

氏 名 (本 國 籍)	WU WEIJUN (中華人民共和国)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第748号
学 位 授 与 年 月 日	令和2年9月30日
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物生産科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	Evaluation of Crown Gall Disease and Root Rot Disease in Hybrids of <i>Rosa</i> 'PEKcougel' and <i>R. multiflora</i> 'Matsushima No. 3' (<i>Rosa</i> 'PEKcougel' と <i>R. multiflora</i> 'Matsushima No. 3' の交雑集団における根頭がんしゅ病と根腐病抵抗性の評価)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教授 嶋 津 光 鑑 副査 岐阜大学 教授 山 田 邦 夫 副査 静岡大学 准教授 中 塚 貴 司 副査 岐阜大学 助 教 落 合 正 樹

論 文 の 内 容 の 要 旨

根頭がんしゅ病は *Agrobacterium tumefaciens* による病害であり、バラの種苗生産において経済的な損失をもたらす病害である。 *Rosa* 'PEKcougel' は根頭がんしゅ病に対する抵抗性が知られており、その根表面に分泌された物質により *A. tumefaciens* の動きが制限され傷口からの侵入を防いでいる様子が観察されている。台木品種である *R. multiflora* 'Matsushima No. 3' を倍数化して得られた4倍体個体については、*A. tumefaciens* の接種試験において顕著ながんしゅの形成は認められなかった。そこで本研究では、根頭がんしゅ病抵抗性をもつ台木品種の開発を最終目標として、'PEKcougel' と 'Matsushima No. 3' の4倍体個体との交雑集団を作成し、根頭がんしゅ病抵抗性の評価を行った。加えて、従来の評価方法は時間と多くの植物材料を要するため、簡易な評価方法の開発を目指した。

A. tumefaciens の針接種試験では、'PEKcougel' において接種部位が最も肥大し、非接種と比較して3倍となった。交雑後代では、P1-4と M6-7が'PEKcougel'と同程度の肥大を示した。一方で、'Matsushima No. 3'の4倍体個体と交雑後代の P6-4, M1-23, M1-30, M1-45では接種部位の肥大が、'PEKcougel' と比較して顕著に小さかった。針接種試験に代わる方法として、無菌培養下での茎切片に対する接種方法の検討を行った。カルスが発生した茎切片の82%が緑色であったのに対し、カルスが形成されなかった茎切片の80%は褐変した。培養開始後14日目と28日目の茎切片の状態がカルス形成の有無と相関がみられることが判明した。14日目において

褐変している茎切片ではカルス形成率は顕著に低く、28日目において褐変していない茎切片ではカルス形成率は顕著に高くなった。また、褐変する茎切片の割合は、展開葉の節間よりも、展開葉と未展開葉の間の節間の方が低かった。加えて、植物ホルモンを添加しない培地でより褐変率が低下した。無菌培養下で茎切片に対して *A. tumefaciens* を接種し、カルスの形成率を確認した。‘PEKcougel’への戻し交雑集団よりも、‘Matsushima No. 3’の4倍体個体への戻し交雑集団の方がカルス形成率が低かった。特に M1-5, M1-23, M1-25, M1-30, M1-33, M6-2はカルスの形成が確認されなかった。

A. tumefaciens の感染時に植物ゲノムに挿入される T-DNA 上の遺伝子である tryptophan-2-monooxygenase (*iaaM*) 遺伝子と isopentenyl transferase (*ipt*) 遺伝子の発現解析による抵抗性評価の可能性について検討を行った。‘PEKcougel’, P1-4, M6-7の *ipt* の発現量は顕著に高い値を示した。*iaaM* の発現量は *ipt* ほどの個体差は観察されなかった。‘PEKcougel’, P1-4, P1-9, M1-45, M6-7の *iaaM* の発現量は同程度であった。針接種試験において病徴が大きい個体では *ipt* および *iaaM* の発現量が高く、病徴が小さい個体では発現量が低い傾向が認められた。バラの交雑集団において、*ipt* および *iaaM* の発現解析が根頭がんしゅ病抵抗性の評価手法として従来の針接種による病徴確認の代用になりうることが示唆された。

一方、*Pythium spp.*による根腐病も、日本のバラ生産において大きな経済的損失をもたらしている。*Pythium spp.*をはじめとした土壌媒介性病原菌は、その伝染性の高さ、宿主範囲の広さ、生存期間の長さから防除が困難である。‘Matsushima No. 3’は *P. helicoides* による根腐病に対する強い抵抗性をもっており、根から抽出したフェノール化合物が *P. helicoides* の菌糸成長を阻害することが確認されている。そこで、根腐病抵抗性の評価方法として、交雑集団において根へのフェノール化合物の蓄積量を調査した。‘Matsushima No. 3’の4倍体個体では8.8 mg/g FW のフェノール化合物が根に蓄積していた。交雑後代においては、M1-12のフェノール化合物の蓄積量が最も多く15 mg/g FW で、他の個体よりも顕著に多かった。次いで、M1-15と M-9がそれぞれ13.2mg/g FW, 12.9 mg/g FWであった。この結果はバラ交雑集団における根腐病に対する抵抗性検定を進める上での指標となることが期待される。

全体を通して、‘PEKcougel’と‘Matsushima No. 3’の4倍体個体との交雑集団において、根頭がんしゅ病抵抗性の評価については、*ipt* および *iaaM* の発現解析が、従来の針接種による病徴確認に代わる短時間で実施可能な評価方法として有用であることが示唆された。根腐病抵抗性の評価に関しては、根でのフェノール化合物の含有量の測定により、交雑後代において‘Matsushima No. 3’の4倍体個体よりも含有量が多い個体が複数確認された。これらの個体は根腐病抵抗性をもつ可能性が期待された。本研究の成果により、バラ交雑集団における根頭がんしゅ病抵抗性と根腐病抵抗性のより迅速な評価が可能となった。

審 査 結 果 の 要 旨

申請者 WU WEIJUN は、バラの種苗生産において重大な病害である根頭がんしゅ病および根腐病に対する抵抗性品種評価方法について *Rosa* ‘PEKcougel’ と *R. multiflora* ‘Matsushima No. 3’の4倍体の交雑集団を用いて解析を行った。これら交雑集団において茎

への *Agrobacterium tumefaciens* 針接種による病徴を確認し、無菌条件下での茎切片中のオパイン検出および tryptophan-2-monooxygenase (*iaaM*) 遺伝子と isopentenyl transferase (*ipt*) 遺伝子の発現解析を試みた。針接種による評価では、*R. 'PEKcougel'* よりも弱い病徴を示す交雑後代が4個体確認され、オパイン検出による評価では、*A. tumefaciens* の感染時に生合成されるオパインが5個体の交雑後代において検出されなかった。*iaaM* 遺伝子と *ipt* 遺伝子の発現解析では、多くの交雑後代において両遺伝子の発現量が *Rosa 'PEKcougel'* よりも低い値を示し、両遺伝子の発現量が低い個体ほど針接種による病徴が小さく、発現量が高いほど針接種による病徴が大きくなる傾向が認められた。これにより、バラの交雑集団において *ipt* 遺伝子と *iaaM* 遺伝子の発現解析が根頭がんしゅ病抵抗性の評価手法として従来の針接種による病徴確認の代用になりうることが示唆された。

一方、*Pythium spp.* による根腐病は、日本のバラ生産において大きな経済的損失をもたらしている。*R. multiflora 'Matsushima No. 3'* は *P. helicoides* による根腐病に対する強い抵抗性をもっており、根から抽出したフェノール化合物が *P. helicoides* の菌糸成長を阻害することが確認されている。そこで、根腐病抵抗性の評価方法として、交雑集団において根へのフェノール化合物の蓄積量を調査したところ、バラ交雑集団における根腐病に対する抵抗性検定を進める上での指標となることが示唆されるとともに、抵抗性が高いと予想される交雑後代が複数確認された。

本研究で得られた知見は、バラを中心とした花き園芸学分野において学術的価値があるだけでなく、花き産業に及ぼす効果も大きいと認められる。

基礎となる学術論文

- 1) Wu, W., F. Ogawa, M. Ochiai, K. Yamada and H. Fukui: Common strategies to control *Pythium* Disease. *Reviews in Agricultural Science*, 8, 58-69, 2020.
- 2) Wu, W., M. Ochiai, T. Nakatsuka, K. Yamada and H. Fukui. Evaluation of crown gall disease resistance in hybrids of *Rosa 'PEKcougel'* and tetraploid of *R. multiflora 'Matsushima No. 3'*. *The Horticulture Journal* (in press).

既発表学術論文

なし