

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 NAZMOON NAHER TONU  
 学位 博士 ( 学術 )  
 学位記番号 新大院博 (学) 第 201 号  
 学位授与の日付 平成 25 年 9 月 20 日  
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
 博士論文名 Genetic Analysis of Resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in *Brassica oleracea*  
 (*Brassica oleracea* における黒腐病菌抵抗性の遺伝解析)

論文審査委員 主査 教授 ・ 岡崎桂一  
 副査 教授 ・ 西村 実  
 副査 准教授 ・ 中野 優  
 副査 准教授 ・ 佐野義孝

博士論文の要旨

*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 細菌によって引き起こされる黒腐病は、野菜として重要なアブラナ科野菜に感染し、その被害は国内外で問題となっている。本病原菌は、葉の水孔や傷口から侵入し、導管を通じて全身感染する。菌の伝搬は、感染植物残渣や種子の内部感染によって行われるため、薬剤防除や、接種源を取り除く耕種的防除法では、本病害の防除は極めて困難である。黒腐病に抵抗性の品種が育成され、一部普及しているが、十分な効果が得られていない現状である。低コスト、安全な野菜供給という点で抵抗性品種の育成が待たれており、これに資するために黒腐病抵抗性機構の解明が求められている。

本論文では、抵抗性の遺伝子解析の前段として、判別品種を用い入手した黒腐病菌のレース(生態型)を同定したところ、当該菌はレース 1 と判定され、国内外に広範囲に分布するものであった。次にレース 1 に対する抵抗性の遺伝資源を同定するためキャベツ、ブロッコリーを含む *Brassica oleracea* の栽培品種のスクリーニングを行った。接種試験は、 $10^8$  CFU/ml の菌液を葉に接種し、感染面積( $\text{cm}^2$ )を用いて抵抗性の程度を評価した。スクリーニング検査の結果、最も感受性の高い品種としてグリーンコメット(GCP09)( $0.98 \text{ cm}^2$ )、サボイエース( $0.94 \text{ cm}^2$ )、彩( $0.93 \text{ cm}^2$ )等が、抵抗性品種としては、麗峰(ReihoP01)( $0.1 \text{ cm}^2$ )、ベルーフォア( $0.17 \text{ cm}^2$ )、赤ずきん( $0.19 \text{ cm}^2$ )等が挙げられた。

この結果から遺伝子分析の親として、抵抗性親 Reiho(P01)と感受性親 GC(P09)を選んだ。両親を交雑した F1 を自家受粉して F2 世代を育成し、さらに F2 各個体の自家受粉を行い、F3 系統を育成した。F2 世代では SSR および CAPS を用いた DNA マーカー解析から、*B. oleracea* の半数染色体に対応する 9 個の連鎖群が得られた。この連鎖群には 181 マーカーが含まれ、地図距離は 1099cM であった。F3 系統に黒腐病菌を接種したところ、強い抵抗性から罹病性まで様々な罹病度の系統が見られ、各系統の罹病度の分布は正規分布に近か

った。この結果は、黒腐病抵抗性には複数の遺伝子が関与することを示すものであった。

QTL 解析を行ったところ、黒腐病抵抗性に関与する 3 個の QTL が、染色体 C5、C8 および C9 に検出された。LOD 4.4 の *XccBo(Reiho)1* が C5 に同定され、抵抗性の *Reiho* から得られた。最も効果の高かった QTL、*XccBo(Reiho)2* は LOD スコア 7.7 で、C8 に同定され抵抗性の *Reiho* から得られた。C9 に同定できた QTL (LOD 4.4) の *XccBo(GC)1* は、感受性の GC 由来であった。

*B. oleracea* の黒腐病抵抗性 QTL を同定した報告はこれまでに 3 報あるが、各研究者が独自のマーカーを使っているため、同定された黒腐病抵抗性 QTL の異同についてはまったく検討されていなかった。そこで、本研究で同定された黒腐病抵抗性 QTL と、これまでに他の研究者が発表した黒腐病抵抗性 QTL を比較研究するため、他の研究者が発表した連鎖地図の QTL 近傍遺伝子マーカーのうち、マーカーの DNA シークエンス情報が取得可能なものを選び、それをアンカーマーカーとして、本研究で作成した連鎖地図上に位置づけた。その結果、共通のアンカーマーカーの位置情報から、C5 に同定された *XccBo(Reiho)1* と C9 に同定された *XccBo(GC)1* は、以前に報告された黒腐病抵抗性 QTL と染色体上の位置が同一であった。よって、本実験で同定した 3 つの黒腐病抵抗性 QTL のうち 2 つは、以前に同定されたものと同一遺伝子であるか、または同じ抵抗性遺伝子クラスターに含まれるどれかの遺伝子と同一である可能性が示唆された。本実験で作成した連鎖地図は、シークエンス情報が公開された DNA マーカーを多数含むほか、他の研究者の連鎖地図と共通マーカーを含むため、QTL の位置情報の共有や *B. oleracea* の黒腐病抵抗性遺伝子を品種に集積するうえで極めて有効である。また、本研究で得られた結果は、黒腐病抵抗性の遺伝的制御機構解明について新知見を与えるものであると思われた。

## 審査結果の要旨

本論文では、黒腐菌に対する *Brassica oleracea* の栽培品種の耐病性スクリーニング試験により、耐病性育種素材として有用な抵抗性品種を明らかにしたほか、抵抗性親と感受性親の交雑後代での連鎖地図作成と QTL 解析を行い、黒腐病抵抗性には複数の遺伝子が関与することを示し、3 個の QTL を染色体 C5、C8 および C9 に同定した。さらに、本研究で同定された黒腐病抵抗性 QTL と、これまでに他の研究者が発表した黒腐病抵抗性 QTL の異同を、共通マーカーを自分の連鎖地図にマップすることによって推定した。本研究で同定した黒腐病抵抗性 QTL や連鎖地図の DNA マーカー情報は QTL の位置情報の共有や *B. oleracea* の黒腐病抵抗性遺伝子を品種に集積するうえで極めて有効であるほか、本研究で得られた結果は、黒腐病抵抗性の遺伝的制御機構解明について新知見を与えるものであると思われた。また、本論文の QTL 解析の結果は、*American Journal of Plant Sciences* (2013) 4: 11-20 に掲載されているほか、2012 年 12 月にマレーシアのコタキナバルで開催された The 5th International Symposium for the Development of Integrated Pest Management for Sustainable Agriculture in Asia and Africa (5th IPM Symposium) で発表した。

以上のことから、本論文は博士（学術）の博士論文として十分な内容を持つものと判定した。