

キュウリ黄化えそ病抵抗性遺伝資源の検索と育種の現状

農研機構 野菜花き研究部門 ^{すぎ}杉 ^{やま}山 ^{みつ}充 ^{ひろ}啓

はじめに

キュウリ黄化えそ病は、メロン黄化えそウイルス (*Melon yellow spot virus*, MYSV) を病原とするウイルス病で (KATO et al., 2000; 竹内ら, 2001), 日本国内では関東, 東海, 四国および九州地域 (奥田ら, 2009), 海外ではタイ, 台湾, 中国およびエクアドルで発生が報告されている (CHEN et al., 2008; CHIEMSOMBAT et al., 2008; GU et al., 2012; QUITO-AVILA et al., 2014)。MYSV はトスボウイルス属に属するウイルスで, ミナミキイロアザミウマ (*Thrips palmi*) によって永続伝搬される。MYSV に感染したキュウリ (*Cucumis sativus*) は葉にモザイク, 退緑斑点, 黄化およびえそ症状等を示し, 果実にも退緑斑点やモザイク症状を生じることから, これらの症状による収量と商品果率の低下が問題になる。本病の防除には媒介虫であるミナミキイロアザミウマを駆除することが最も重要であるが, 完全防除は難しいうえ, 近年薬剤に対して感受性の低下が問題となっていることから, それは容易ではない。キュウリ黄化えそ病抵抗性品種の育成が強く求められているにもかかわらず, いまだその育成には至っていない。本病は, 世界的にも日本での発生が初報告とされ, 海外から抵抗性品種・系統の導入ができなかった。そこで, 筆者はキュウリ黄化えそ病抵抗性遺伝資源の検索を行い, 新たに見いだした抵抗性素材を利用して抵抗性品種の育成に取り組んでいる。本稿では, キュウリ黄化えそ病に抵抗性を有する遺伝資源およびその遺伝資源を利用して育成された育種素材について紹介する。

I 抵抗性遺伝資源の検索

農研機構野菜花き研究部門が保有するキュウリ遺伝資源 772 点をキュウリ黄化えそ病抵抗性検定試験に用いた。キュウリ由来の MYSV 分離株 (MYSV-FuCu05P)

を子葉に汁液接種し, 接種葉におけるえそ斑点の出現程度と上位葉における病徴発現を調査した。その結果, ほとんどのキュウリ系統はキュウリ黄化えそ病に対して罹病性と判定され, 接種葉に明瞭なえそ斑点症状, 上位葉にモザイクおよび黄化症状が認められた。一方, 東南アジア原産の一部の系統は, 接種葉におけるえそ斑点の出現程度が軽く, 上位葉の病徴が軽微で, キュウリ黄化えそ病に対して中程度の抵抗性を有することが判明した。特にタイ原産の山胡瓜-1 およびキュウリ系統 27028930 (図-1) の病徴は軽微で, 抵抗性素材として有望であると考えられた。別の試験として 398 点のキュウリ遺伝資源にメロン (*Cucumis melo*) 由来の MYSV 分離株 (MYSV-S) を汁液接種したところ, インド, バングラデシュ等の南アジア, タイ, ミャンマー等の東南アジア原産の一部の系統が抵抗性を示した (SUGIYAMA et al., 2009 a)。なお, 今回の試験に用いたキュウリ由来の MYSV-FuCu05P は, 汁液接種においてメロンに全身感染しにくく, メロン由来の MYSV-S では, 全身感染しやすいなど, これら二つの分離株には病原性に違いが認められる。現在, 日本でキュウリに発生している MYSV は, 本試験で使用したキュウリ由来の分離株と同じあるいはそれに近縁の系統であると考えられる。



図-1 キュウリ系統 27028930 の果実

Screening for Resistance to Melon Yellow Spot Virus on Cucumber Germplasm Collection and Current Status of Breeding. By Mitsuhiro SUGIYAMA

(キーワード: メロン黄化えそウイルス, キュウリ黄化えそ病, 抵抗性育種)

II 抵抗性遺伝資源の特性

1 抵抗性の特性

接種温度が病徴発現や宿主植物内でのウイルスの移行に影響を及ぼすことはよく知られている。そこで、接種後の温度条件がキュウリ黄化えそ病抵抗性系統における病徴発現およびウイルスの移行に与える影響を調べるため、接種後の温度を20℃、25℃および30℃とした場合の全身感染株率および病徴発現を調査した。MYSV-Sを接種した罹病性品種‘霜知らず地這’では、全試験区で上位葉に病徴が観察された。一方、MYSV-S接種のキュウリ系統27028930および山胡瓜-1では、20℃区で上位葉に病徴は認められず、DAS-ELISA法によりウイルスは検出されなかった。しかし、接種温度が25℃、30℃と高くなるに従い、全身感染株率が高くなった(SUGIYAMA et al., 2009 b)。MYSV-FuCu05P接種では全試験区、全個体の上位葉に病徴が認められ、上位葉からウイルスが検出された。しかし、キュウリ系統27028930および山胡瓜-1の上位葉における病徴は、罹病性品種に比べ明らかに軽微であった。

2 抵抗性の遺伝様式

キュウリ系統2702890が有するキュウリ黄化えそ病抵抗性の遺伝様式の解明を行った。罹病性品種‘ときわ’と中程度抵抗性のキュウリ系統27028930との交雑F₂集団を用い、子葉にMYSV-FuCu05Pを接種し、接種77日後に上位葉における発病評点を調査した。この表現型データとF₂集団のDNAマーカーの遺伝子型データを用いてQTL(量的形質遺伝子座)解析を行った。その結果、上位葉の病徴発現に関与するQTLとして、キュウリ系統27028930由来の寄与率の高いQTLが、第1および第3染色体上にそれぞれ1箇所、寄与率の低いQTLが第7染色体上に1箇所検出された。また、‘ときわ’由来の寄与率の低いQTLが第4染色体上に1箇所検出された。以上の結果より、キュウリ系統27028930が有するキュウリ黄化えそ病抵抗性には二つの主要なQTLが関与し、そのほかにも効果の小さいQTLの関与が示唆された(SUGIYAMA et al., 2015)。

III ‘きゅうり中間母本農7号’の育成

1 育成経過

キュウリ黄化えそ病抵抗性素材が見つかったことから、キュウリ系統27028930を素材として中間母本の育成を開始した。中間母本とは、素材由来の有用形質を維持したまま、実用形質をある程度まで目的の作物に近づけた、新品種育成のために利用可能な系統である。キュウリ

系統27028930を‘ときわ’に交雑し、キュウリ黄化えそ病抵抗性について交雑後代の選抜・固定を繰り返して、F₅系統を得た。このF₅系統をF₁品種‘アンコール10’(株式会社ときわ研究所)に交雑し、抵抗性検定による交雑後代の選抜・固定を進め、育種素材のキュウリ系統27028930に比べ、単為結果性および果実形質が格段に向上した固定系統を得た。本固定系統はキュウリ系統27028930に比べウイルスの感染に起因する病徴が軽微で、抵抗性が高まり、減収率が罹病性品種に比べ大幅に抑制されることが明らかになったことから、本系統にキュウリ安濃4号の系統名を付し、2015年に‘きゅうり中間母本農7号’として品種登録出願した(品種登録出願番号第30332号、2015年7月16日)。

2 特性

(1) キュウリ黄化えそ病抵抗性

キュウリ黄化えそ病抵抗性検定は、2013年度の半促成および抑制栽培、2014年度の抑制栽培で実施した。子葉にMYSV-FuCu05Pを汁液接種し、接種後の植物をポリオレフィンフィルムハウス内に定植した。個体ごとに第5～14葉における発病評点(0:無病徴, 1:軽微なモザイクおよび退緑斑, 2:モザイクおよび退緑斑, 3:軽いえそおよび黄化(葉に占める黄化・えそ部分の面積～20%), 4:えそおよび黄化(同面積20～50%), 5:激しいえそおよび黄化(同面積50%以上), 6:枯死)を調査した。

発病株率は、2014年の抑制栽培を除きすべての品種・系統で100%だったが、発病評点は品種・系統間差が認められた。罹病性品種‘ときわ’および‘アンコール10’の発病評点は4.8～5.6と高く、激しい黄化症状が認められた。また、中程度抵抗性のキュウリ系統27028930の発病評点は2.7～3.8でやや高く、多くの葉で軽い黄化症状が認められた。一方、‘きゅうり中間母本農7号’の発病評点は1.3～1.6で最も低く、病徴は非常に軽微であった(杉山ら, 2016; 図-2)。

(2) 減収率の評価

‘きゅうり中間母本農7号’が有する抵抗性は中程度であるため、MYSVの感染による収量の低下が懸念された。そこで、‘きゅうり中間母本農7号’と罹病性品種とのMYSV感染による減収率を比較した。減収率の評価は、2010年度に促成栽培(自根栽培)、2011年度に抑制栽培(接木栽培)で実施した。2011年度の抑制栽培では台木品種として‘ゆうゆう一輝(黒タイプ)’(株式会社埼玉原種育成会)を用いた。MYSV-FuCu05Pを接種した接種区とリン酸緩衝液のみを擦り付けた無接種区を設定し、接種区および無接種区の収量から減収率を算出した。ま



図-2 MYSVを接種したキュウリ植物
左は‘きゅうり中間母本農7号’、右は罹病性品種‘Vアーチ’。

表-1 ウイルス接種区と無接種区における収量性および接種区におけるモザイク果発生率

品種・系統名	試験区	促成栽培			抑制栽培		
		全収穫 果実数 (本/株)	全収穫 果実重 (g/株)	モザイク果 発生率 (%)	全収穫 果実数 (本/株)	全収穫 果実重 (g/株)	モザイク果 発生率 (%)
きゅうり中間母本農7号	接種区	13.1	1,360	0.0	16.5	1,485	0.0
	無接種区	15.4	1,545		21.4	1,890	
	接種区/無接種区	0.85 a ¹⁾	0.88 a		0.77 a	0.79 a	
	t検定 ²⁾	**	**		**	*	
ときわ	接種区	12.3	1,231	24.0	11.3	1,021	53.1
	無接種区	23.8	2,494		19.5	1,963	
	接種区/無接種区	0.51 b	0.49 b		0.58 ab	0.52 b	
	t検定	**	**		*	**	
アンコール10	接種区	10.3	1,027	40.5	13.5	1,377	76.2
	無接種区	30.4	3,180		27.9	2,801	
	接種区/無接種区	0.34 c	0.32 c		0.48 b	0.49 b	
	t検定	**	**		**	**	

¹⁾ *および**はt検定によりそれぞれ1%および5%水準で、接種区と無接種区の間有意差があることを示し、nsは有意差がないことを示す (n = 4)。

²⁾ 同一のアルファベットは、Tukeyの多重検定により5%水準で、品種・系統間に有意差がないことを示す (n = 4) (杉山ら, 2016)。

た、接種区の第15本葉におけるウイルスの蓄積量をDAS-ELISA法により測定した。ウイルス接種区における‘きゅうり中間母本農7号’の収量(全収穫果実重)は、対無接種区比で79~88%になり、MYSVの感染に起因するモザイク果は認められなかった(表-1)。一方、罹病性品種の収量は、対無接種区比で32~52%となり、モザイク果の発生が認められた。‘きゅうり中間母本農7号’の第15本葉におけるウイルスの蓄積量は、罹病性品種に比べ有意に低い値となった(杉山ら, 2016)。以上の結果より、‘きゅうり中間母本農7号’は、MYSVに感染

しても収量の低下は1~2割程度であり、本系統が有する中程度抵抗性は実用的に利用可能であると考えられた。

(3) 一般特性

‘きゅうり中間母本農7号’の主枝および葉柄は、‘ときわ’および‘アンコール10’に比べ短い。葉は緑色でやや薄く、葉身の長さは‘ときわ’および‘アンコール10’と同程度で、側枝の発生率は高い。主枝上に雄花節と雌花節が混在する混性型であるが、主枝の雌花着生率は低く、側枝型の着果習性を示す。単為結果性は‘ときわ’および‘アンコール10’と同程度で、キュウリ系統27028930

よりも高い。

果実の長さは‘ときわ’および‘アンコール 10’と同程度で、果肉は厚く、胎座は小さい。果皮硬度は‘ときわ’および‘アンコール 10’と同程度で、果肉はやや硬い。果実基部に首（肩こけ）が認められ、果皮は濃緑色で斑点はなく、イボ・トゲが認められる（図-3）。自根栽培におけるブルーム（果皮表面に発生する白い粉状の物質）



図-3 ‘アンコール 10’ (左), ‘ときわ’ (中央), ‘きゅうり中間母本農 7号’ (右) の収穫果

の程度は‘ときわ’および‘アンコール 10’に比べ強い。

3 DNA マーカー選抜

キュウリ黄化えそ病抵抗性を確実に判定するためには、接種後2か月程度を要し、早期判定することは難しい。また、抵抗性の判定のためには専用の検定圃場あるいは施設が必要である。このような問題を解決するためにも抵抗性に連鎖したDNAマーカーによる早期選抜法は極めて有効である。キュウリ系統27028930が有するキュウリ黄化えそ病抵抗性のQTL解析結果を基に第1および第3染色体のSSRマーカーについて、罹病性品種‘きゅうり中間母本農4号’と‘きゅうり中間母本農7号’とのF₂集団の遺伝子型を決定し、遺伝子型別の発病評点を求めたところ、二つのマーカーの遺伝子型がともに‘きゅうり中間母本農7号’ホモ接合型の集団の発病評点が最も低かった（表-2）。これら二つのSSRマーカーを用いることで、‘きゅうり中間母本農7号’と罹病性品種との交雑後代から抵抗性個体を選抜できることが明らかになった。ただ、SSR13109のマーカー遺伝子型の違いのみでは平均発病評点に有意差が認められなかったことから、選抜マーカーとして第3染色体のSSR31430のみを用いても‘きゅうり中間母本農7号’と罹病性品種・系統の交雑後代から抵抗性個体を選抜できると考えられた。そこで次に、選抜効果が高かった第3染色体のQTL領域について、3種類の多型マーカー（CSN251, SSR07225, CSN161）を選定し、各マーカーの選抜効果

表-2 マーカー遺伝子型別に分類したF₂（‘きゅうり中間母本農4号’×‘きゅうり中間母本農7号’）個体の発病評点

品種・系統名	個体数	マーカー遺伝子型 ²⁾		平均発病評点 ³⁾
		SSR13109	SSR31430	
きゅうり中間母本農7号 (A)	10	A	A	1.6 ± 0.1
きゅうり中間母本農4号 (N)	10	B	B	5.8 ± 0.2
F ₁ (N × A)	10	H	H	3.3 ± 0.2
F ₂ (N × A)	5	A	A	2.5 ± 0.7 e ^{x)}
	7	A	B	3.8 ± 0.4 bd
	12	A	H	3.5 ± 0.5 cd
	5	B	A	3.1 ± 0.5 de
	5	B	B	4.7 ± 0.4 ab
	13	B	H	3.9 ± 0.7 bc
	11	H	A	3.2 ± 0.5 de
	15	H	B	4.8 ± 0.1 a
20	H	H	4.1 ± 0.6 bc	

²⁾ マーカー遺伝子型：A きゅうり中間母本農7号型ホモ接合，H ヘテロ接合，B きゅうり中間母本農4号型ホモ接合。

³⁾ 平均値 ± 標準偏差。

^{x)} 同一のアルファベットは、Tukeyの多重検定により5%水準で有意差がないことを示す（杉山ら，2016）。

を検討した。93 個体の F₂ を、3 種類のマーカー遺伝子型 (A 型 (‘きゅうり中間母本農 7 号’ホモ接合), B 型 (‘きゅうり中間母本農 4 号’ホモ接合), H 型 (ヘテロ接合)) に分類し、それぞれの集団について平均発病評点を求めたところ、いずれのマーカーにおいても、A 型の集団の平均発病評点が B 型の集団よりも低い値を示した。このことから、これらのマーカーは選抜マーカーとして利用可能であると考えられた。

IV 今後の課題

実際の圃場では、MYSV は接触伝染しにくく、ミナミキイロアザミウマによって永続伝搬される。‘きゅうり中間母本農 7 号’が有する黄化えそ病抵抗性は中程度であるため、植物体内でウイルスの増殖が認められる。よって、MYSV に感染した‘きゅうり中間母本農 7 号’の植物体は、ミナミキイロアザミウマによるウイルスの獲得源になり得る。本研究では、ウイルスの汁液接種により抵抗性を判定したが、MYSV を保毒したミナミキイロアザミウマを用いた接種試験においても、‘きゅうり中間母本農 7 号’は中程度の抵抗性を示すことが確認されている。また、MYSV に感染した‘きゅうり中間母本農 7 号’植物では、罹病性品種に比べ、ウイルス蓄積量が少なかったことから、この抵抗性の利用によって、ミナミキイロアザミウマの感染植物からのウイルス獲得率低下が期待される。これについてはさらなる研究による確認が必要であろう。なお、‘きゅうり中間母本農 7 号’が

有する抵抗性を導入して育成された品種を栽培する場合、媒介虫であるミナミキイロアザミウマの防除も当然必要となり、キュウリ黄化えそ病抵抗性品種は、総合的害虫管理 (IPM) の一つとしての利用が望まれる。また、完全な抵抗性ではなく中程度の抵抗性であることを生産者が理解する必要がある。

おわりに

キュウリ黄化えそ病の防除手段として最も有効である抵抗性品種の導入が切望されてきたが、ようやく実用的な抵抗性品種の育成が可能となりつつある。今回の研究でキュウリ黄化えそ病に対して中程度の抵抗性を有するキュウリ遺伝資源は見いだされたが、新たな遺伝資源の収集と抵抗性検定の継続により、高度な抵抗性素材が見いだされ、より強いキュウリ黄化えそ病抵抗性品種が育成されることを期待したい。

引用文献

- 1) CHEN, T. C. et al. (2008): *Plant Pathol.* **57**: 765.
- 2) CHIEMSOBAT, et al. (2008): *Arch. Virol.* **153**: 571 ~ 577.
- 3) Gu, et al. (2012): *New Dis. Rep.* **25**: 7.
- 4) KATO, et al. (2000): *Phytopathology* **90**: 422 ~ 426.
- 5) 奥田 充ら (2009): *植物防疫* **63**: 279 ~ 283.
- 6) QUITO-AVILA, et al. (2014): *Eur. J. Plant Pathol.* **140**: 193 ~ 197.
- 7) SUGYAMA, M. et al. (2009 a): *Plant Breed.* **128**: 696 ~ 700.
- 8) ——— et al. (2009 b): *J. Gen. Plant Pathol.* **75**: 381 ~ 387.
- 9) ——— et al. (2015): *Euphytica* **205**: 615 ~ 625.
- 10) 杉山充啓ら (2016): *野菜茶研報* **15**: 1 ~ 10.
- 11) 竹内繁治ら (2001): *日植病報* **67**: 46 ~ 51.

農林水産省プレスリリース (28.7.12 ~ 8.15)

農林水産省プレスリリースから、病害虫関連の情報を紹介します。

<http://www.maff.go.jp/j/press/syuan> の後にそれぞれ該当のアドレスを追加してご覧下さい。

◆ 「平成 28 年度病害虫発生予報第 4 号」の発表について
(7/12) /syokubo/160712.htm

◆ 「平成 28 年度病害虫発生予報第 5 号 (水稲特集)」の発表について
(7/26) /syokubo/160726.html