

キャッサバモザイク病抵抗性品種の育成を効率化する DNA マーカー

キャッサバは熱帯・亜熱帯地域で栽培されるイモ類作物である。近年、キャッサバモザイク病（Cassava Mosaic Disease: CMD）の被害が深刻化している。今回開発した DNA マーカー法は CMD 抵抗性に関与する遺伝子の識別を可能にし、比較的安価な実験機材を用いた方法、あるいは高速かつ多検体判別に向く方法の 2 種類の手法を選択できることから、抵抗性品種の開発にかかるコストや労力を削減する。本技術は、CMD の深刻な被害がみられる地域において、CMD 抵抗性品種の開発の加速化に貢献し得る。

キーワード：キャッサバ、キャッサバモザイク病、DNA マーカー、病害抵抗性

背景・ねらい

熱帯および亜熱帯地域で栽培されるキャッサバ（*Manihot esculenta*）は、世界で最も生産されているイモ類作物であり、約 8 億人の主食作物でもあることから、その安定的な生産は食料安全保障の観点から非常に重要である。キャッサバのイモから作られる澱粉は、食品・工業用にも利用されており、日本も年間 12 万 t 相当を主に東南アジアから輸入している（財務統計 2023）。

キャッサバ生産性を著しく低下および不安定にしているウイルス病のキャッサバモザイク病（CMD）は長年にわたりアフリカやインドで問題となっている。最近では東南アジアでスリランカキャッサバモザイクウイルスによる被害が深刻になっている。タイ農業協同組合省農業経済局によると、タイでは 2023 年に前年度比 180 万 t の減収が発生し、CMD がその主な原因と考えられている。CMD が一度でも発生してしまうと防除が困難であり、CMD 抵抗性を有するキャッサバ品種を利用することが唯一有効な対策であると考えられているが、CMD 抵抗性品種を選抜する際に数年に及ぶ抵抗性評価に関わる大規模な圃場試験が必要になり、多大なコストや労力が生じるのが現状である。育種の高速・効率化をねらうため、CMD 抵抗性に関わる遺伝子を識別する DNA マーカーの開発が求められている。

成果の内容・特徴

- ベトナム農業遺伝学研究所が保持する CMD 抵抗性を有するキャッサバ品種・系統は、CMD 抵抗性に関わるとされる DNA ポリメラーゼδサブユニット 1（*POLD1*）遺伝子に変異をもつ（図 1、表 1）。コロンビアの国際熱帯農業センター（CIAT）およびナイジェリアの国際熱帯農業研究所（IITA）由来の系統・品種は、それぞれ 680 番目のアミノ酸であるグリシンがバリンに、685 番目のロイシンがフェニルアラニンに置換する変異を有する（以下、G680V 型および L685F 型とする）（表 1）。
- 開発した DNA マーカーは *POLD1* の遺伝子型を識別できる。比較的安価な実験機材で実施できる dCAPS

法と（図 2A、2B）、高速かつ多検体判別に向く KASP の 2 種類の手法を選択できる（図 2C）。

- 開発した DNA マーカーの有効性を検証するため、*POLD1* 遺伝子が通常型および G680V 変異型のキャッサバ系統を CMD 感染圃場で栽培して、病徴の程度を比較したところ、通常型と変異型とで有意に病徴に差があり、変異型のほとんどは無病徴もしくは葉の形態に影響がでない。

成果の活用面・留意点

- 本法において、CMD 抵抗性をもつキャッサバ個体を効率的に選抜することが可能となる。熱帯地域各国・地域の優良キャッサバ品種に CMD 抵抗性をもつキャッサバ系統を交配し、その後代から選抜することで、栽培環境や用途に適したキャッサバの品種開発につながる。
- 本報をもとにすることで、東南アジアで発生しているスリランカキャッサバモザイクウイルスに対してのみだけでなく、アフリカなどで主に発生しているキャッサバモザイクウイルス系統に対しての抵抗性品種開発にも適用可能であると期待される。Lim, YW. Et.al *Nat Commun*13, 3933 (2022) を参照。
- 本報は、DNA マーカー選抜の効果を病徴の程度で評価したのみで、今後は収量や環境ストレス応答など、より長期的な効果を研究する必要がある。

その他

予算区分：外部資金 [科研費 21KK0110]

研究実施期間：2022～2024 年度

研究担当者：徳永浩樹（熱帯・島嶼研究拠点）、Nhan, P. T.、Hoa, T. M.、Trang, N. T. H.、Tung, N. B.（フロンティア農業研究センター）、Huong, P. T.、Anh N. H.、Huong, L. T. M.、Ham, L. H.（農業遺伝学研究所）、Thuy, C. T.（国際熱帯農業センター）、Zhang, X.（国際熱帯農業センター、現カリフォルニア大学）、関原明（理化学研究所）

発表論文等：Tokunaga H. et al. *Breeding Science*. 2024 年 12 月受理



東南アジア品種（CMD 感受性） C-33 系統（CMD 抵抗性）

図 1 キャッサバモザイク病抵抗性品種

ベトナムの CMD 感染が発生している圃場で 3 か月間栽培した様子。通常の品種では葉の萎縮やモザイク症状を生じるのに対して、コロンビア CIAT 由来の C-33 系統は無病徴のまま成長する。写真は国際熱帯農業センターの Ms. Thuy より提供。

表 1 CMD 抵抗性品種・系統における CMD 抵抗性に関わる *POLD1* 遺伝子の変異箇所

品種・系統	CMD 感受性	<i>POLD1</i> の変異箇所と変異に伴うアミノ酸			
		680番目のアミノ酸		685番目のアミノ酸	
		コドン	アミノ酸	コドン	アミノ酸
ベトナムの主要品種	高い	G G T	グリシン	T T G	ロイシン
コロンビアCIAT由来の系統	抵抗性	G T T	バリン	T T G	ロイシン
ナイジェリアIITA由来の品種	抵抗性	G G T	グリシン	T T C	フェニルアラニン

ベトナムの主要品種: KU50, KM140, BK, HL-S12 等; コロンビア CIAT 由来の系統: C-33, CR27-20, CR100-9, AR9-4 等;
ナイジェリア IITA 由来の品種: IBA920057, IBA972205, IBA980505 等

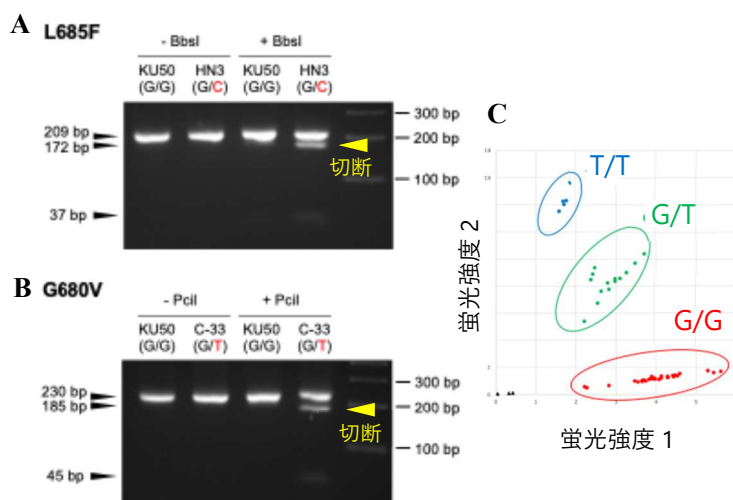


図 2 DNA マーカーを用いた *POLD1* 遺伝子の変異型の識別

(A, B) dCAPS 法により、PCR 産物に制限酵素認識部位を導入することで、*POLD1* 遺伝子が通常型（品種 KU50）と L685F 型（品種 HN3）および G680V 型（C-33 系統）の変異をもつ個体の DNA をもとにした PCR 増幅産物を制限酵素 BbsI (A) または PciI (B) 処理する。切断されない場合は通常型、切断された場合は変異型と判別できる。(C) KASP アッセイ*により、*POLD1* 遺伝子が通常型と G680V 型の変異をもつ個体を迅速に識別することが可能であることが分かった。2 種の蛍光強度の割合により、通常型 G/G（相同染色体の対象の塩基がどちらも G）、ヘテロ G/T、ホモ T/T の 3 つのグループに分類される。

*KASP アッセイ：Kompetitive Allele Specific PCR の略。蛍光色素 FAM や HEX 等を利用して、対立遺伝子の既知の SNP (1 塩基多型) や InDel (挿入/欠失) を PCR 法により高い確度で迅速に識別することができる。

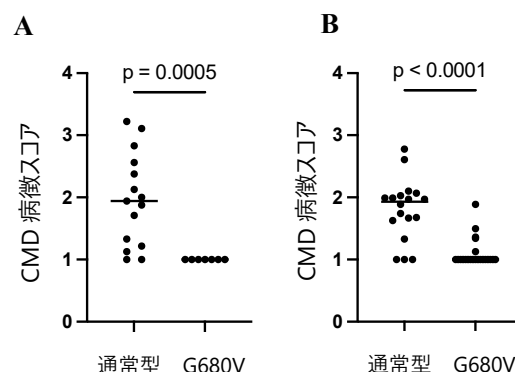


図 3 *POLD1* 遺伝子の変異型と CMD 感受性の関連

(A, B) G680V 型の CMD 抵抗性系統と東南アジア品種 (A) または南米品種 (B) との交配後代を CMD 感染圃場で 3 か月栽培後、CMD 病徴を観察した。CMD 病徴スコア 1 が無病徴で、数が大きくなるとより深刻であることを示す。dCAPS 法によりグループ分けした、*POLD1* 遺伝子が通常型と G680V において CMD スコアに有意な差がみられることが分かった。

図表は Tokunaga H. et al. (2025) © Breeding Science より転載/改変して作成（転載/改変許諾済み）