

ナス (*Solanum melongena* L.) 'Dingaras Multiple Purple' の青枯病抵抗性に関する遺伝解析

谷本 秀夫\*・中曽根 渡

大阪府立農林技術センター 583-0862 羽曳野市尺度442

Gene Analysis of the Bacterial Wilt-resistance in 'Dingaras Multiple Purple' (*Solanum melongena* L.)

Hideo Tanimoto\* and Wataru Nakasone

Osaka Prefectural Agricultural and Forestry Research Center, Shakudo, Habikino, Osaka 583-0862

## Summary

'Dingaras Multiple Purple' ('DMP') was introduced from India and is resistant to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. To analyze the genes providing bacterial wilt-resistance in 'DMP', the F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and BC<sub>1</sub> ('Mizu-nasu'/'DMP') groups were evaluated for bacterial wilt-resistance by bioassay methods using hydroponics with containers and bottles. Histograms of the death rate in F<sub>2</sub> group displayed a normal distribution. This suggested that the bacterial wilt-resistance in 'DMP' is polygenic. Since the death rate was not influenced by different cross combinations between 'Mizu-nasu' and 'DMP' in F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> groups, the main bacterial wilt-resistance in 'DMP' is in the nuclear gene.

キーワード: 青枯病抵抗性, 'Dingaras Multiple Purple', 遺伝解析, 生物検定, *Solanum melongena*

## 緒言

'Dingaras Multiple Purple' (以下'DMP')は1976年インドより導入された青枯病抵抗性の栽培ナス (*Solanum melongena* L.)である(望月・山川, 1979; 西尾ら, 1984). 著者らは, 'DMP'の青枯病抵抗性を'水ナス'に導入するため両品種を交雑し, '水ナス'の青枯病抵抗性育種を行っている. しかし, 栽培ナス (*Solanum melongena* L.)での青枯病抵抗性の交雑育種に関する報告は少なく, その知見も少ない. 本報では, 両品種間の交雑種における青枯病抵抗性について, 著者らが開発した水耕栽培を利用した青枯病抵抗性検定法(谷本・中曽根, 2002; 中曽根, 2002)を用いて検定を行い, 'DMP'の青枯病抵抗性についての知見を得たので報告する.

## 材料および方法

1. F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub>の青枯病抵抗性評価  
'水ナス'と青枯病抵抗性品種の'DMP'とのF<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>,

BC<sub>1</sub>における青枯病抵抗性の評価は, 個体ごとに自殖した後代系統の平均枯死株率で行った. すなわち, 評価する個体において自家受粉を行い, 着果した果実内の種子15~40粒を後述する青枯病抵抗性検定に供試し, その平均枯死株率をその個体の青枯病抵抗性の評価とした. F<sub>1</sub>では13区(個体), F<sub>2</sub>では73区(個体), F<sub>1</sub>に'水ナス'を戻し交雑したBC<sub>1</sub>では12区(個体)について検定した. また, 対照として'水ナス'および'DMP'を用いた.

## 2. 青枯病菌とその調整

青枯病菌液は, 青枯病に感染した'水ナス'より分離した菌(IV群菌)(尾崎・木村, 1992)を修正した原・小野(1984)の選択寒天培地(第1表)で培養し, 出現したコロニーを蒸留水で懸濁し, 1×10<sup>8</sup> cfu/mlに希釈したものを

第1表 青枯病菌選択培地組成

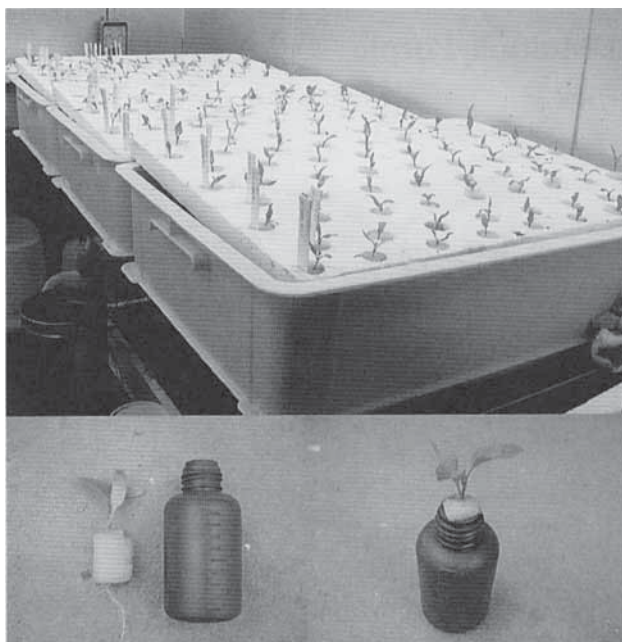
| 添加物名                                     | 添加濃度 (mg-liter <sup>-1</sup> ) |
|--|--------------------------------|
| Glucose                                  | 10,000                         |
| Polypepton                               | 10,000                         |
| Casamino acids                           | 1,000                          |
| Crystal violet                           | 5                              |
| Polymyxin B sulfate                      | 50                             |
| Chloramphenicol                          | 10                             |
| Cycloheximide                            | 50                             |
| 2,3,5-Triphenyltetrazolium chlorid (TTC) | 25                             |
| Agar                                     | 15,000                         |

2001年11月28日 受付. 2002年4月16日 受理.

本報告の一部は, 園芸学会平成13年度秋季大会において発表した. また, 本研究は農林水産省先端技術等地域実用化研究促進事業の助成により行われた.

\*Corresponding author.

現在:大阪府立食とみどりの総合技術センター



第1図 青枯病抵抗性検定に用いたコンテナ水耕装置とボトル  
上:コンテナ(w610 mmXD400 mmXH145 mm)を利用した水耕装置  
左下:移植時の幼植物体とプラスチックボトル(100 ml),  
右下:ボトルを利用した水耕栽培

用いた。

### 3. 水耕装置を利用した青枯病抵抗性検定

100 ppmのジベレリン溶液で24時間催芽処理した種子をは種し、ガラス温室内で生育させた。子葉が展開した植物体をコンテナ(W610 mm×D400 mm×H145 mm, 53個体植え, 34 liter)もしくは茶褐色のプラスチックボトル(口径15 mm, 1個体植え, 100 ml)を利用した水耕装置(第1図)に移植し、ガラス温室内で栽培した。培養液として大塚ハウス1号および2号を使用した。それぞれの植物体の本葉が5枚展開する時期に植物体を取り出し、青枯病菌液内で根の先端部を切断し、菌を接種した(尾崎・木村, 1989)。接種後、植物体を水耕装置に移植し、28℃の人工気象室内で栽培した。コンテナで栽培したものは接種1か月後、プラスチックボトルで栽培したものは接種21日後に調査し、枯死したもの、もしくは根元から5~10 cmの茎に褐変があり(青枯病菌が進入している)全く生長していないものを枯死個体とし、それぞれの区の枯死株率を計測した。

## 結 果

1. '水ナス'、'DMP' および  $F_1$  の青枯病抵抗性  
'水ナス'の平均枯死株率は96.3%で、'DMP'の平均枯死株率は3.5%であった(第2表)。 $F_1$ の検定での各区の平均枯死株率は33.59%で、標準偏差は6.10であった(第2表)。

## 2. $F_2$ の青枯病抵抗性

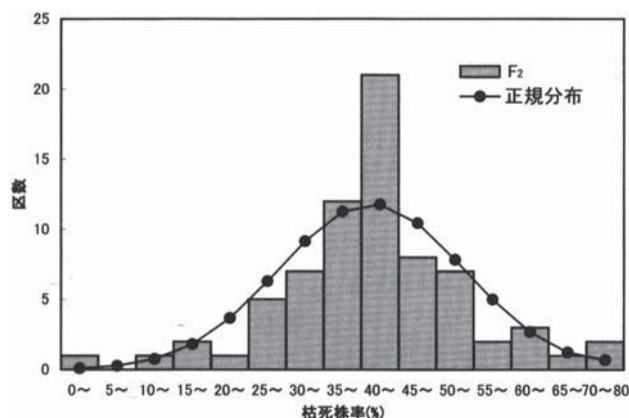
$F_2$ の検定での各区の平均枯死株率は41.33%で、標準偏差は12.22であった(第2表)。枯死株率に対する区数の度数分布はほぼ正規分布と一致し(第2図)、 $\chi^2$ 検定でも正規分布との有意差は認められなかった(第3表)。また、正規確率プロット(第3図)は直線性が高く、枯死株率に対し区数が正規分布していることが確認された。

第2表 青枯病抵抗性検定における  $F_1$ 、 $F_2$ 、 $BC_1$ 、'水ナス'、'DMP'の平均枯死株率

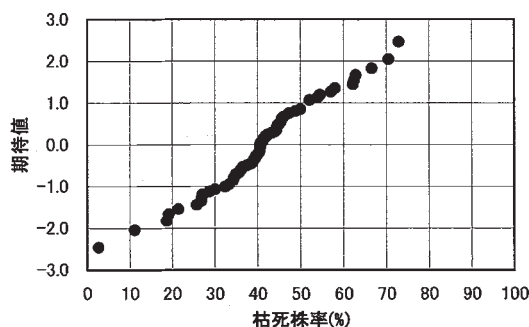
| 区名     | 区数 | 平均枯死株率(%) | 標準偏差  |
|--------|----|-----------|-------|
| $F_1$  | 13 | 33.59     | 6.10  |
| $F_2$  | 73 | 41.33     | 12.22 |
| $BC_1$ | 12 | 45.32     | 13.38 |
| '水ナス'  | 1  | 96.31     | —     |
| 'DMP'  | 1  | 3.50      | —     |

第3表 青枯病抵抗性検定における  $F_2$ での平均枯死株率の度数分布と正規分布との  $\chi^2$ 検定

| 項目          | 各統計値   |
|-------------|--------|
| 区数          | 73     |
| 平均枯死株率(%)   | 41.33  |
| 標準偏差        | 12.22  |
| $\chi^2$ 乗値 | 22.70  |
| 自由度         | 14     |
| P 値         | 0.0653 |
| 判 定         | 有意差なし  |



第2図 青枯病抵抗性検定における  $F_2$ の枯死株率に対する区数の度数分布



第3図 青枯病抵抗性検定における  $F_2$ の枯死株率に対する系統数の正規確率プロット

### 3. BC<sub>1</sub> の青枯病抵抗性

BC<sub>1</sub>の検定での各区の平均枯死株率は45.32%で、標準偏差は13.38であった(第2表)。また、12区の中での最高枯死株率は62.5%、最低枯死株率は25.0%であった。

### 4. 正逆交雑

正逆の交雑方法の違いによる比較をF<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>において行った。F<sub>1</sub>の場合、F<sub>1</sub>(‘水ナス’×‘DMP’)では6区で、平均枯死株率は33.56%、標準偏差は5.92であったのに対して、F<sub>1</sub>(‘DMP’×‘水ナス’)では7区で、平均枯死株率33.62%、標準偏差6.72であった(第4表)。両者の平均枯死株率の差をt-検定で統計処理した結果、その有意差は認められなかった。

次にF<sub>2</sub>の場合、F<sub>2</sub>(‘水ナス’×‘DMP’)が32区で、平均枯死株率40.48%、標準偏差14.24であった。これに対してF<sub>2</sub>(‘DMP’×‘水ナス’)では41区で、平均枯死株率41.99%、標準偏差10.70であった。両者の平均枯死株率の差をt-検定で統計処理した結果、その有意差は認められなかった。

## 考 察

‘水ナス’と‘DMP’とのF<sub>2</sub>の検定での枯死株率に対する区数の分布がポリジーン模型である正規分布と差がないことから、‘DMP’由来の青枯病抵抗性は多数の遺伝子に支配されていることが推定された。また、正逆の交雑の違いで枯死株率に差がないことから、主な抵抗性は核遺伝子に由来していることも推定された。吉田ら(2000)は青枯病抵抗性栽培ナス(*Solanum melongena* L.)の‘LS1934’や‘WCGR112-8’の青枯病抵抗性について遺伝分析を行い、‘LS1934’は多数の遺伝子に支配され、‘WCGR112-8’は少数もしくは1主動遺伝子に支配されていると報告している。本報での遺伝解析では、‘DMP’は‘LS1934’と同様に多くの遺伝子に支配された青枯病抵抗性であった。ただし、‘DMP’と‘LS1934’を交雑したところ(未発表)、そのF<sub>1</sub>個体の青枯病抵抗性は両親より強かったことから、両品種の青枯病抵抗性が全く同じ遺伝子による支配ではないと推定されている。

‘DMP’の青枯病抵抗性は、栽培ナス(*Solanum melongena* L.)の中では非常に強い方に分類されている(望月・

山川, 1979)。同じく栽培ナス(*Solanum melongena* L.)で海外から導入された‘LS1934’は、非常に強い青枯病抵抗性を持つことから、台木品種の‘台太郎’(門馬ら, 1997)の花粉親として使われているが、‘DMP’はその‘LS1934’と同程度の青枯病抵抗性を有するとされている(Sakataら, 1996)。本研究でも、‘水ナス’が100%近く枯死し、‘DMP’が逆にほとんど枯死しない本検定において、両親由来の遺伝子が半分ずつのF<sub>1</sub>における平均枯死株率が33.59%と低く(第2表)、雑種強勢を差し引いても、‘DMP’の青枯病抵抗性が非常に強いものと推定された。さらに、‘水ナス’が3/4で‘DMP’が1/4であるBC<sub>1</sub>でも、平均枯死株率が45.32%(第2表)と5割以下の枯死株率を示すと共に、枯死株率が25.0%を示す非常に低い区もあり、‘DMP’の青枯病抵抗性が非常に強いという推定をさらに支持する結果を得た。‘DMP’の青枯病抵抗性の遺伝子数、それぞれの抵抗性遺伝子の青枯病抵抗性程度は、詳細なQTL解析や連鎖地図の作製が必要であり今後の研究に委ねるが、実際の圃場での栽培では、BC<sub>1</sub>自殖系統やさらに水ナスを戻し交雑するBC<sub>2</sub>系統でも抵抗性台木と共に用いることにより十分な青枯病抵抗性を有する新品種として利用に耐えうるものが作出できると考えられた。

本研究に用いた青枯病抵抗性検定手法は被検定個体の自殖後代を供試材料とし、その平均枯死株率を被検定個体の青枯病抵抗性の評価としているため、従来から行われている青枯病に感染させた被検定個体の枯死・生育の状態を5段階程度の客観的指数としての評価する手法より幅を持った数値で青枯病抵抗性を表すことが可能であった。このことが本研究のような統計による遺伝解析を有効にしたと考える。

## 摘 要

‘DMP’の青枯病抵抗性についての知見を得るため、‘水ナス’と‘DMP’とのF<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>およびBC<sub>1</sub>の青枯病抵抗性について検定を行った。

1. F<sub>2</sub>集団の数が青枯病抵抗性に対し正規分布していることから、‘DMP’の青枯病抵抗性は多数の遺伝子に支配されていることが推察された。

第4表 青枯病抵抗性検定における正逆交雑での平均枯死株率の差に関するt-検定

| 統計項目      | F <sub>1</sub> 正逆交雑          |                              | F <sub>2</sub> 正逆交雑          |                              |
|-----------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|           | F <sub>1</sub> (‘水ナス’×‘DMP’) | F <sub>1</sub> (‘DMP’×‘水ナス’) | F <sub>2</sub> (‘水ナス’×‘DMP’) | F <sub>2</sub> (‘DMP’×‘水ナス’) |
| 区数        | 6                            | 7                            | 32                           | 41                           |
| 平均枯死株率(%) | 33.56                        | 33.61                        | 40.48                        | 41.99                        |
| 標準偏差      | 5.91                         | 6.72                         | 14.24                        | 10.70                        |
| 自由度       | 11                           |                              | 71                           |                              |
| 統計量:t     | 0.0147                       |                              | -0.5155                      |                              |
| P 値       | 0.9886                       |                              | 0.6078                       |                              |
| t(0.05/2) | 2.2010                       |                              | 1.9939                       |                              |
| 判 定       | 有意差なし                        |                              | 有意差なし                        |                              |

2.  $F_1$  および  $F_2$  の青枯病抵抗性検定で、正逆の交雑による有意差がないことから、'DMP' の青枯病抵抗性が主に核遺伝子に支配されていることが推察された。

#### 引用文献

- 原 秀紀・小野邦明. 1984. タバコ立枯病の新しい選択培地による検出定量法. 植物防疫. 38: 76-79.
- 門馬信二・赤澤茂樹・下坂欽也・坂田好輝・松永 啓. 1997. 青枯病・半枯病複合抵抗性台木用品種 '台太郎' の育成経過とその特性. 野菜・茶業試験場研究報告. 12: 73-83.
- 望月英雄・山川邦夫. 1979. ナス栽培品種及び近縁野生種の青枯病抵抗性に関する研究. 野菜試験場報告 A.6: 1-10.
- 中曽根渡. 2002. 水耕栽培を利用したナス属植物の青枯病抵抗性に関する生物検定法. 大農技セ研報. 38: 23-25.
- 西尾 剛・望月英雄・山川邦夫. 1984. ナス及びその近縁種の種間交雑に関する研究. 野菜試験場報告. A.12: 57-64.
- 尾崎克己・木村俊彦. 1989. ナス属植物の青枯病抵抗性検定法. 中国農研報. 4: 103-117.
- 尾崎克己・木村俊彦. 1992. 病原性に基づくナス科野菜青枯病細菌の類別. 中国農研報. 10: 49-58.
- Sakata, Y., Shinji Monma, Tomoaki Narikawa and Shoji Komochi. 1996. Evaluation of resistance to bacterial wilt and *Verticillium* wilt in eggplant (*solanum melongena* L.) collected in Malaysia. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 65: 81-88.
- 谷本秀夫・中曽根渡. 2002. 「水ナス」と「DMP」の交雑種における簡易水耕装置を用いた青枯病抵抗性検定. 大農技セ研報. 38: 56-57.
- 吉田建実・李 海濤・佐藤隆徳・松永 啓. 2000. ナスの青枯病抵抗性の遺伝解析. 野菜茶業試験場野菜育種部年報. 13: 132-134.