

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：23303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06055

研究課題名(和文) アブラナ科野菜類が有する新規炭疽病抵抗性遺伝子の同定と病害抵抗性育種

研究課題名(英文) Identification of novel resistance gene in Brassica plants and application for plant breeding.

研究代表者

高原 浩之 (Takahara, Hiroyuki)

石川県立大学・生物資源環境学部・准教授

研究者番号：30397898

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：アブラナ科野菜類は、農業上重要な品目を多く含んだ、私たちの食卓に欠かせない野菜です。しかし、アブラナ科野菜類には、炭疽病というカビ病が発生することがあります。私たちは、炭疽病に強いアブラナ科野菜の品種を探しだし、その品種がどんな遺伝子を持っているのかを調べました。その結果、炭疽病抵抗性に関連する遺伝子を含む領域を見つけることができました。この結果は、新しい炭疽病に強いアブラナ科野菜品種を作ることに貢献します。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで見出されていなかった、炭疽病に強いアブラナ科野菜の品種を新しく見出したことで、アブラナ科野菜における炭疽病防除に向けた新品種開発の基盤を提供した。また、その遺伝子領域を見つけることで、炭疽病に対する抵抗性の遺伝的基盤を明らかにした。

アブラナ科炭疽病は、アブラナ科野菜の収量や品質を低下させる重要な病害である。炭疽病に強いアブラナ科野菜の品種を作ることで、農薬使用量を減らし、環境負荷や生産コストを低減することにつながり、消費者に安全な野菜を提供することができる。

研究成果の概要(英文)：Brassica rapa is an economically important and widely consumed vegetable. However, they are susceptible to anthracnose, a fungal disease caused by *Colletotrichum higginsianum*. We identified several *B. rapa* cultivars with resistance to anthracnose. We detected significant quantitative trait loci (QTLs) for anthracnose resistance. This study provides valuable information for breeding new *B. rapa* with improved resistance to anthracnose.

研究分野：植物保護

キーワード：アブラナ科野菜類 炭疽病 抵抗性

1. 研究開始当初の背景

農業技術・防除技術が発達した現代においても、世界の食糧生産の3割以上が病・虫・雑草害によって失われており、病害による損失の約8割が糸状菌(カビ)によるものとされている(Agrios 2005)。その中で炭疽病菌(*Colletotrichum* 属菌)は、果実類・野菜類・穀物類などの主要な農作物に感染する病原糸状菌類として600種以上が報告されており、3200を超える植物種に被害を及ぼす(Oconnell et al. 2012)。アブラナ科炭疽病菌(*Colletotrichum higginsianum*)は、アブラナ属(*Brassica*)やダイコン属(*Raphanus*)など、農業上重要な品目を多く含むアブラナ科野菜類を宿主とする病原糸状菌である。近年、炭疽病の被害が各地で顕在化してきており、炭疽病に対する病害抵抗性の賦与は、本病害のまん延防止策の点からも重要な課題である。しかしながら、アブラナ科野菜類における炭疽病抵抗性に関する研究は乏しく、これまで、本病害に対する抵抗性品種も見出されていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、アブラナ科野菜類から炭疽病抵抗性品種と感受性品種を見出し、品種間の感染性の違いについて調査する。見出された材料を用いて炭疽病菌との相互作用を解析し、炭疽病菌の病原性およびアブラナ科野菜類の抵抗性メカニズムの学術的な知見を得る。さらに抵抗性遺伝子領域の交配育種を展開し、今後の本病害のまん延防止に応用することを目的とした。

3. 研究の方法

申請者は、日本・中国・ヨーロッパなど様々な地域から採集された *Brassica rapa* 品種に炭疽病菌を接種し、抵抗性・感受性について調査した。見出した抵抗性・感受性品種に対する炭疽病菌の感染動態の中で、特に植物への侵入率、病害程度の定量的な評価基準を設定し、それに基づいた抵抗性・感受性品種の細胞学的な比較解析を行った。また、見出した抵抗性・感受性品種の交雑後代を用いた遺伝解析および QTL-Seq 解析を行い、抵抗性に関与する遺伝子座の同定を試みた。さらに、分離元の異なる *Colletotrichum higginsianum* 系統を接種し、菌株間で感染性の違いやレース特異性の有無などを調べた。一方、*B. rapa* における遺伝子機能解析法の構築を試みた。

4. 研究成果

(1) *Brassica rapa* 在来品種や F1 品種をあわせ、約 300 系統に対するアブラナ科炭疽病菌の感染性を調査した。その結果、複数の抵抗性候補品種を得た。抵抗性・感受性品種に対する炭疽病菌の感染動態を調べるために、いくつかの品種において接種後の植物細胞への侵入の様子を細胞レベルで観察した。その結果、抵抗性品種では炭疽病菌の侵入率が顕著に低下すること、また侵入を許した場合でもその後の侵入菌糸の伸展が抑制されていることが明らかになった。また、ダイコン属 *Raphanus sativas* 約 50 系統からも炭疽病の病徴が現れにくい品種の選抜を行った。

(2) 見出された *Brassica rapa* 抵抗性のうち、2 品種において、感受性品種との交雑 F1 および後代 F2 集団を作出し、遺伝解析を行った。その結果、1 品種は優性、もう 1 品種は劣性の抵抗性遺伝子の可能性が示唆された。そこで、炭疽病抵抗性遺伝子領域を特定するために、F2 集団で抵抗性と感受性の表現型を示した個体をバルクしたサンプルを用いて QTL-Seq 解析を行った。その結果、優性形質を示した品種からからは、染色体の一か所に統計的に有意な領域を見出した。その領域には、推定の NLR 遺伝子が数個座乗していたことから、当初はそれらの遺伝子が感染特異性に関与すると考えていた。しかしながら、遺伝子の発現をしらべたところ、当該遺伝子は通常時、菌感染時ともに発現していなかった。このことから、推定 NLR 遺伝子とは異なる新規因子が炭疽病抵抗性に関与することが示唆された。一方、劣性形質を示した品種では、統計的に優位なピークを示す染色体領域の同定には至らなかった。見出した抵抗性品種のいくつかに関しては、種苗会社と連携し育成品種への抵抗性育種を開始した。

(3) アブラナ科炭疽病菌の病原性の分化やレースについての詳細は全く不明であった。そこで、

分離元の異なるアブラナ科炭疽病菌分離株を複数取得し、*B. rapa* の複数品種に接種試験を行った。その結果、ある品種に対して菌株間で感染性が異なることが判明した。今後、これら菌株間の感染特異性の詳細を明らかにする。

(4) *B. rapa* における遺伝子機能解析系は十分でない。そこで、*B. rapa* におけるアグロバクテリウムを用いたタンパク質一過的発現法の確立を行った。今後、本法を利用して、*B. rapa* 遺伝子の炭疽病菌抵抗性への関与を明らかにする。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takahara Hiroyuki, Yamaguchi Sho, Omura Natsuki, Nakajima Shota, Otoku Kasumi, Tanaka Satomi, Ogura Kenji, Kleemann Jochen, O'Connell Richard	4. 巻 87
2. 論文標題 The Colletotrichum higginsianum secreted effector protein ChEC91 induces plant cell death	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of General Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 344 ~ 353
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10327-021-01028-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tanaka Satomi, Yoshida Masumi, Natsume Hideya, Ohashi Yuka, Takagi Hiroki, Nishiyama Chisato, Segawa Tenta, Kawasaki Yuto, Takahara Hiroyuki	4. 巻 -
2. 論文標題 Rapid detection of mutations and chromosomal rearrangements in T-DNA insertion mutants of Colletotrichum higginsianum using long-read whole-genome sequencing	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of General Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10327-023-01125-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 高原浩之	4. 巻 6
2. 論文標題 アブラナ科野菜類が有する新規 炭疽病抵抗性遺伝子の同定	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 月刊アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 827 ~ 830
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中里実・高原浩之
2. 発表標題 アブラナ科炭疽病菌に抵抗性を示すRaphanus sativusの選抜
3. 学会等名 令和3年度日本植物病理学会関西支部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中里実・夏目英哉・高木宏樹・高原浩之
2. 発表標題 Brassica rapaにおける新規炭疽病抵抗性遺伝子の探索
3. 学会等名 第74回北陸病害虫研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 日比野隼平・高原浩之
2. 発表標題 アブラナ科炭疽病に高度抵抗性を示すBrassica rapaの選抜
3. 学会等名 第74回北陸病害虫研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高原浩之
2. 発表標題 室内接種試験によるイネいもち病圃場抵抗性の定量的評価
3. 学会等名 第74回北陸病害虫研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川上大亮・村上賢治・高原浩之
2. 発表標題 低辛味シトウ系統におけるDNAマーカーを用いた病害抵抗性遺伝子の解析
3. 学会等名 第74回北陸病害虫研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中里実・夏目英哉・高木宏樹・高原浩之
2. 発表標題 Brassica rapaにおける新規炭疽病抵抗性遺伝子座の同定
3. 学会等名 令和4年度日本植物病理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高原浩之・小椋賢治
2. 発表標題 アブラナ科炭疽病菌エフェクターChEC91の立体構造解析
3. 学会等名 令和4年度日本植物病理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 夏目英哉・高原浩之
2. 発表標題 Brassica rapaにおける炭疽病抵抗性遺伝子の探索
3. 学会等名 令和2年度日本植物病理学会関西部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中里実・夏目英哉・吉田真澄・大橋勇敢・西山知里・高木宏樹・高原浩之
2. 発表標題 アブラナ科炭疽病菌のT-DNA挿入変異株にみられる染色体再編成
3. 学会等名 令和2年度日本植物病理学会関西部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中里実・高原浩之
2. 発表標題 アブラナ科炭疽病菌に抵抗性を示すRaphanus sativusの選抜
3. 学会等名 第73回北陸病害虫研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 夏目英哉・高原浩之
2. 発表標題 炭疽病抵抗性遺伝子の同定を目的としたBrassica rapaの遺伝解析
3. 学会等名 第73回北陸病害虫研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中里実・夏目英哉・齊賀空知・高木宏樹・高原浩之
2. 発表標題 アブラナ科炭疽病抵抗性Brassica rapaのRNA-seq解析
3. 学会等名 令和4年度日本植物病理学会関西部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 日比野隼平・高原浩之
2. 発表標題 異なる環境条件下における炭疽病菌に抵抗性を示すBrassica rapaの選抜
3. 学会等名 令和4年度日本植物病理学会関西部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 日比野隼平・高原浩之
2. 発表標題 Brassica rapaにおける炭疽病菌の病原性の分化
3. 学会等名 第75回北陸病害虫研究会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------