

ネギさび病抵抗性育種

野菜茶業研究所葉根菜研究部 **若生忠幸**

はじめに

ネギの生産は、近年の輸入急増に伴って徐々に減少傾向にあり、2003年の国内栽培面積は約23,600haとなっている。安価な輸入品に対抗するため、生産場面ではコスト低減や消費者の信頼を得るための安全性確保、高品質化などが重要な課題となっている。病害虫の防除は、品質や生産性維持のための不可欠な要素であるが、環境保全型農業への関心が高まる中で、产地存続のために化学合成農薬の使用量低減に向けた取り組みも求められている。

ネギさび病 (*Puccinia allii*) は、比較的低温時期に多発し、ネギの収穫量の約8割を占める秋冬期および春期の収穫物に甚大な被害を与えることから、ネギの最重要病害の一つに位置づけられる。本病害の発生生態については、温度、湿度、土壤肥料条件等と発病との関係について明らかにされているが(竹内、1986)、品種による感受性の違いについては十分な情報が得られていない。明確な抵抗性をもつ品種は知られておらず、防除手段は殺菌剤散布に頼らざるを得ない状況であり、耐病性品種を求める声は根強いものがある。筆者らは、さび病抵抗性品種を育成するため、育種素材の検索や抵抗性検定法、選抜手法等の開発に取り組んできた。本稿ではネギさび病抵抗性育種の現状と課題について紹介する。

I 抵抗性検定法

1 接種源の準備

ネギさび病菌は絶対寄生菌であり、接種源にはネギ生葉上で増殖した夏胞子を用いる。圃場においてさび病の病徵(夏胞子堆)が多数生じた綠葉を採取し、密閉容器に入れ15~20℃で一晩静置すると夏胞子が多数放出されてくるので、これらをはたき落として採集する。なお、採集した夏胞子は-30℃で凍結すれば、半年以上活性が維持される。凍結保存した夏胞子は、接種前に室温で解凍し、素寒天培地に塗布して2~3時間インキュベー

ト後、発芽率を確認する。

2 幼苗検定

200穴セルトレイで播種後約2か月、もしくは6cmポリ鉢で播種後約3か月生育させた苗を用いる。 10^5 個/mlの濃度に調整した夏胞子懸濁液をハンドスプレーを用いて葉面に均等に噴霧接種する。夏胞子の拡散およびネギ葉面への展着を促すため、懸濁液には0.01%Tween20および0.5%タルクをあらかじめ添加しておく。さび病の発病最適温度は15~20℃であり(竹内、1986)、接種後はグロースチャンバーなどの環境制御下で管理する必要がある。また、葉面に付着した夏胞子が発芽し、発芽管が伸長するためには、一定期間葉面が濡れている必要がある。このためにフィルム資材などで材料をテント状に覆い、さらに加湿器(超音波式)を用いて12時間程度水滴を注入すると、葉を均一に濡らすことができる。この方法によると接種9日後頃から病徵がみえ始め、14日後までに発病程度を調査できる。幼苗検定は、省スペースで短期間に実施することが可能なことから、育種上有効な選抜法であるが、ネギ品種間では発病程度に大きな差はみられなかった(図-1)。幼苗段階では抵抗性の発現が十分でない品種もあるものとみられ、圃場検定の結果との相関も高くなかった。(図-2)。このことから、幼苗検定は、感受性がネギと大きく異なるタマネギなど(図-1)との比較のために用いることとした。

3 圃場検定

圃場検定では厳密な環境制御は難しいが、さび病の発生は25℃以上の高温条件では抑制されるため、最高気温がこれを下回る時期を目安に検定を行う。湿度条件を調節するため、ビニルハウス内で定植後2か月程度生育させた植物体に、あらかじめ非イオン系展着剤(クミテン3,000倍)を含んだ水を動力噴霧器を用いて十分に散布する。濡れた葉面に 10^4 個/mlの夏胞子懸濁液を噴霧接種する。気温の下がる夕方に接種を行えば、一晩葉面に水滴が保持される。環境条件にもよるが、接種2週間後には発病が確認できる。

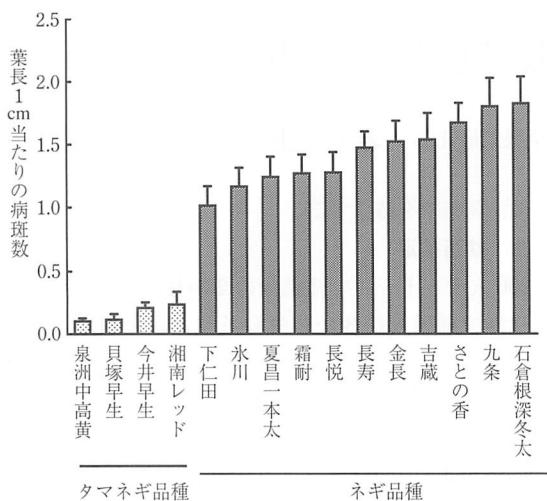


図-1 幼苗検定におけるさび病発病程度のネギ・タマネギの品種間差

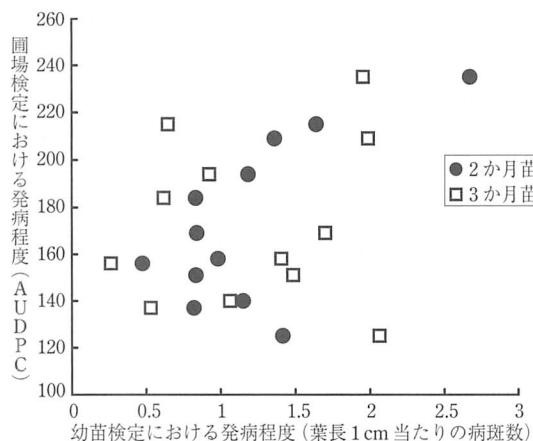


図-2 ネギ12品種を用いた幼苗検定と圃場検定におけるさび病発病程度の相関

II ネギさび病抵抗性の種・品種間差

ネギ (*Allium fistulosum*) では、用途および生態型により様々な品種が形成されており、これらは千住群、加賀群、九条群の三つに大別される。千住群および加賀群の品種は主に根深ネギとして利用されており、千住群の中では、黒柄系、合柄系および両者の中間型である合黒系が根深ネギの普及品種のほとんどを占め、全国で栽培されている。加賀群は、寒冷地に適応し、冬には地上部が枯れて休眠する。九条群は葉ネギ用として利用されている。

まず、ネギ種内における抵抗性の品種間差を調査するため、国内外から収集したネギ遺伝資源133品種・系統を供試し、ビニルハウスで播種後約5か月間栽培した植物に対し接種検定を行った（若生ら、1999）。いずれの品種も接種2週間後に発病が認められ、その後症状の進行する速度は品種によって異なり、接種5～8週間までは発病程度に広い品種間差が認められた（図-3）。しかし、接種後3か月を超えると、さらに症状が進行すると、発病程度の品種間差はほとんど判別できなくなってしまった。各品種の発病程度を、検定期間に調査した発病評点の積算値AUDPC (area under the disease progress curve) で表して比較したところ、根深ネギの主要品種を含む千住群の中では合黒系および黒柄系品種で比較的の発病程度が低く、合柄系品種では発病程度がやや高い傾向が認めら

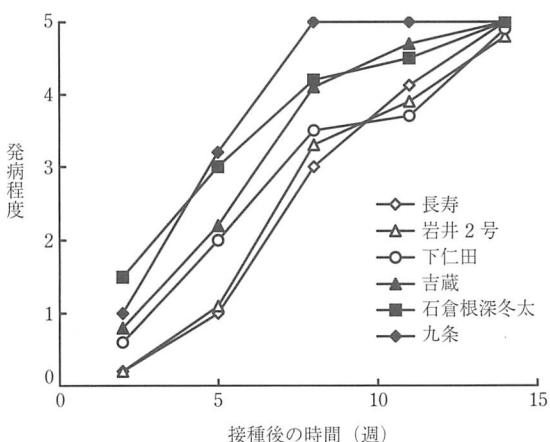


図-3 さび病圃場検定におけるネギ品種の発病程度の推移
発病程度：0（無病徵）～5（激發）。

表-1 圃場検定におけるネギ品種群のさび病発生程度

品種群	供試品種数	AUDPC ^{a)}
千住群黒柄系	26	167.9 ± 19.5
千住群合黒系	27	168.1 ± 22.9
千住群合柄系	25	173.5 ± 42.5
加賀群	19	188.6 ± 22.5
九条群	13	192.6 ± 23.9
その他	20	188.3 ± 23.6

a) 供試品種の平均値±標準偏差

AUDPC (area under the disease progress curve)

$$\sum_{i=0}^{n-1} (t_{(i+1)} - t_i) (DS_{(i+1)} + DS_i) / 2$$

n = 調査回数, t_i = i回目の調査日における接種後日数 (t₀ = 0), DS_i = i回目の調査日における平均発病評点 (DS₀ = 0)。

れた（表-1）。一方、加賀群や葉ネギに用いられる九条群の品種の大部分は早期に高い発病程度を示した。また、その他の在来品種や海外からの導入品種・系統からも顕著な抵抗性を示すものは認められなかった。以上の結果、ネギ種内の既存の遺伝資源には圃場抵抗性にある程度違いはみられるものの、十分な効果はなく、育種素材として有望な品種・系統を見いだすことはできなかった。

次に近縁種に目を向けると、ネギと交配可能な *A. altaicum*, *A. galanthum*, *A. roylei* はネギと同様に罹病性であった。これに対し、タマネギ (*A. cepa*) では抵抗性の発現が弱い幼苗時期の検定においても、ネギと比べて発病程度が明らかに低く（図-1），さび病に高い抵抗性を有すると推察された。通常、ネギの罹病葉には夏胞子堆が形成され、これが裂開して大量の夏胞子が放出される。一方、タマネギの接種葉では白色の斑点が観察されるものの、夏胞子堆の形成に至るものはわずかであり、感染の拡大がみられない。このことから、タマネギはさび病菌に感染しても、夏胞子形成を抑える作用をもつと考えられる。また、タマネギと同種のシャロット (*A. cepa Aggregatum group*) やネギとシャロットの雑種とされるワケギ (*A. × proliferum*) でも高い抵抗性が確認された。

III *A. cepa* と *A. fistulosum* の種間交雑

さび病抵抗性ネギを育成するために、*A. cepa* のもつ高い抵抗性を利用することが期待される。ネギとタマネギとの種間交雫は古くから試みられている。欧米の研究者は、ネギのもつ有用形質をタマネギに導入する目的でタマネギとネギとの雑種を作出し、タマネギへの戻し交雫を図ってきたが、両種ゲノムの不対合や核と細胞質の不親和によりその後の稔性の低下が著しく、この方法による組換え体作出の報告は現在までわずか1例に過ぎない（PEFFLEY and Hou, 2000）。通常の戻し交雫法では、意中の特性をもつ後代を得ることは極めて困難と考えられる。そこで、ネギ、タマネギの両種に交雫可能な *A. roylei* を橋渡し種とした形質導入も試みられている。KHRUSTALEVA and KIK (1998; 2000) は、ネギと *A. roylei* との F₁ をタマネギに交配し、さらにタマネギに戻し交配した後代でも高い稔性が維持され、その植物の染色体ではタマネギ、ネギおよび *A. roylei* に由来する染色体領域の乗り換えが生じていることを GISH (genomic *in situ* hybridization) により確認した。筆者らも、ネギと *A. roylei* およびタマネギと *A. roylei* との雑種を作出した

が、開花期が夏の高温時期になるためか稔性が極めて低く、次代は得られていない。稔性の維持や開花期制御のための環境条件の解明が今後必要である。

IV シャロット染色体添加系統における抵抗性

異種属間交雫では、互いのゲノムの非相容性のため、交雫後代でしばしば不稔が生じる。運良く後代が得られたとしても、劣悪形質を除去するための戻し交雫に長期間を要するなどの問題が伴う。そこで、特定の染色体の添加、置換といった染色体工学の手法により、種間交雫育種の効率化が図られている。目的とする遺伝子の座乗染色体のみを添加した系統を作出し、添加染色体と受容植物側の染色体の対合・組換えを誘発して目的形質を導入するという手段により、コムギでは赤さび病や黒さび病の抵抗性、テンサイではシストセンチュウの抵抗性の導入に成功している。

SHIGYO et al. (1996) は、ネギ‘九条’にシャロットの8対の染色体を1本ずつ添加した一染色体添加系統シリーズ ($2n = 16 + 1$, 1A 添加型～8A 添加型) を作出了。各添加型は、特異的な形態的、生理的特性を示すことから、シャロットの担う形質の遺伝解析のための有用な材料である。本添加系統は高い稔性を有し、添加染色体は雄性および雌性配偶子を通じて次代に伝達されることから、減数分裂時に両種染色体間の対合・組換えを誘発することにより、シャロットの形質のネギへの導入を図ることができると考えられる。そこで、シャロットの一染色体添加型シリーズについてさび病抵抗性を調査し、抵

表-2 さび病抵抗性検定におけるネギ、シャロットおよびシャロット染色体添加型ネギの発病程度

品種・系統	供試個体数	発病程度の分布 ^{a)}			
		0	1	2	3
九条	30			9	21
シャロット 18-5 ^{b)}	47	18	24	5	
1A 添加型 ^{b)}	20		10	8	2
2A 添加型	8			5	3
3A 添加型	27			5	22
4A 添加型	12			7	5
5A 添加型	8			2	6
6A 添加型	10			2	8
7A 添加型	19			1	18
8A 添加型	14			3	11

^{a)} 0 : 1葉当たり夏胞子堆数0個、1 : 1～20個、2 : 21～100個、3 : 101個以上。^{b)} Wilcoxon 順位和検定において‘九条’と1%水準で有意差が認められる。

抗性遺伝子を担う添加系統の選抜を試みた（若生ら、2000）。各系統の自殖次代および‘九条’への戻し交雑次代の実生について播種後3か月苗への接種検定を実施した結果、シャロット第1染色体(1A)添加型個体の多くは、ネギと比べ発病程度が有意に低く、その接種葉にはシャロットと同様に白色斑点の形成が認められた(表-2)。一方、1A以外の添加型からは、顕著な抵抗性を示す個体は見いだされなかった。この結果、シャロットの第1染色体上に抵抗性遺伝子が座乗し、ネギの遺伝的背景においても高い効果を発揮すると推察された。1A添加型は、幼苗検定においてはネギ種内にはない高いレベルの抵抗性が認められたものの、圃場検定においては十分な抵抗性を示さなかったことから、さび病抵抗性ネギ育成のための育種素材としては不適当と判断された。

V 循環選抜による抵抗性の集団改良

前述のように、ネギ種内には有望なさび病抵抗性素材は見いだされていないが、圃場抵抗性には一定の品種間差が存在するとみられる。種間交雑による遺伝子導入には、様々な障害があり、技術的課題も多いが、抵抗性を向上させるもう一つの手段として、ネギ種内で集団内の抵抗性遺伝子頻度を高めていく方法がある。ネギは他殖性作物であり、自殖弱勢が起こりやすく、集団選抜が行われるが、遺伝率の低い形質には選抜効果は低い。循環選抜法は、集団内の無作為交配と人為選抜を繰り返し行い、組換えを促進することにより集団内の有望遺伝子型の頻度を向上させるのに有効である。他殖性作物において遺伝率の低い量的形質を改良するために考案され、1920年代よりトウモロコシの収量選抜や成分育種に利用してきた。病害虫抵抗性選抜育種では、トウモロコシのヨトウムシ抵抗性、スイートコーンのさび病抵抗性、アルファルファの菌核病抵抗性等で効果が認められている (WIDSTROMET et al., 1992; ABEDON and TRACY, 1988; KANBE et al., 1997)。圃場抵抗性のように多数の遺伝子が関与する量的形質の向上には有効である。

そこで、ネギ遺伝資源 133 品種・系統の中から、圃場抵抗性に優れる 6 品種を選定し、これらを基本集団 (C0) として循環選抜を開始した。各品種 10 個体を自殖し、次代から抵抗性の優れる系統を選抜した。ここで選抜された自殖第 1 代の個体間で相互交配を行い、その次代を第 1 次改良集団 (C1) とした。以後、相互交配による雑種集団の母系選抜とそれに由来する自殖次代の系統選抜を 1 サイクルとした選抜を繰り返し、これまで

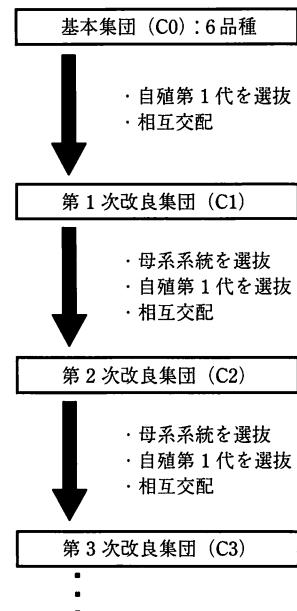


図-4 ネギにおけるさび病抵抗性の循環選抜の手順

に第3次改良集団を育成した(図-4)。これらの改良集団は、一定の遺伝的変異を保ったままび病抵抗性が改良されていると期待され、これらを素材集団として、品種開発に必要な近交系統を育成することが可能となる。第2次改良集団に由来する自殖系統から発病程度(AUDPC)が原品種の約3分の1まで低下した系統が選抜されており、比較的早期に選抜効果が認められている。

おわりに

ネギでは病害抵抗性育種に関する研究蓄積は依然少なく、さび病以外でも現在までに明確な病害抵抗性品種は存在しない。ネギは栽培期間が長く、農薬使用回数も多い作物である。本研究を通じて、減農薬栽培を可能とする品種が育成されるとともに、ネギにおける病害抵抗性選抜手法の一つが構築されることが期待される。

引用文献

- 1) ABEDON, B. G. and W. F. TRACY (1988) : *Crop Science* 38 : 56 ~ 61.
 - 2) KANBE, M. et al. (1997) : *Breeding Science* 47 : 347 ~ 351.
 - 3) KHRUSTALEVA, L. I. and C. KIK (1998) : *Teor. Appl. Genet.* 96 : 8 ~ 14.
 - 4) _____ . _____ (2000) : *ibid.* 100 : 17 ~ 26.
 - 5) PEFFLEY, E. B. and A. Hou (2000) : *ibid.* 100 : 528 ~ 534.
 - 6) SHIGYO, M. et al. (1996) : *Genes Genet. Syst.* 71 : 363.
 - 7) 竹内妙子 (1986) : *植物防疫* 40(12) : 583 ~ 586.
 - 8) 若生忠幸ら (1999) : *園学雑誌* 68 (別1) : 80 ~ 371.
 - 9) _____ (2000) : 同上 69 (別1) : 240.
 - 10) WIDSTROM, N. W. et al. (1992) : *Crop Science* 32 : 1171 ~ 1174.