

# ピーマンにおける青枯病抵抗性の評価と 抵抗性台木品種の育成

宮崎県総合農業試験場 <sup>す</sup>杉 <sup>た</sup>田 <sup>と</sup>おる <sup>る</sup>巨

## はじめに

ピーマン、トウガラシおよびパプリカに代表されるカプシカム属は、ナスやトマト、タバコ等と同じ2倍体 ( $2n = 2x = 24$ ) のナス科の植物であり、日本国内において広く栽培されている。

近年、国内のピーマン生産地においては、重油価格の高騰や農産物の輸入増加、消費の伸び悩み等による価格低迷により、農家経営が圧迫されてきている。このような厳しい状況に加えて、その生産過程において防除が困難な病害による被害が増加してきており、ピーマン生産地に多大な損害を与えている。なかでも、青枯病 (図-1) による被害は深刻であり、特に、土壌消毒剤臭化メチルの使用制限に伴い、その被害は年々拡大傾向にある。臭化メチルは、1992年にオゾン層を破壊する物質に関する国際会議 (モントリオール議定書) において、オゾン層破壊物質に指定されており、その使用が制限されている。現在、臭化メチルは、ピーマン類において代替する方策がないと認定され、不可欠用途枠で暫定的に使用が認められてきたが、2013年には全廃することになっている。このような中で、臭化メチル代替技術の開発・普及が進められてきたが、使いやすさ、効果の安定性等の点から完全な代替技術は確立されていない状況にあり、農作業上の安全性の確保や消費者に対する安全・安心な農作物の供給という面からも、農業に頼らない効果的かつ恒久的な対策が強く求められている。

当試験場では、長年にわたりトウガラシ野生種の有する土壌病害抵抗性を利用し、土壌病害に対する複合抵抗性を持った台木の育成による接ぎ木栽培技術の確立に取り組んでいる。また、2006年度から08年度にかけて、農林水産省の「先端技術を活用した農林水産研究高度化事業」において、高知県農業技術センター、(独)野菜茶業研究所、(株)タキイ種苗と協力し、「ピーマンにおける青枯病抵抗性 DNA マーカーの開発」に取り組んだ。本事業においては、トウガラシ野生種の有する土壌病害

抵抗性を利用して、土壌病害に対する複合抵抗性を持った台木の育成による接ぎ木栽培技術の確立に取り組み、青枯病抵抗性 DNA マーカーの開発と抵抗性台木品種 ‘みやざき台木1号 (品種登録番号: 第18567号)’、‘みやざき台木2号 (品種登録番号: 第18568号)’、‘みやざき台木3号 (品種出願番号: 第23891号)’ を育成するとともに、接ぎ木栽培によるこれら土壌病害に対する様々な技術開発を進めてきた。さらに、2010年度から同じく農林水産省の「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」において、「線虫抵抗性選抜システムの開発と土壌病虫害複合抵抗性台木品種の育成」を目指している。本稿では、これらの事業による一部成果とその波及効果について紹介する。

## I ピーマンにおける青枯病抵抗性の評価と QTL解析による抵抗性遺伝様式の解明

青枯病は、*Ralstonia solanacearum* によって引き起こされる土壌病害で、ナス科作物を始めとする多くの作物が感染する。一度感染すると治癒は難しく、感染した植物体は、急速に萎凋し、やがて枯死に至る。また、病原菌が土壌中の水分を介して、感染株から健全株へ二次伝染することで、甚大な被害を及ぼす。さらに、本病原菌は土壌深層部にまで分布し、一度汚染された土壌から病原菌を完全に除去することは困難である。現在、国内で栽培されているほとんどのピーマン栽培品種は、この病原に対して感受性であり、このことが、被害拡大の一



図-1 ピーマン生産現地における青枯病による被害

Evaluation of Resistance to Bacterial Wilt and Breeding of Resistant Rootstock Cultivars in Sweet Pepper (*Capsicum annuum* L.) By Toru SUGITA

(キーワード: ピーマン, 青枯病, 台木品種, 病害抵抗性)

困であると推察されることから、本病に対する防除法として、抵抗性品種の導入が有効な方法であると考えられている (MONMA et al., 1997)。しかし、トウガラシ野生種の有する青枯病抵抗性は、量的な遺伝形質 (QTL) によって支配されていると考えられるため (LAFORTUNE and BERAMIS, 2005)、現在の育種手法では抵抗性個体の安定した選抜が非常に難しく、このことが青枯病抵抗性品種の育成を困難にしている。そこで、青枯病抵抗性の遺伝様式を解明し、抵抗性選抜育種手法の効率化を図るため、各種ピーマン素材を用いて各産地で採取した青枯病菌に対する抵抗性を評価するとともに、青枯病抵抗性分離集団と各種 DNA マーカーにより作製した連鎖地図を用いて青枯病抵抗性に関する QTL 解析を計画した。

青枯病抵抗性に関する研究の最終目標としては、生産地において抵抗性を発揮できる台木用品種の育成であることから、各生産地の罹病株より分離した複数の青枯病菌株を本試験に供試した。宮崎県の生産現地において罹病したピーマンおよびトマトから採取した 4 菌株と高知県農業技術センターより分譲された 1 菌株の計 5 菌株を用いて、Biovar および Phylotype を決定し、各地域に存在する青枯病菌について分類した (世見ら, 2010)。さらに、これら 5 菌株を用いて、抵抗性素材を含む複数のピーマンおよびトウガラシ品種・系統において接種検定を行った結果、いずれの菌株を接種した場合でも、各供試品種・系統において同様の発病傾向を示した (図-2)。特に、トウガラシ野生種の青枯病抵抗性素材である

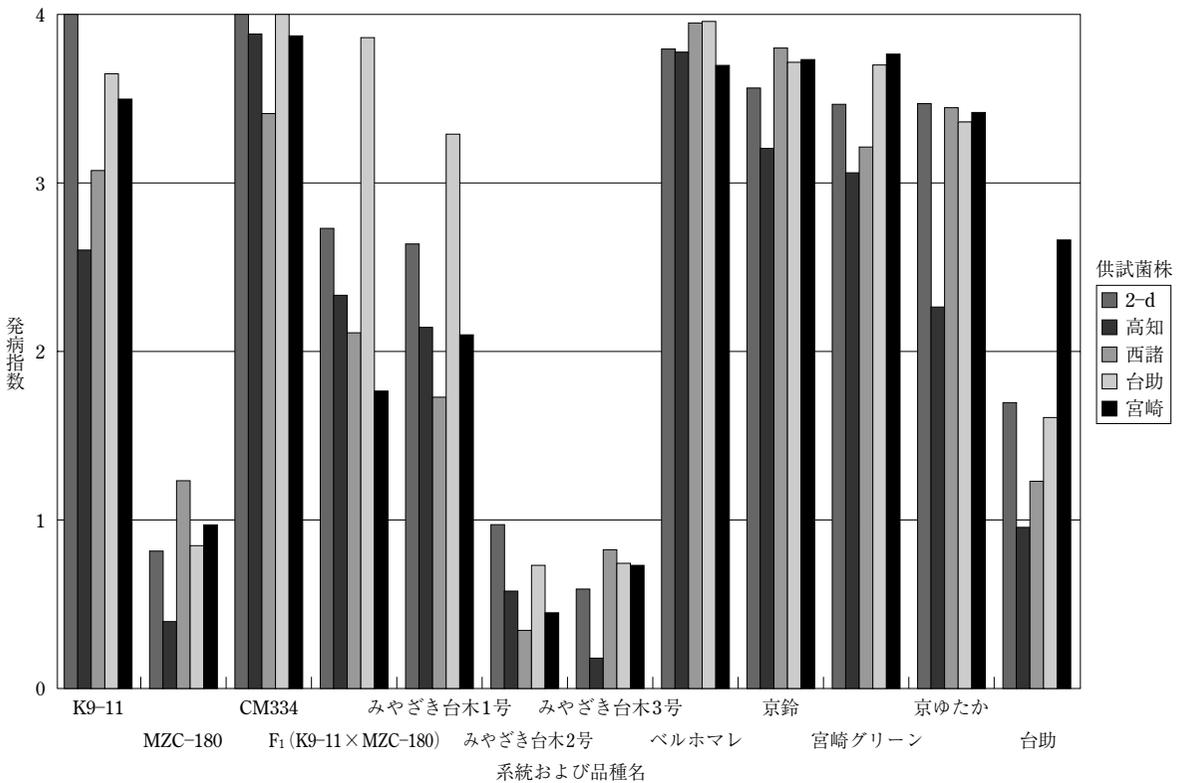


図-2 異なる地域で採取した 5 種類の青枯病菌株を用いた各品種・系統における青枯病抵抗性の評価

「2-d」菌株は国富町、「西諸」菌株はえびの市でそれぞれ単離した。「高知」菌株は、高知県農業技術センターより分譲された。「台助」菌株は、国富町において青枯病に感染した青枯病抵抗性市販台木品種「台助」より単離した。「宮崎」菌株は、宮崎市において青枯病に感染したトマトより単離した。

K9-11 は、宮崎総合農試が保有する系統で青枯病罹病性。MZC-180 は、宮崎県総合農試が保有する系統で強度青枯病抵抗性を有する。CM334 は、青枯病罹病性系統。F<sub>1</sub> (K9-11 × MZC-180) は、K9-11 に MZC-180 を交配した F<sub>1</sub> 世代。「ベルホマレ」は、長野中信農試が育成した品種で青枯病罹病性。「京鈴」および「宮崎グリーン」、「京ゆたか」は、宮崎県内で一般的に普及しているピーマン品種で青枯病罹病性。「台助」は、市販台木品種で青枯病抵抗性。青枯病菌は、 $2.0 \times 10^8$  個/ml に調製したものをを用いた。接種検定は、検定植物の株元の両側をカッターナイフで断根し、その片側に調製した菌液 10 ml を灌注した。抵抗性の評価は、接種 2 週間後の発病度合いを 5 段階評価 (0: 無病徴 ~ 4: 枯死) とし、3 反復の平均発病指数を求めた。

MZC-180 (LS2341の自殖選抜固定系統)は、すべての菌株に対して強い抵抗性を示したことから、各産地で被害を及ぼしている青枯病に対して有効な抵抗性素材であることが推測された。

そこで、蒔培養技術を利用して青枯病罹病性系統 K9-11 と MZC-180 の F<sub>1</sub> 由来倍加半数体系統 (DH: Doubled haploid; KL-DH n = 184) を育成した。KL-DH 集団において、青枯病菌 2-d 菌株を用い、合計 14 反復の接種検定を行った結果、系統毎の発病指数平均による度数分布は、連続的な分布を示したことから、MZC-180 の持つ青枯病抵抗性には QTL が関与していることが推測された。そこで得られた接種検定データをもとに、抵抗性を示す 8 系統、罹病性を示す 9 系統、合計 17 の DH 系統を選抜し、分類した 5 菌株を用いて、接種検定を行った結果、それぞれの系統がどの菌株に対しても同様の安定的な発病指数を示したことから、各菌株に対する抵抗性には同じ遺伝子座の抵抗性が関与していることが推測された。

さらに、KL-DH 集団を用いて、AFLP マーカーおよび SSR マーカーを主とした約 1,200 の DNA マーカーを用いて連鎖解析を行い、ピーマン染色体数の 12 本にほぼ収束した総連鎖群長約 1500 cM の高密度連鎖地図

(KL マップ) を作製した。この KL マップと接種検定データを用いた QTL 解析により、三つの染色体上に寄与率の高い安定的な QTL を検出した。このことにより、MZC-180 の有する青枯病抵抗性については、複数の QTL が関与していることが明らかとなった。また、これら QTL 近傍の SSR マーカーを用いることで、効率的に青枯病抵抗性系統が選抜できることが推定された。この DNA マーカーは、ピーマン、シシトウ等のすべてのカプシカム属に対して適応可能であり、抵抗性品種の早期育成により、将来にわたり生産現地における青枯病による被害を最小限に抑える効果が期待できると考えられる。

## II 土壌病害複合抵抗性台木品種の育成について

各種病害抵抗性を有する DH 系統と自殖固定系統を交配し、PMMoV (P<sub>12</sub>; 四つの病原型のうちの一つで、国内で最も問題となっている)、疫病、青枯病抵抗性を有するピーマン F<sub>1</sub> 台木用品種を 3 品種育成した。

3 品種とも PMMoV (P<sub>12</sub>) に対して抵抗性 (L<sup>3</sup>; トバモウイルス抵抗性遺伝子座の一つで、P<sub>12</sub> に対して抵抗性を示す) を有している。

また、疫病抵抗性については、日本植物防疫協会より分譲された宮崎県内で採取した疫病菌株を用いて各品

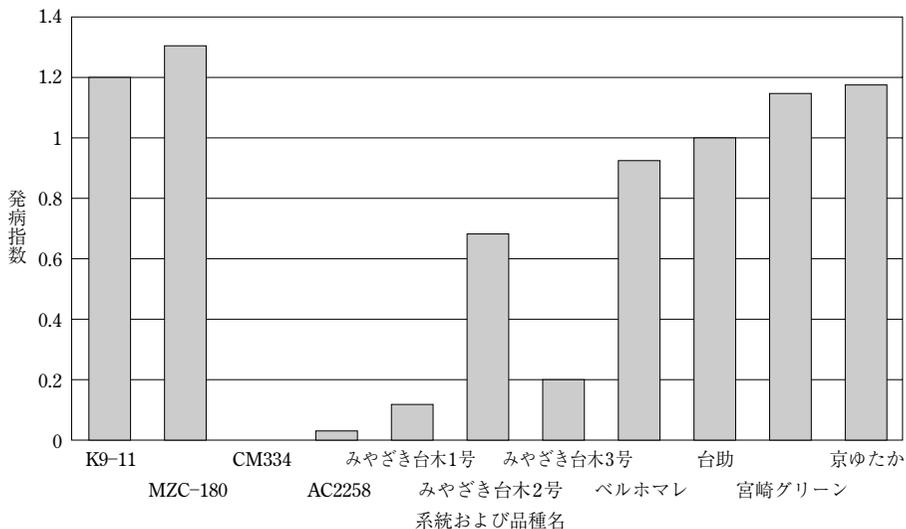


図-3 各品種・系統における疫病抵抗性の評価

接種検定には、日本植物防疫協会より分譲された本県で採取した疫病菌「宮崎」菌株を用いた。疫病菌は、遊走子嚢を  $5.0 \times 10^4$  個/ml に調製したものを、植物体の株下に 10 ml/株灌注した。K9-11 および MZC-180 は、宮崎総合農試が保有する系統で、疫病罹病性。CM334 および AC2258 は、強い疫病抵抗性を有する野生種。‘ベルホマレ’は、長野中信農試が育成した品種で疫病抵抗性。‘台助’は、青枯病抵抗性を有する市販台木品種。‘宮崎グリーン’、‘京ゆたか’は、宮崎県内で一般的に普及しているピーマン品種。抵抗性の評価は、接種 3 週間後の発病度合いを 0: 無病徴, 1: 少し萎れ, 2: 枯死の 3 段階で調査し発病指数を求めて行った。

種・系統における疫病抵抗性の評価を行った。その結果、3品種とも疫病菌に対し抵抗性を示したが、その抵抗性程度には差があり、‘みやざき台木1号’および‘みやざき台木3号’が、強い抵抗性を示した(図-3)。両系統ともAC2258由来の疫病抵抗性を有している。AC2258由来の疫病抵抗性については、QTL解析によって二つのQTLを同時に併せ持つことで抵抗性の相乗効果があることが報告されており(SUGITA et al., 2006)、『みやざき台木1号’については、ヘテロ接合ではあるが二つのQTLを同時に有するため、他の2品種よりも疫病に対し強い抵抗性を示すと考えられた。

青枯病抵抗性については、5種類の青枯病菌株を用いて、各品種・系統における青枯病抵抗性の評価を行った結果、『みやざき台木2号’および‘みやざき台木3号’は、どの菌株に対しても強い抵抗性を示した(図-2)。しかし、『みやざき台木1号’は栽培品種よりも強い抵抗性を示すものの、他の台木2品種に比べて抵抗性の程度は劣った。‘みやざき台木2号’および‘みやざき台木3号’は、種子親、花粉親ともMZC-180由来のDH系統およびMZC-180であり、3染色体上にある寄与率の高いQTLの一部領域についてホモ接合になっているものと推測できた。一方、『みやざき台木1号’は、種子親に青枯病抵抗性を有しておらず、青枯病抵抗性の各QTL座についてヘテロ接合となっているため、青枯病抵抗性の程度が劣っているものと考えられた。

抵抗性台木品種‘みやざき台木1号’および‘みやざき台木2号’に罹病性の穂木品種‘京鈴’を接いだ状態で、青枯病菌の断根接種試験を行った結果、自根への接種を行った場合と同様の抵抗性を示した。特に、台木‘みやざき台木2号’に穂木‘京鈴’を接いだ場合には、強い抵抗性を示したことから、接ぎ木状態でも穂木への十分な抵抗性の効果が得られることが確認できた(口絵①)。一方、穂木として青枯病罹病性のCM334を用いて、シリンジによる地上部(茎部)への接種試験を行った結果、抵抗性台木を用いた場合においても穂木では十分な抵抗性が得られず、穂木部が枯死したことから、生産地においては地上部からの感染には注意が必要であると考えら

れる(データ省略)。なお、このような地上部から接種を行い穂木が枯死した場合でも、接ぎ部より下部の抵抗性台木については、ほとんどの個体で枯死せずに腋芽を伸長させる。また、台木の接ぎ木部位については、台木の節位が高くなればなるほどより抵抗性が強くなる傾向にあった(データ省略)。

これら3品種の接ぎ木特性は、 $L^3$ 抵抗性を有する栽培品種を穂木として接ぎ木を行った場合、3品種とも接ぎ木接合部の活着はよく、栽培中の穂木生育も順調であることから、国内で広く生産されている $L^3$ 抵抗性の栽培品種と接ぎ木親和性を有している。また、接ぎ木後の穂木草勢は旺盛で、穂木収量性および果実品質は他の台木用品種と同等であった(蘭牟田ら, 2008)。

## おわりに

以上のことから、疫病の発生が多く見られ、青枯病の発生がない圃場においては、『みやざき台木1号’を用い、また、青枯病の発生が多く見られる圃場においては、『みやざき台木3号’をピーマン台木として用いる等、病害の発生状況に応じて使用していくことで、PMMoV(P12)、疫病、青枯病の土壌病害による被害が軽減され、ピーマンの生産性の向上が期待される。なお、宮崎県においては、2010年から青枯病被害の多い生産地において‘みやざき台木3号’の普及推進を図っており、本年度は約20万粒の種子(推定栽培面積16ha)が(社)宮崎県バイオテクノロジー種苗増殖センターを通じて出荷された。

現在は、これらの土壌病害に加え、同じく土壌を介して被害が拡大するネコブセンチュウ抵抗性を台木系統に導入した土壌病害虫複合抵抗性台木品種を育成することを目標に研究に取り組んでいる。

## 引用文献

- 1) 蘭牟田真作ら(2008):園芸学研究 7(別2):491.
- 2) LAFORTUNE D. and M. BERAMIS (2005): Plant Dis. 89: 501 ~ 506.
- 3) MONMA S. et al. (1997): JARQ 31: 195 ~ 204.
- 4) 世見由香里ら(2010):園芸学研究 9: 287 ~ 292.
- 5) SUGITA T. et al. (2006): Breed. Sci. 56: 137 ~ 145.