

テンサイの黒根病抵抗性に関する遺伝・育種学的研究

学位論文内容の要旨

近年, *Aphanomyces cochlioides* によって引き起こされる根腐れ (黒根病) が北海道のテンサイ栽培において深刻な問題となっている。しかし, テンサイでは, *A. cochlioides* に起因する苗立枯病については抵抗性育種の研究がなされてきたが, 成熟した主根の腐敗をもたらす黒根病を対象とした育種研究は殆ど行われてこなかった。わずかに黒根病抵抗性が優性に遺伝することが指摘されていたに過ぎず, 育種体制の早急な構築が必要である。本研究では, 本病害抵抗性の遺伝機構の解明を試み, 黒根病抵抗性品種の育種方法について検討した。

黒根病抵抗性検定方法の確立と変異解析

テンサイ黒根病抵抗性品種を育成するには, 抵抗性を誤りなく評価できる検定方法の確立が不可欠である。そこで, 黒根病が激発する汚染圃場を検定に利用し, 根部の病徴ならびに腐敗程度を指標とした判定に基づき, 抵抗性育種素材の評価と選抜の可能性について検討した。その結果, 汚染圃場では, *A. cochlioides* の感染ポテンシャルが高く, 発病程度に大きな変異幅がみられ, 抵抗性に関して品種間差を把握できることがわかった。今回確立した抵抗性検定方法を利用し, 北海道農業研究センターに保存されているテンサイ育成系統のうち, 特に遺伝的多様性に富む〇型系統を中心に 102 種類の系統を調査したところ, 抵抗性に明らかな系統間差が認められるとともに, 広い幅の抵抗性変異が確認された。2000 年から 2009 年までの 10 年間にわたる検定の結果, 北海道農業研究センターの育成系統の中に, 腐敗根がほとんど発生せず, 評価個体の大半が病斑も生じない高度抵抗性の遺伝資源「NK-310mm-0」を発見した。

黒根病抵抗性の QTL 解析と抵抗性遺伝子の同定

「NK-310mm-0」の抵抗性の遺伝機構が明らかとなり, 効果の大きい抵抗性遺伝子と密接に連鎖する分子マーカーが設計できれば, 黒根病抵抗性の効果的な選抜の可能性が拓かれる。まず, 高度抵抗性系統「NK-310mm-0」と罹病性系統「NK-184mm-0」との交配後代において, AFLP, RAPD, SSR, CAPS などの DNA マーカーを利用し, テンサイの 9 本

の半数染色体に対応する連鎖地図を構築した。次に、汚染圃場における黒根病抵抗性の表現型データとマーカーを用いた遺伝子型データを組合せて、「NK-310mm-0」に由来する抵抗性に関して、 F_2 集団ならびに F_3 系統群に対して QTL 解析を試みた。その結果、黒根病抵抗性に関与する 1 個の QTL (*qAcr1* と命名) を第 3 染色体に検出した。この QTL は、 F_2 集団では表現型変異の約 20%、 F_3 系統群では約 65% の高い寄与率を示した。

黒根病の検定圃場は、今後いつまでも利用可能とは限らず、また、検定を進める際に環境効果を完全に排除することは難しい。そこで、温室内における人工接種法を利用して、圃場検定と人工接種検定との間で発現する抵抗性遺伝子が一致するか否かについて、さらに検討を加えた。人工接種法による評価の結果、「NK310mm-0」と「NK-184mm-0」の交配に由来する BC_1F_2 集団では、健全個体と罹病個体を明確に区別することができ、抵抗性と罹病性の分離比が 3:1 の優性単因子の遺伝モデルに適合することがわかった。そこで、複数の AFLP マーカーを設計して抵抗性遺伝子座の連鎖分析を行ったところ、圃場検定によって検出された上述の第 3 染色体上の QTL 領域に位置づけることができ、AFLP マーカー e45m26-1 と約 3.3cM で連鎖する抵抗性遺伝子を同定した。この抵抗性遺伝子は、本研究によって新規に発見されたものであり、*Acr1* と命名することとした。

F_1 における圃場抵抗性の発現と黒根病抵抗性品種「北海 90 号」の育成

テンサイは、一代雑種育種法を基幹育種法としており、遺伝的背景の異なる親系統間の F_1 において発現した性能が評価され、親系統の利用価値が判断される。評価対象となる抵抗性は環境の影響を受けやすいいわゆる圃場抵抗性であり、その発現には *Acr1* のみならず他の遺伝子の関与も予想される。そこで、トッブクロス検定により *Acr1* が多様な遺伝的背景下においても安定して発現するか否かを確かめるとともに、ダイアレルクロス分析により、圃場抵抗性の遺伝様式について検討した。その結果、育成系譜を異にする 10 種類の雄性不稔系統を母本とし、「NK-310mm-0」を花粉親に配して、得た F_1 は、いずれも母本の遺伝子型の如何を問わず例外なしに高度抵抗性を示し、抵抗性一代雑種の交配組合せを決定する上で「NK-310mm-0」の利用価値が高いことが確認された。また、育成系統のうち、「NK-310mm-0」とは系譜が異なる系統の中にも、圃場抵抗性を発揮し、これら系統には明らかな相加効果や優性効果を示す遺伝子を持つものも確認された。このような遺伝子型も一代雑種の交配計画に活用すれば、*Acr1* による抵抗性を補完する実用性にすぐれた高度抵抗性 F_1 の作出が可能と考えられた。

以上の知見を活用し、*Acr1* による黒根病抵抗性と農業形質を兼備した実用的な遺伝子型の作出を試みた。その成果の一つとして、「NK-310mm-0」に匹敵する高度抵抗性を示し、収量性やその他の実用形質も普及品種と比べて遜色のない世界初の黒根病抵抗性品種「北海 90 号」を育成できた。

学位論文審査の要旨

主査	教授	三上哲夫
副査	教授	喜多村啓介
副査	教授	近藤則夫
副査	准教授	久保友彦

学位論文題名

テンサイの黒根病抵抗性に関する遺伝・育種学的研究

本論文は109頁からなる和文論文であり、図18と表28を含む。別に、参考論文10編が添えられている。

Aphanomyces cochlioides によって引き起こされる黒根病はテンサイ栽培において深刻な問題となっており、抵抗性品種の開発が急務である。これまで、*A. cochlioides* に起因するテンサイ苗立枯病については抵抗性育種の研究がなされてきたが、成熟根の腐敗をもたらす黒根病を対象とした研究は殆ど行われてこなかった。わずかに黒根病抵抗性が優性に遺伝することが指摘されていたに過ぎない。

本研究では、黒根病に対する抵抗性の遺伝機構の解明を試み、抵抗性品種の育種方法について検討した。得られた結果は以下のように要約される。

1. 黒根病抵抗性遺伝資源の発見

黒根病が激発する汚染圃場を利用した抵抗性の検定方法を開発した。この方法を使って、合計102種のテンサイ系統を調査したところ、抵抗性に明確な系統間差が認められた。ここで特筆されるのは、腐敗根がほとんど発生せず、調査個体の大半が病斑も生じない高度抵抗性の系統「NK-310mm-0」を発見したことである。

2. 黒根病抵抗性の QTL 解析と抵抗性遺伝子の同定

まず、高度抵抗性系統「NK-310mm-0」と罹病性系統「NK-184mm-0」との交配後代を用いて、テンサイの9本の半数染色体に対応するDNAマーカー連鎖地図を作った。次に、検定用汚染圃場で取得した黒根病抵抗性の表現型データとDNAマーカーを用いた遺伝子型データを組合せて、「NK-310mm-0」に由来する抵抗性のQTL(量的形質遺伝子座)解析を試みた。その結果、1個の抵抗性QTL(*qAcr1*と命名)を第3染色体上に検出した。

黒根病の検定圃場は、いつまでも利用可能とは限らず、また、検定の際に抵抗性の発現に及ぼす環境効果を完全に排除することは難しい。そこで、温室内での黒根病菌接種法を試みた。人工接種法による評価の結果、「NK-310mm-0」と「NK-184mm-0」との交配に由来するBC₁F₂集団では、優性に働く1個の抵抗性遺伝子の分離を見た。この抵抗性遺伝子座は連鎖分析を通じて、上述の第3染色体上の*qAcr1*領域に位置づけられた。ここに検出した抵抗性遺伝子は、新たに発見されたものであり、*Acr1*と命名した。

3. 黒根病抵抗性品種「北海90号」の育成

「NK-310mm-0」に由来する*Acr1*が、多様な遺伝的背景下においても安定して抵抗性を発現するか否かを調べた。育成の系譜を異にする10種の母本系統に、「NK-310mm-0」の花粉を交配して得たF₁植物は、いずれも母本の遺伝子型の如何を問わず例外なしに高度抵抗性を発現した。これは黒根病抵抗性のハイブリッド品種育成用の交配組合せを決定する上で、「NK-310mm-0」の利用価値が極めて高いことを示す結果である。

以上の知見を活用し、*Acr1*による黒根病抵抗性とすぐれた農業形質を兼備した実用的な遺伝子型の選抜を試みた。その成果の一つとして、「NK-310mm-0」に匹敵する高度抵抗性を示し、収量性やその他の実用形質も普及品種と比べて遜色のない世界初の黒根病抵抗性品種「北海90号」を育成した。

本研究の成果は、テンサイの黒根病抵抗性の機構解明と育種技術の開発に寄与するところが大きく、学術および応用の両面で高く評価できる。

よって審査員一同は田口和憲が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。