' 準同質遺伝子系統に対する薬剤散布回数と DON 汚染低減効果 (2009 年,中央農試)

自然発生条件においてテプコナゾール水和剤(2,000 倍)を開花始から散布. 2.2 mm 目篩上の子実の DON 濃度を ELISA 法により分析. DON 濃度は 3 反復の平均.

エラーバーは標準偏差を示す.

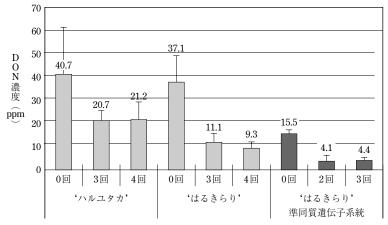


図-4 'はるきらり' 準同質遺伝子系統に対する薬剤散布回数と DON 汚染低減効果 (2009 年,中央農試)

接種条件においてテプコナゾール水和剤 (2,000 倍) を開花始から散布. 2.2 mm 目篩上の子実の DON 濃度を ELISA 法により分析. DON 濃度は 3 反復の平均.

エラーバーは標準偏差を示す.

ら、'蘇麦 3 号' の後代である系統 '16036'(抵抗性「強」)を用いた試験を行った。その結果、抵抗性「やや弱」の 'ホクシン' に比較して薬剤散布を 1 回削減できると考えられた。

# Ⅲ成果の継承

本課題により、赤かび病抵抗性が優れ DON 汚染リスクが低く、優良品種に近い農業特性・品質を兼ね備えた有望系統が育成され、その系統に対する薬剤防除回数は現行に比較して大きく削減できることが明らかとなった。この成果をさらに発展させるため、2010 年から新しい研究課題に取り組んでいる。

課題名は『かび毒汚染低減を目的とした赤かび病抵抗性コムギ新品種の育成と薬剤防除法の確立』である。北海道立総合研究機構(中央農業試験場,北見農業試験場,十勝農業試験場)および北海道大学大学院が実施機関となり「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」(2010~12年)として採択された。

この課題では'はるきらり'準同質遺伝子系統の農業特性と品質に関する検討をさらに進め、最短で 2014 年での品種化を目指している。そして、これが品種となった際の薬剤防除法をあわせて普及させるため、最適な薬剤散布タイミングを明らかにすることとしている。さらに、秋播コムギにおいて進めてきた'きたほなみ'準同質遺伝子系統については、導入する五つの抵抗性 QTL の有無が異なる 32 パターンの系統を育成し、それぞれについ

て、赤かび病抵抗性と DON 汚染程度を調査する。このことによって、それぞれの抵抗性 QTL の効果とそれらの組合せの効果が明らかとなり、育種を促進するための新知見が得られる。加えて、異なる組合せについて、植物病理学的視点から抵抗性機作を明らかにする。

"はるきらり" 準同質遺伝子系統が品種化されれば、コムギでは国内初となる。また、本品種が栽培されることにより北海道の春播コムギの DON 汚染リスクは大きく低下し、防除に係るコストも大きく削減されることとなろう。 秋播コムギにおいては五つの抵抗性 QTL の組合せ 32 パターンを有する準同質遺伝子系統が育成される。これは育種の効率化にとって貴重な資源となる。また、これらを材料として抵抗性のメカニズムが解析されることと併せて、本課題は学問的な価値も高いと言えよう。

#### おわりに

DNAマーカー選抜と反復戻し交配を利用した育種方法によって、DON 汚染リスクが低く、農業特性・品質に優れた実用品種が従来と比較して極めて短期間で育成されようとしている。後継課題も含め、本稿で紹介した研究成果が北海道のコムギ生産に寄与できることを期待したい。

最後に、(独)農研機構九州沖縄農業研究センターにおいて全国の赤かび病研究をリードし、この研究の機会を提供していただいた中島 隆博士 (現所属は食品安全委員会) に感謝の意を表したい。