

試験研究成果普及情報

部門	バイオテック	対象	研究
課題名:CMV複製酵素遺伝子導入トマトにおけるCMV抵抗性			
[要約]キュウリモザイクウイルス(CMV)複製酵素遺伝子(GDDモチーフ欠失)を作製し、アグロバクテリウム法によりトマト(‘MO191’、‘MO312’、育プロ系統)に導入した。遺伝子の組み込まれた系統の抵抗性をCMV人工接種により検定したところ、強い抵抗性を示すことが確認された。この方法を用いたウイルス抵抗性獲得は、他の作物にも応用することができる。			
キーワード(専門区分)バイオテック(研究対象)野菜類-トマト (フリーキーワード)CMV抵抗性, 遺伝子導入, トマト			
実施機関名(主 査) 農業総合研究センター 生物工学部 植物工学研究室 (協力機関) 農業総合研究センター 生産技術部 野菜研究室 農業総合研究センター 生産環境部 病理研究室 (実施期間) 1997年度~2001年度、育種プロジェクト			

[目的及び背景]

遺伝資源の無いキュウリモザイクウイルス(CMV)抵抗性形質をトマトに導入するためには、遺伝子組換えが最も有効である。一方CMV由来の欠失させた複製酵素遺伝子がCMVに対して強い抵抗性を発現することがタバコで報告され、トマトに導入する候補遺伝子として有力であると考えられた。そこでこの遺伝子を構築し、トマトに導入することにより、実用性の高いCMV抵抗性素材を作出することを試みた。

[成果内容]

1. CMV(O系統)の複製酵素遺伝子を含むcDNA断片から複製に必要な不可欠な配列であるGDDモチーフ(9塩基)を欠失させ、抵抗性遺伝子を作製した。この遺伝子をアグロバクテリウム用ベクターへ組み込み(pBEcm2-gdd)、アグロバクテリウムEHA105へ導入し、ベクターを作製した。次にこのアグロバクテリウムをリーフディスク法により育プロ系統‘MO191’および‘MO312’に導入し、PCR法により遺伝子を確認して16系統を作出した。
2. CMV(県内系統)の人工接種による検定の結果、組換え16系統中約8割に相当する12系統では6週後においても上葉へのウイルス感染が全く起こらず、モザイクや糸葉等の病斑も無かった。従って、この遺伝子が導入植物内で強い抵抗性を発現することが明らかとなった(表1、図1)。
3. 緑葉を用いたフローサイトメーターによる測定の結果、約4割が二倍体(7系統)、約3割が四倍体(5系統)であり、3割が二倍体と四倍体の混在する系統(4系統)であった。また稔性については四倍体の多くが不稔を示し、育種素材として不適当と思われる(表1)。
4. 以上の結果から、強いCMV抵抗性を持ち、二倍体で稔性の高い‘MO191H2’、‘MO312L4’、‘MO312L7’、‘MO312L8’の4系統を育種素材として有望とし選抜した。

[留意事項]

1. CMV抵抗性選抜系統を育種素材として用いるためには、科学技術庁、農林水産省、厚生労働省の定めた安全性試験を実施しなければならない。

[普及対象地域]

[成果の概要]

表1 遺伝子導入トマトにおける当代 (T₀) のCMV抵抗性およびその他の特性

系統	感染個体数 ¹⁾ /供試個体数	感染率 (%)	病徴の程度 ²⁾		倍数性 ³⁾	稔性 ⁴⁾	採種数	選抜 系統
			モザイク	縮れ				
MO191H1	0/14	0	-	-	2x4	○	358 (2倍体のみ)	
H2	0/7	0	-	-	2	○	966	☆
L1	0/5	0	-	-	2x4	○	100 (2倍体のみ)	
L2	0/10	0	-	-	2x4	○	111 (2倍体のみ)	
L3	0/8	0	-	-	4		3	
MO312H1	4/7	57	+++	++	2	○	2080	
L1	2/8	25	++	++	2x4	○	223 (2倍体のみ)	
L3	4/19	21	++	+++	2	○	1023	
L4	0/7	0	-	-	2	○	616	☆
L5	0/7	0	-	-	4	○	106	
L6	9/10	90	+++	++	2	-	0	
L7	0/7	0	-	-	2	○	1199	☆
L8	0/15	0	-	-	2	○	2520	☆
L9	0/8	0	-	-	4	-	0	
L10	0/8	0	-	-	4		1	
L11	0/10	0	-	-	4		6	
MO191非複製酵素株	6/9	67	++	+	2	○		
MO312	22/29	76	++	++	2	○		

1) 6週後に検定植物(ササゲ)への汁液接種で確認した。

2) モザイク症状の程度は-:無し,+:わずかなモザイクが認められる,++:明瞭なモザイクが認められる,+++:葉の大部分がモザイク。また縮れについては-:無し,+:わずかな縮れが認められる,++:葉の一部が糸葉,+++:葉の大部分が糸葉とした。

3) フローサイトメーターによる測定結果。2は二倍体、4は四倍体。

4) ○は種子の発芽率が80%以上、空欄は未調査。



図1 キュウリモザイクウイルス人工接種後の病徴発現
(ウイルス接種6週後、ポリポットはいずれも9cm)
左) CMV複製酵素遺伝子導入株 右) 対照(実生株)

[発表及び関連文献]

平成10~12年度 生物工学試験成績書
日本育種学会第101回講演会(2002)