

令和 5 年 5 月 22 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H02950

研究課題名(和文) トウガラシにおけるジェミニウイルス耐病性機構の解明および品種改良への応用

研究課題名(英文) Geminivirus resistance in peppers and resistant breeding

研究代表者

小枝 壮太 (Koeda, Sota)

近畿大学・農学部・准教授

研究者番号：00629066

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：ジェミニウイルス科・ベゴモウイルス属はタバコナジラミ媒介性のDNAウイルスであり、熱帯から温帯までの広範囲で園芸生産における脅威となっている。しかし、トウガラシ属においては生産現場で強く求められているジェミニウイルス抵抗性品種が未だ報告されていない。本研究では、複数のジェミニウイルス抵抗性トウガラシ系統を対象として、交雑後代を用いた原因遺伝子のマッピングを行った。GR1の抵抗性はQTLにより支配されていること、BaPep-5はCaPelotaをコードする劣性抵抗性遺伝子pepy-1を、PG1-1はCaRDR3aをコードする優性抵抗性遺伝子Pepy-2を有していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では複数のベゴモウイルス抵抗性トウガラシを解析し、2つの抵抗性遺伝子を単離し、QTLの存在も明らかにした。これはトマト以外の植物種における初めての抵抗性遺伝子単離であり、学術的新規性がある。また、異なる抵抗性遺伝子を単離できたことから、抵抗性育種においても品種の多様化が可能であり、さらに複数の抵抗性遺伝子を有することで、より強い抵抗性を持つ品種を開発できる可能性が期待される。

研究成果の概要(英文)：Pepper yellow leafcurl disease (PepYLCD) is caused by viruses belonging to the Begomovirus genus of the Geminiviridae family. Over the past three decades, PepYLCD have caused substantial yield losses in peppers in many tropical and subtropical regions of the world. However, breeding of resistance to begomovirus is much less advanced in pepper than in tomato, and as of yet, there are no commercial pepper cultivars carrying resistance to begomovirus infection. In this study, genetic mapping of begomovirus resistance genes were conducted. Our study revealed that begomovirus resistance of GR1 (*Capsicum chinense*) is controlled by QTL. On the other hand, fine-mapping clarified that the recessive resistance gene pepy-1 encodes Pelota in BaPep-5 (*Capsicum annuum*) and the dominant resistance gene Pepy-2 encodes RNA dependent RNA polymerase (RDR) in PG1-1 (*C. annuum*). This is the first study to identify begomovirus resistance gene in peppers.

研究分野：園芸学、植物育種学、植物ウイルス学

キーワード：トウガラシ・ピーマン ジェミニウイルス ベゴモウイルス ウイルス抵抗性 抵抗性育種 ゲノム解析 ナス科 抵抗性遺伝子

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

温帯の日本、欧州、北米では外来のジェミニウイルスが 1990 年代に侵入し、トマトにおける黄化葉巻病被害が同時多発的に発生した。このことが研究を進展させる大きな契機となり、今ではトマトの抵抗性遺伝子が複数報告され、温帯で栽培されているトマト品種においてはジェミニウイルス抵抗性が標準的に導入されつつある。また、そのような実用性の高い遺伝子の単離および機能解明は学術面でも大きなインパクトを与える発見であった (Verlaan et al., 2013; Butterbach et al., 2014; Lapidot et al., 2015)。

熱帯・亜熱帯におけるジェミニウイルスによる被害は温帯以上に深刻な状況にある。申請者が 2012 年より調査を継続しているインドネシアでは、栽培されているトウガラシ (*Capsicum annuum*) の約 80 ~ 100% がジェミニウイルスによる黄化葉巻病を発症している (Koeda et al., 2016)。このように被害が深刻化する要因として、熱帯・亜熱帯には温帯とは異なり複数種のジェミニウイルスが存在すること、また温暖な気象環境では多くの植物が多年草化するため、常に圃場周辺にウイルス感染植物 (作物、雑草) が存在することが挙げられる。ウイルスに直接作用する農薬はないため、媒介昆虫であるタバココナジラミが防除対象となるが、温室やビニールハウス栽培であっても農薬散布や防虫ネットによるタバココナジラミの防除は難しく、熱帯・亜熱帯のような露地を主体とする栽培環境では防除が一層困難である。また、農薬耐性を有するタバココナジラミの出現も問題になっている。このような現状において、世界各地の生産現場ではトウガラシにおけるジェミニウイルス抵抗性品種の導入が強く求められているにも関わらず、ジェミニウイルス抵抗性トウガラシは未だ報告されていない (Kenyon et al., 2014)。

申請者はトウガラシにおけるジェミニウイルス抵抗性育種を目標に、選抜方法の確立と遺伝資源の整備を 2014 年より進めてきた。選抜方法には、遺伝子組換え技術を応用し、人工制御環境下で他の病害や環境ストレスの要因を除外して、確実にジェミニウイルス抵抗性を評価する手法を構築した (Koeda et al., 2017, 2018)。本接種法により、これまでにトウガラシ遺伝資源 (約 400 系統) の抵抗性評価を行い、強い抵抗性を示す GR1, GR2, GR3 を発見した。GR1 ~ 3 いずれの系統においても感染初期はわずかに病徴が認められるものの、新たに展開する新葉では徐々に病徴が消失する強度抵抗性を確認している。また、PCR によりジェミニウイルスの感染は認められることから、ウイルスの増殖・移行の何らかのステップを阻害することで体内のウイルス濃度を低下させる抵抗性機構を有していると考えられる。しかし、新たに見出したジェミニウイルス抵抗性系統 GR1 ~ 3 の抵抗性は、どのような遺伝子が制御しているのか、どのようなメカニズムで抵抗性を発揮しているのか、などの抵抗性育種に必要な情報は不足しており、これらは解明すべき重要な学術課題と考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究はジェミニウイルス抵抗性遺伝子の単離および抵抗性メカニズムの解明を目的とする。本研究では、申請者が独自の遺伝資源および接種法を用いて選抜した抵抗性系統 (GR1 ~ 3) を調査することで、世界に先駆けて育種に利用できる抵抗性遺伝子の単離を試みる。

### 3. 研究の方法

#### 植物材料

ジェミニウイルス抵抗性の GR1, GR3 (以降では PG1-1 と表記する)、BaPep-5 を研究に用いた。詳細な抵抗性評価を改めて行った結果、*Capsicum chinense* に属する GR1 と GR2 は類似した抵抗性メカニズムを有している可能性が考えられたため、遺伝解析は GR1 を用いて進めることにした。PG1-1 は *Capsicum pubescens* 由来の抵抗性を種間交雑により *C. annuum* に導入した系統である。インドネシアのアチェ州で見出した抵抗性品種 Perintis (本研究では BaPep-5 と表記) も用いた。抵抗性の評価および交雑集団の作成には、感受性である *C. chinense* 品種の Habanero および *C. annuum* 系統の SCM334, Kencana (本研究では BaPep-4 と表記) を供試した。また、接木接種などには *C. annuum* の感受性系統である No.218 (Koeda et al., 2018) を用いた。

#### ウイルスと接種法

抵抗性の評価にはインドネシアで単離した、ジェミニウイルス科、ペゴモウイルス属の二分節型ウイルスである pepper yellow leaf curl Indonesia virus (PepYLCIV) と pepper yellow leaf curl Aceh virus (PepYLCAV) を供試した (Koeda et al., 2016, 2018; Kesumawati et al., 2019)。感染性クローンの作成は Koeda et al., (2017, 2018) に従い行った。アグロインフィルトレーションによるウイルスの接種は子葉に行い、接木接種では予めアグロインフィルトレーションによりジェミニウイルスを感染させた No.218 と評価個体を接木することで行った。

#### 交雑集団の作成

GR1 と Habanero, PG1-1 と SCM334, BaPep-5 と BaPep-4 を交雑して交雑 F1 および F2 集団を作成した。GR1 および PG1-1 の F2 集団へのウイルス接種は PepYLCIV が感染・発病した No.218 を用いた。BaPep-5 の F2 集団へのウイルス接種は PepYLCAV のアグロインフィルトレーションによ

り行った。ウイルスが感染した個体を対象として、病徴の目視評価により抵抗性を判定し、RAD-seq に用いるための DNA を抽出した。

#### RAD-seq による原因遺伝子のマッピング

GR1, BaPep-5, PG1-1 の F2 集団および両親の DNA を用いて RAD-seq 解析を行った。RAD-seq 解析は全ゲノムリシーケンスを改変することで多数の検体において特定のゲノム領域を対象として配列を取得し、SNP や Indel などの多型情報を取得する手法である。得られた多型情報から欠損率が比較的少ないものを選抜し、Beagle を用いて欠損データの補完を行った後、MSTmap を用いた連鎖地図の作成、R/QTL を用いた連鎖解析を行うことで原因遺伝子の座上位置を特定した。

#### 全ゲノムリシーケンスによる原因遺伝子のファインマッピング

原因遺伝子のファインマッピングには、両親間での多型情報が必要になる。そこで、GR1, Habanero, BaPep-5, BaPep-4, PG1-1, SCM334 の全ゲノムリシーケンスを行った。これにより、PCR ベースの SNP マーカー (CAPs, dCAPs), Indel マーカー, Realtime PCR ベースの HRM マーカー, KASP マーカーを設計した。これらのマーカーを用いて詳細な組換え点を特定し、形質との連鎖関係を調査することで候補領域の絞り込みを行った。なお、PG1-1 のファインマッピングにおいては F3 集団も用いた。

#### 候補遺伝子の配列単離と発現解析

ファインマッピングに成功した BaPep-5 および PG1-1 を対象として更なる解析を行った BaPep-5 については候補領域に単一の遺伝子、*Pelota* だけが座上していたため、RNA の逆転写産物を用いて *Pelota* の全長配列を取得した。PG1-1 については候補領域に複数の遺伝子が座上していたため、RNA-seq により発現解析を実施した。また、RNA-seq により得られたリードを用いて、de novo assemble を行い、推定の転写産物全長配列を取得した。最も有力な候補遺伝子については RNA の逆転写産物を用いて全長配列を取得した。候補遺伝子 *Pelota* の BaPep-5 と BaPep-4 における遺伝子発現量は Realtime PCR により行った。PG1-1 の候補遺伝子については RNA-seq による発現解析と Realtime PCR による解析を行った。

#### 候補遺伝子の Virus induced gene silencing (VIGS) による逆遺伝学的解析

BaPep-5 の候補遺伝子である *Pelota* については機能が低下あるいは無くなるとジェミニウイルスに対して抵抗性を獲得すると考えられた。そこで、感受性の No.218 において tobacco rattle virus (TRV) を用いて VIGS を行い、*Pelota* の転写量を低下させた状態では No.218 がジェミニウイルス抵抗性を獲得することを確認した。PG1-1 の候補遺伝子として RNA dependent RNA polymerase (RDR) が特定された。そこで、PG1-1 において VIGS で RDR の転写量を低下させた状態では PG1-1 が抵抗性を喪失することを確認した。

## 4. 研究成果

#### GR1 の抵抗性評価および原因遺伝子のマッピング (Mori et al., 2022)

GR1 および感受性の Habanero に対して、接木接種により PepYLCIV を接種した。接木から約 75 日後に抵抗性評価を行ったところ、Habanero (平均 DSI = 3) では、全体に明確な黄化症状が確認されたが、GR1 (平均 DSI = 0.4) においては、非常に軽度な病徴が確認される程度であった。Realtime PCR によって、各系統のウイルス DNA 量を調査したところ、約 65 日後には GR1 においてウイルス DNA 蓄積量が有意に低かった。これらの結果から、GR1 は PepYLCIV 抵抗性を有していることが確認された。

抵抗性を評価した F<sub>2</sub> 集団を用いて RAD-seq 解析を行った。F<sub>2</sub> 集団を用いた連鎖解析の結果、第 4 染色体および第 11 染色体上に閾値を超えるピークが検出され、各ピークに関係する Quantitative trait loci (QTL) をそれぞれ Pepy-chr4, Pepy-chr11 と命名した。Pepy-chr4 QTL (LOD 値 = 15.0) は第 4 染色体上の 39.1 cM に位置し、表現型に対する寄与率 (Percent of the phenotypic variation explained by the QTL) は 31.6% であった。また、Pepy-chr11 QTL (LOD 値 = 8.3) は第 11 染色体上の 14.9 cM に位置し、寄与率は 19.7% であった。

F<sub>2</sub> 集団で検出された候補領域を狭めるために、第 4 染色体および第 11 染色体の QTL 候補領域に関する組換え体 40 系統を選抜し、自殖して F<sub>3</sub> 集団を作成した。アグロイノキュレーションによる PepYLCIV 感染性クローンの接種から約 95 日後において、全個体 (n = 1082) の中に、極めて高い抵抗性 (DSI = 0) を示すものが 74 個体、極めて高い感受性 (DSI = 6) を示すものが 100 個体観察された。また、Realtime PCR を通して、より極端な個体の選抜を実施し、最終的に異なる系統を 10 個体ずつ選び、各バルクとして QTL-seq に使用した。QTL-seq 解析では、QTL を同定するために、リファレンスゲノムにアライメントし、バルクごとに SNP index を算出した。また、極端な表現型を示す 2 つのバルク間で、SNP index (p < 0.01) を計算した。結果、第 3 染色体上の 9.3Mb (224.3-233.6-Mb)、第 11 染色体上の 12.4Mb (217.5-229.9 Mb) が候補領域として検出された。ここで、それぞれの QTL を Pepy-chr3-qt1seq および Pepy-chr11-qt1seq と命名した。また、R\_bulk と S\_bulk の SNP-index の解析から、Pepy-chr3-qt1seq は Habanero 由来、

Pepy-chr11-qt1seq は GR1 由来と推測された。

BaPep-5 の抵抗性評価および *Pelota* をコードする劣性抵抗性遺伝子 *pepy-1* の単離 (Koeda et al., 2021)

アグロイノキュレーションで PepYLCAV を接種して感染した個体を用いて抵抗性の評価を行った。接種後約 46, 53 日に BaPep-4 と F1 で葉巻は見られなかったものの重度の黄化症状 (4 点) を示し, BaPep-5 では 2 品種より軽度な黄化症状を示した。しかし, BaPep-5 は 3~0 点と病徴の程度にばらつきが見られた。3 点を示した BaPep-5 は, 中程度の葉の黄化症状, 萎縮, 成長阻害とともに, 壊死反応のような特異的な症状を示した。しかし, 接種後約 53 日の Realtime PCR によるウイルス DNA 量の調査において, BaPep-4 と F1 と比較して, 3~0 点の BaPep-5 では有意に低いウイルス DNA 量しか蓄積していなかった。また, F1 が BaPep-4 と同程度の感受性を示したことから, BaPep-5 の抵抗性は劣性遺伝することが示された。

接木による PepYLCIV 接種では, 接木後 86 日において BaPep-4 と F<sub>1</sub> で重度な黄化症状 (4 点) を示し, BaPep-5 では穂木切除前より軽度な症状 (1 点) でほとんど病徴が確認されなかった。また, Realtime PCR による接木後 57 日と 86 日のウイルス DNA 量の調査も行ったところ, BaPep-4 と F<sub>1</sub> で同様の高いウイルス DNA 量を確認し, BaPep-5 で有意に低いウイルス DNA 量を確認した。アグロイノキュレーションによる PepYLCIV 接種では, 接種後 37 日と 50 日に評価したところ, BaPep-4 と F<sub>1</sub> で接木と同様に重度な黄化症状 (4 点) を示し, 接種後 37 日と 50 日で 2 品種より顕著に軽度な黄化症状 (2-0 点) を確認した。また, Realtime PCR による接種後 37 日と 50 日のウイルス DNA 量の調査も行ったところ, BaPep-4 と F<sub>1</sub> で同様の高いウイルス DNA 量を確認し, BaPep-5 で有意に低いウイルス DNA 量を確認した。

F<sub>2</sub> 集団の評価において, 抵抗性を示す BaPep-5 型が 29 個体, 感受性を示す BaPep-4 型が 319 個体確認された。BaPep-4 型は BaPep-5 型より重度な黄化症状を確認した。また, BaPep-5 型は生育初期段階においては病徴のばらつきが確認されたが, 接種後約 90 日には 1 点が 4 個体, 0 点が 29 個体となり, それほどばらつきが確認されなくなった。Realtime PCR によるウイルス DNA 量の調査において, BaPep-5 型の個体で BaPep-4 型の個体より有意に少ないウイルス DNA 量を確認した。Rad-seq 解析により得られた遺伝子型データから連鎖地図を作成したところ, トウガラシの染色体数と一致する 12 の連鎖群と 317 のマーカーが得られ, 平均マーカー間距離は 3.4cM であった。さらに, 得られた表現型データと Realtime PCR データを用いて, QTL 解析を行ったところ, 閾値を超えるピークを第 5 染色体上に確認し, 閾値を超えるピークが第 5 染色体のみであったことから, 単一の因子が抵抗性に関与していることが示唆された。また, 遺伝子型データから第 5 染色体上のマーカー S05\_9614395 と S05\_17254971 (物理距離 7640kb) 近傍に, 抵抗性の候補遺伝子がある可能性が示唆された。

全ゲノムリシーケンスを行い, 得られた変異情報に基づき原因遺伝子があると示唆された S05\_9614395 と S05\_17254971 間 (物理距離 7640kb) に 7 マーカーを設計した。最終的な候補領域には 1 つの遺伝子しか存在しておらず, その遺伝子配列の BLAST 分析を行ったところ, トマトの *SPelota* と相同性を持つ遺伝子を確認した。そこで, 2 品種の変異情報に基づき当該遺伝子上に変異を検出できる CAPS マーカー (S05\_14208507) を設計し, 遺伝子型決定を行ったところ, 表現型と遺伝子型が完全に連鎖していた。そのため, 抵抗性の原因遺伝子は, *Pelota* であることが示唆され, 本遺伝子を *CaPelota* と命名した。

BaPep-5 と BaPep-4 の *CaPelota* の cDNA をシーケンスし, アライメントを行い, 2 品種を比較したところ, BaPep-5 で 84 塩基の挿入が確認された。また, 推定アミノ酸配列においては, BaPep-5 で 28 のアミノ酸挿入が確認された。さらに, 全ゲノムリシーケンスで得たゲノム配列とも比較したところ, BaPep-5 のイントロンの 3' スプライス部位 (AG) において A が G になっているという SNP を確認し, イントロンのスプライシングが起こらないことが示唆された。

TRV ベクターを用いた VIGS を実施し, *CaPelota* が PepYLCAV 抵抗性に関与するかを調査した。実験に用いた PepYLCAV 感受性の No.218 では接種から約 23 日後において, サイレンシングの目安として PepYLCIV+pTRV2::PDS を接種した個体では葉の白化が確認され, *phytoene desaturase* (PDS) 遺伝子のサイレンシングが成功していることが示唆された。コントロールである PepYLCIV+pTRV2::GFP を接種した個体では PepYLCAV による病徴が観察された。一方, PepYLCIV+pTRV2::CaPelota を接種した個体では病徴が確認されず, No.218 が抵抗性形質形質を示した。*CaPelota* の発現解析および PepYLCAV のウイルス DNA 定量において, pTRV2::CaPelota を接種した個体では pTRV2::GFP を接種した個体に比べ, *CaPelota* の発現量は有意に低かった。また, pTRV2::CaPelota では, pTRV2::GFP に比べ PepYLCAV ウイルス DNA 量が有意に多かった。以上の結果から, BaPep-5 が有する抵抗性遺伝子 *pepy-1* は *CaPelota* をコードし, これは BaPep-5 の PepYLCIV および PepYLCAV 抵抗性に関与していることが明らかになった。

PG1-1の抵抗性評価およびRDRをコードする優性抵抗性遺伝子 *PepY-2*の単離 (Koeda et al., 2022)

抵抗性候補系統であるPG1-1および感受性系統のSCM334およびF<sub>1</sub>に対して、接木でPepYLCIVを接種した。接木から57日後に抵抗性評価を行ったところ、SCM334 (平均DSI = 2) では、多くの葉において明確な黄化症状が現れる重度な病徴を示した。一方、PG1-1 (平均DSI = 0) では、明確な病徴は確認されなかった。また、F<sub>1</sub> (平均DSI = 0.8) においても、非常に軽度な黄化症状が一部に確認される程度であった。また、Realtime PCRによって、各系統のウイルスDNA量を調査した。調査にはPG1-1から5個体、SCM334から3個体、F<sub>1</sub>から5個体を用いた。結果、50日後および57日後のいずれにおいても、PG1-1はSCM334に比べ、著しく低いウイルスDNA量を示し、有意差が認められた。また、F<sub>1</sub>においても、SCM334と比較すると、そのウイルスDNA量は非常に低く、PG1-1と同じように有意差が認められた。また、PG1-1とF<sub>1</sub>の間には、有意差が認められなかった。これらの結果から、PG1-1およびF<sub>1</sub>はPepYLCIV抵抗性を有していることが確認された。

F<sub>2</sub>集団にPepYLCIVを接種し、目的の抵抗性遺伝子に関する連鎖解析を実施した。217個体を用いた抵抗性評価の結果、接木から約60日後において、抵抗性を示した個体は216個体確認された。しかし、感受性を示した個体は1個体のみと、著しい分離比の歪みがこの集団では確認された。次に、この集団を用いたRAD-seq解析を実施し、最終的に連鎖解析に使用するSNPマーカー1469個を得た。得られたマーカーから連鎖地図を作成したところ、トウガラシの染色体数と同数の12の連鎖群が確認され、連鎖地図におけるDNAマーカー間の平均距離は1.9 cMであった。続いて、CIM法による連鎖解析を実施した結果、第7染色体上に1500を超える対数オッズスコア (LOD値) が確認されたが、このピークは閾値以下であった。さらに、Kruskal-Wallis検定による連鎖解析を実施したところ、2つのマーカー (S07\_8329879 (24.92 cM), S07\_8329905 (24.92 cM)) に対して、最も小さいp値 (1.25E-47) が検出された。このことから、候補領域は1.52 Mbであると推測され、存在が予想された優性の抵抗性遺伝子座を *PepY-2* と命名した。

候補領域を狭めるために、2つのKASPマーカーS07\_8122498およびS07\_9240780を作成し、新たに栽培したF<sub>2</sub>集団 (n = 1146) における組換え体の選抜に用いた。組換えF<sub>2</sub>であるNo.122由来のF<sub>3</sub>集団 (n = 1530) では、PG1-1ホモ接合型 (n = 260)、ヘテロ接合型 (n = 758)、SCM334ホモ接合型 (n = 512) が得られたため、次に、各遺伝子型の個体を用いたPepYLCIV抵抗性評価を実施した。PG1-1ホモ接合型 (n = 15)、ヘテロ接合型 (n = 22)、SCM334ホモ接合型 (n = 26) は全て抵抗性を示した。これより、原因遺伝子は第7染色体上のS07\_8122498およびHRM 8844414間 (8,021-8,844 k) に存在すると考えられた。そこで、リファレンス配列のZunla (Qin et al., 2014) を用い、調べたところ、722 kbの候補領域内に、17個の遺伝子が含まれていた。また、リシークエンスデータと比較した結果、SCM334と比較すると、PG1-1のすべての候補遺伝子に関して、非同義置換が起きていた。

未接種およびPepYLCIVを接種したPG1-1およびSCM334を用いたRNA-seq解析を実施した。その結果、pentatricopeptide repeat-containing proteinをコードするCapana07g000161、F-box protein SKIP1-likeをコードするCapana07g000162、probable RNA-dependent RNA polymerase (RDR) をコードするCapana07g000168、未知のタンパク LOC107877598をコードするCapana07g000174では、PepYLCIVに感染したPG1-1およびSCM334間で有意差な発現量の差が確認された。トマトにおけるペゴモウイルス抵抗性遺伝子 *Ty-1/Ty-3* は、DFDGD-Class RDRをコードしていることから (Verlaan et al., 2013)、PG1-1が有する抵抗性はCapana07g000168である可能性が高いと考えられた。

PG1-1およびSCM334からCapana07g000168転写物の全長配列を単離し調べたところ、候補遺伝子は *CaRDR3a* であることが推測され、これは19のエキソンから構成されていた。また、SCM334では第1エキソンにおいて、フレームシフトを引き起こすようなグアニン (G) の欠損が検出された。

TRVベクターを用いたVIGSを実施し、*CaRDR3a*がPepYLCIV抵抗性に関与するかを調査した。接種から約18日後において、サイレンシングの目安としてPepYLCIV+pTRV2::PDSを接種した個体では葉の白化が確認され、PDS遺伝子のサイレンシングが成功していることが示唆された。コントロールであるPepYLCIV+pTRV2::GFPを接種した個体では目立った病徴は確認されなかった。一方、PepYLCIV+pTRV2::CaRDRを接種した個体では黄化や萎縮といった病徴が確認された。また、PepYLCIV+pTRV2::GFP、PepYLCIV+pTRV2::CaRDRを接種した個体はウイルス検定を実施し、TRVおよびPepYLCIVの感染が確認された。*CaRDR3a*の発現解析およびPepYLCIVのウイルスDNA定量において、pTRV2::CaRDRを接種した個体では、pTRV2::GFPを接種した個体に比べ、*CaRDR3a*の発現量は有意に低かった。また、pTRV2::CaRDRでは、pTRV2::GFPに比べPepYLCIVウイルスDNA量が有意に多かった。以上の結果から、PG1-1が有する抵抗性遺伝子 *PepY-2* は *CaRDR3a* をコードし、これはPG1-1のPepYLCIV抵抗性に関与していることが明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Koeda Sota, Mori Namiko, Horiuchi Ryo, Watanabe Chiho, Nagano Atsushi J., Shiragane Hayato	4. 巻 135
2. 論文標題 PepYLCIV and PepYLCAV resistance gene Pepy-2 encodes DFDGD-Class RNA-dependent RNA polymerase in Capsicum	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Theoretical and Applied Genetics	6. 最初と最後の頁 2437 ~ 2452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00122-022-04125-9	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 Mori Namiko, Hasegawa Shota, Takimoto Ryota, Horiuchi Ryo, Watanabe Chiho, Onizaki Daiki, Shiragane Hayato, Nagano Atsushi J., Kesumawati Elly, Koeda Sota	4. 巻 218
2. 論文標題 Identification of QTLs conferring resistance to begomovirus isolate of PepYLCIV in Capsicum chinense	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Euphytica	6. 最初と最後の頁 20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10681-022-02970-9	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 Koeda Sota, Onouchi Mika, Mori Namiko, Pohan Nadya Syafira, Nagano Atsushi J., Kesumawati Elly	4. 巻 134
2. 論文標題 A recessive gene pepy-1 encoding Pelota confers resistance to begomovirus isolates of PepYLCIV and PepYLCAV in Capsicum annum	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Theoretical and Applied Genetics	6. 最初と最後の頁 2947 ~ 2964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00122-021-03870-7	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 Yamamoto Hiroto, Wakita Yuya, Kitaoka Toshiya, Fujishiro Kohei, Kesumawati Elly, Koeda Sota	4. 巻 90
2. 論文標題 Southeast Asian Isolate of the Tomato Leaf Curl New Delhi Virus Shows Higher Pathogenicity Against Tomato and Cucurbit Crops Compared to that of the Mediterranean Isolate	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 314 ~ 325
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hortj.UTD-269	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Koeda Sota, Homma Kanami, Kamitani Mari, Nagano Atsushi J., Taniguchi Marina, Pohan Nadya, Kesumawati Elly	4. 巻 165
2. 論文標題 Pepper vein yellows virus 9: a novel polerovirus isolated from chili pepper in Indonesia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Archives of Virology	6. 最初と最後の頁 3017 ~ 3021
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00705-020-04838-6	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 Koeda Sota, Fujiwara Ikuya, Oka Yuki, Kesumawati Elly, Zakaria Sabaruddin, Kanzaki Shinya	4. 巻 104
2. 論文標題 <i>Ty-2</i> and <i>Ty-3a</i> Conferred Resistance are Insufficient Against Tomato Yellow Leaf Curl Kanchanaburi Virus from Southeast Asia in Single or Mixed Infections of Tomato	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Disease	6. 最初と最後の頁 3221 ~ 3229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1094/PDIS-03-20-0613-RE	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 Kesumawati Elly, Okabe Shoko, Khalil Munawar, Alfian Gian, Bahagia Putra, Pohan Nadya, Zakaria Sabaruddin, Koeda Sota	4. 巻 89
2. 論文標題 Molecular Characterization of Begomoviruses Associated with Yellow Leaf Curl Disease in <i>Solanaceae</i> and <i>Cucurbitaceae</i> Crops from Northern Sumatra, Indonesia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 410 ~ 416
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hortj.UTD-175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計16件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小野内美佳・森 菜美子・Nadya Syafira Pohan・永野 惇・Elly Kesumawati・小枝壮太
2. 発表標題 Pelotaをコードする劣性遺伝子pepy-1はトウガラシ (Capsicum annuum) にベゴモウイルス抵抗性を付与する
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森 菜美子・長谷川翔太・瀧本涼太・堀内 亮・渡邊知帆・鬼崎大樹・白銀隼人・永野 惇・Elly Kesumawati・小枝壮太
2. 発表標題 Capsicum chinenseにおけるペゴモウイルスPepYLCIVに対する抵抗性遺伝子のマッピング
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本千尋・山本浩登・藤代康平・永野 惇・小枝壮太
2. 発表標題 キュウリにおけるtomato leaf curl New Delhi virus (ToLCNDV) 抵抗性に関するQTLの同定
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nadya Syafira Pohan・Gian Alfian・Munawar Khalil・Putra Bahagia・小野内美佳・城野良介・甲野喜識・濱田彩音・丸石多恵・蓮 真海・本間鹿波・Elly Kesumawati・小枝壮太
2. 発表標題 pepy-1を有するトウガラシBaPep-5は圃場においてペゴモウイルス耐性を示す
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口満理奈・関根健太郎・小枝壮太
2. 発表標題 沖縄県における園芸作物に感染するポレロウイルスおよびペゴモウイルスの野外調査
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 吉川恭平・小枝壮太
2. 発表標題 二分節型ベゴモウイルスであるTYLCKaVに対して抵抗性を示すナス ( <i>Solanum melongena</i> ) 素材の選抜
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野内美佳・岡本桃花・森 涼馬・小枝壮太
2. 発表標題 Pelotaのウイルス誘導性ジーンサイレンシングはキュウリ ( <i>Cucumis sativus</i> ) にベゴモウイルス抵抗性を付与する
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 山本千尋・山本浩登・藤代康平・永野 惇・小枝壮太
2. 発表標題 Tomato leaf curl New Delhi virus (ToLCNDV) 抵抗性を有する新たな育種素材におけるQTLの同定
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Nadya Syafira Pohan・Rayhan Hayati・Nurul Hadisah・Yusuf Haidar・Munawar Khalil・小野内美佳・Elly Kesumawati・小枝壮太
2. 発表標題 pepy-1によるベゴモウイルス抵抗性はトウガラシの高い果実生産性に寄与する
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 吉川恭平・小枝壮太
2. 発表標題 Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virusに抵抗性を持つナス素材の接木接種による抵抗性評価
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 谷口満理奈・関根健太郎・小枝壮太
2. 発表標題 沖縄で単離されたlisanthus enation leaf curl virusはトマトのTy-2およびTy-3aによる抵抗性を回避する
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 山本浩登・藤代康平・白銀隼人・神崎真哉・小枝壮太
2. 発表標題 ペゴモウイルスToLCNDVに対して抵抗性を示すキュウリ育種素材
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森 菜美子・堀内 亮・渡邊智帆・白銀隼人・Elly Kesumawati・小枝壮太
2. 発表標題 ペゴモウイルスPepYLCIVに対して抵抗性を示すトウガラシ (Capsicum annuum) 素材
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森 菜美子・岡部祥子・Kesumawati Elly・Zakaria Sabaruddin・白銀隼人・神崎真哉・小枝壮太
2. 発表標題 トウガラシにおける新大陸在来ペゴモウイルスの接種および耐病性評価系の構築
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡部祥子・Kesumawati Elly・Zakaria Sabaruddin・神崎真哉・小枝壮太.
2. 発表標題 ペゴモウイルスPepYLCAVはナス科作物においてPepYLCIVよりも高い複製効率を示す
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 菜美子・鬼崎大樹・Kesumawati Elly・Zakaria Sabaruddin・白銀隼人・神崎真哉・小枝壮太
2. 発表標題 ペゴモウイルスPepYLCIVに対して抵抗性を示すCapsicum chinense育種素
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>研究者ホームページ  <a href="https://sites.google.com/site/sotakoeda/home?authuser=0">https://sites.google.com/site/sotakoeda/home?authuser=0</a></p>
---

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
---------	---------