

学 位 論 文 要 旨

専攻 _____ 課程 _____
学籍番号 _____
氏 名 _____ 波部 _____ 一平 _____



論文題目： _____ バレイショにおける青枯病抵抗性に関する研究 _____
_____ (Studies on resistance to bacterial wilt caused by the *Ralstonia solanacearum* species complex in potato) _____

要旨

地球温暖化が進行するにつれ、バレイショ栽培において大きな問題となり得るのは青枯病である。これまで、青枯病抵抗性育種は汚染圃場における抵抗性評価により行われてきたが、バレイショが4倍体であること、青枯病抵抗性が量的形質遺伝子座 (Quantitative trait locus, QTL) により支配されていること、そして青枯病の原因細菌が種複合体 (*Ralstonia solanacearum* species complex, RSSC) でありバレイショへの病原力が多様であることから、普及性の高い抵抗性品種の育成が困難であった。このような問題に対応するためには、抵抗性検定方法の改善、RSSCの病原力および抵抗性に対する理解、そして育種における効率的選抜を可能にするDNAマーカーの開発が必要である。

第1章では、バレイショの青枯病抵抗性に関する *in vitro* 検定法を開発するため、抵抗性系統および罹病性品種を *in vitro* 条件下で培養し、*R. pseudosolanacearum* の Phylotype I/biovar 4 菌株を接種株として両系統の発病度を明瞭に識別できる条件を明らかにした。この方法を用いて、圃場での抵抗性程度が異なる9つの品種を評価した結果、圃場での抵抗性が高い品種ほど発病度が低く、本検定法は制御された環境での青枯病抵抗性の評価に有効であると考えられた。

第2章では、RSSCの異なる菌株における病原力を明らかにするため、国内で採取されたバレイショに被害を及ぼす26菌株 (Phylotype IおよびIV) について、接種後の培養温度を24°Cないし28°Cとし、抵抗性系統および罹病性品種に対する発病度を *in vitro* 検定法で評価した。病原力は菌株によっても異なり、また接種後の温度によっても大きく異なっていた。それぞれの菌株の品種および培養温度に対する発病度を基にクラスター分析を行ったところ、26菌株は新しい5つの病原力型 (病原型 A, B, C, D, および E) に分類することができた。

第3章では、バレイショにおける青枯病抵抗性の QTL 解析を行った。抵抗性2倍体系統 (RP) と罹病性2倍体系統 (SP) を交配し、F₁ 集団を育成した。この集団を two-way pseudo-testcross とみなし、一塩基多型 (Single nucleotide polymorphism, SNP) マーカーを用いて、RP に対しては1,476 SNPs が422座にマップされ、SP に対しては2,663 SNPs が475座にマップされた高密度連鎖地図を構築した。F₁ 集団の抵抗性評価は、*R. pseudosolanacearum* (Phylotype I/biovar 4/race 1/病原型 A) を用

いた *in vitro* 検定法により行われた。バレイシヨの第 1, 3, 7, 10, および 11 番染色体上に 5 つの QTLs (*qBWR-1*~*-5*) が同定され, 各 QTL の寄与率は 9.3~18.4% を示した。5 つの QTLs に抵抗性アレルが集積されると, 抵抗性親と比較して抵抗性程度が向上した。また, 各 QTL の効果だけでなく, *qBWR-1*, *qBWR-3*, および *qBWR-5* の相互作用も明らかとなった。

第 4 章では, 第 3 章の結果を拡張するため, 同じ 2 倍体 F₁ 集団および SNP マーカーによる RP と SP の連鎖地図を用いた。*In vitro* 検定を用いて 3 種の異なる菌株 (*R. pseudosolanacearum* の Phylotype I/biovar 4/病原型 A 株と Phylotype I/biovar 3/病原型 C 株, および *R. syzygii* の Phylotype IV/biovar N2/病原型 A 株) を接種し, 24°C または 28°C で培養した後に抵抗性を評価した。その結果, 第 1, 3, 5, 6, 7, 10, および 11 番染色体上に 5 つの主働 QTL を含む合計 10 の QTLs を同定した。主働 QTL である *PBWR-3* と *PBWR-7* は *R. pseudosolanacearum* と *R. syzygii* に対して安定した抵抗性を示したが, 同じく主働 QTL である *PBWR-6b* は *R. pseudosolanacearum* (Phylotype I/biovar 3) に対する菌株特異性を示し, 低温でより高い抵抗性を示した。

第 5 章では, 主働 QTL である *PBWR-6b* のマーカー開発を行った。QTL 領域内に位置する候補遺伝子の塩基配列を, RP と SP で比較した。その結果, RP の抵抗性アレルに固有の配列を持つ A1 アレルを同定し, これを特異的に検出する 2 つの分子マーカーを開発した。2 倍体および 4 倍体の交配集団においてマーカーの有無と抵抗性の程度は一致し, *PBWR-6b* は顕性遺伝により後代に伝わるということが明らかとなった。さらに, 開発したマーカーを既存のマルチプレックスポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法に組み込み, 青枯病, ジャガイモシストセンチュウ, ジャガイモ Y ウイルス, ジャガイモ X ウイルス, および疫病に対する抵抗性遺伝子が同時検出できるようになったため, 青枯病抵抗性系統の迅速な選抜が可能となった。

本研究により得られた知見と開発した技術は, バレイシヨにおける青枯病抵抗性育種の効率化に大いに寄与するものと期待される。