

博士論文の内容の要旨

氏名	関 功介
学位名	博士（農学）
学位授与年月日	2021年 3月 20日
論文題目	長野県の主要園芸作物における夏季の耐ストレス機構の解明と育種法の開発

(博士論文の内容の要旨)

長野県での農業の最大の特徴は夏季でも冷涼な気候を利用した栽培体系を組めることである。産地を変えながら周年栽培されるような主要園芸作物では、季節によって産地がリレーすることから、長野県が主として生産を担当している夏季に発生する問題は長野県が独自に解決を試みる必要がある。そこで本論文では、夏季に発生する問題解決に向けて、第1章でカーネーションのハダニ耐虫性育種、第2章でレタスの晩抽性、生理障害耐性、および根腐病耐病性育種、第3章で *Brassica oleracea* L. の黒斑細菌病耐病性育種の課題解決に取り組むための多面的な形質評価や新たな育種技術の開発を試みた。

第1章では、まずカーネーションに被害を与えるハダニ種の同定を行ったところ、カーネーションだけを生産している場合にはナミハダニ赤色型が、他の農作物も栽培している場合にはナミハダニ黄緑型が優占種として発生していることがわかった。栽培圃場でナミハダニ黄緑型の被害を受けやすい系統「Di-24」と受けにくい系統「Di-7」を実験に供試したところ、カーネーション品種の中にはナミハダニ黄緑型が適応しやすい品種が存在することが示唆され、育成段階から耐虫性を選抜項目に加え感受性個体を選抜の過程で落とすことで、ナミハダニ黄緑型による被害を未然に防ぐことができる可能性が考えられた。次に、カーネーションの自殖で作出した近交系集団からナミハダニ赤色型に対する耐虫性個体と感受性個体を選び出して食害痕を顕微鏡で観察したところ、葉内部の裏側にある柵状様組織の厚さに違いが認められた。さらに葉裏の表面から海綿状組織までの距離が長い品種はナミハダニ赤色型の内的自然増加率が低いことが明らかとなった。また圃場試験では、葉裏から海綿状組織までの距離が 120 μ m 以上の品種では被害が顕著に少なく、孵化から成虫化までの間の初期の生育ステージで海綿状組織を吸汁できるかどうかナミハダニ赤色型の生育および増殖に重要な要素であることが示唆された。これらの知見から葉裏表面から海綿状組織までの距離をマーカーとして、実際の栽培環境下でもナミハダニ赤色型に耐虫性を示す個体を選抜する技術を開発することができた。

第2章では、玉レタスのエンパイヤ型（鋸歯状葉）とサリナス型（波状葉）を用いた圃場栽培試験で夏季に問題となる生理障害のチップバーンと抽苔性について調査したところ、エンパイヤ型はサリナス型に比べてチップバーン感受性が高く、晩抽性となる傾向が認められた。そこでエンパイヤ型とサリナス型の交配で作出した F₂ 集団を用いて、葉先の形状と抽苔性の ddRAD-seq による遺伝的マッピングを試みた。これらの解析から、葉先の形状は LG5 の単一遺伝子座によって制御されていることが明らかとなった。さらに詳細なマッピングと RNA-seq により、CIN 様 TCP 転写因子をコードする遺伝子がこの遺伝子座の候補遺伝子であることが判明し、この遺伝子を *LsTCP4* と命名した。エンパイヤ型の対立遺伝子にはレトロトランスポゾンが挿入されており、葉での転写レベルはサリナス型よりも低かった。さらに、TCP ファミリータンパク質は FT との相互作用により開花時期を制御していることが知られていることから、*LsTCP4* がレタスの葉先の形状と抽苔性の両方に多面的な効果を与えている可能性が高いと考えられた。これらのことから、より具体的な玉レタスの育種戦略を立てることが可能となった。次にレタス品種のレタス根腐病レース 1 に対する耐病性の向上を試みた。このフザリウムによって引き起こされる病害は、夏季の主要病害の一つであり、既存の耐病性品種が高温期に打破されてしまうようになったため、レース 1 に対する耐病性の向上は喫緊の課題となっていた。高度耐病性品種「VI185」と部分耐病性品種「シナノグリーン」の交配で得られた分離集団を用いた QTL 解析の結果、2つの主要な因子が検出され、その2つとも高度耐病性品種「VI185」に由来していた。これらの結果は、レタス根腐病レース 1 に対する耐病性因子を理解するための基礎的知見を提供し、*qFOL7.1* と *qFOL8.1* の2つの領域を導入することで既存のレタス品種の耐病性を向上させることが可能であ

ることを示した。育種の場面では、レタスで DNA マーカーを利用した個体選抜を行うには PCR に必要なゲノム DNA を多検体から迅速に抽出する実用性の高い方法を確立する必要がある。そこで、ガラス繊維濾紙をピペットチップ内に入れてゲノム DNA の粗抽出液および 2 種類の洗浄液をそれぞれ数回ピペッティング操作するだけで、PCR の増幅産物が安定的に得られるゲノム DNA を簡易に抽出できる方法を確立した。

第 3 章は、*B. oleracea* L. の黒斑細菌病耐病性育種を目指した検討を行った。この病害は夏季の降雨により、Glossy タイプのワックスを有する品種で多発することが知られている。Glossy タイプの葉の表面構造に罹病性となる要因が存在すると考えられたために葉の表面構造に関する詳細な解析を行った。非破壊で解析を行うため、赤外分光法である偏光変調赤外反射吸収分光法 (PM-IRRAS) と全反射減衰赤外分光法 (ATR-IR) で分析した結果、葉表面に近いより外側のクチクラ領域にヘミセルロースであるキシランとキシログルカンが存在し、より内側のクチクラ領域 (深さ 2 μm 以下) にはペクチンが多く存在していることが示唆され、クチクラ表面を覆うワックスの特性を明らかにすることができた。*Pseudomonas* は概ね数 μm の大きさであることと、多くの微生物がキシランを分解できるキシラナーゼを有していることを考慮すると、Glossy タイプが罹病性となってしまふ要因として、葉表面から数百 nm の範囲内に局在しているキシランなどの多糖類を病原菌が基質として利用できる可能性が考えられた。