

ジャガイモシストセンチュウ抵抗性遺伝子 *Hero* を持つトマトとその特徴

農業・食品産業技術総合研究機構中央農業研究センター ^{うえ}植 ^{はら}原 ^{たけ}健 ^と人

はじめに

ジャガイモシストセンチュウ (*Globodera rostochiensis*) は、ジャガイモ (*Solanum tuberosum*) に大幅な減収を引き起こす重要線虫である。国内では1972年に北海道後志管内真狩村で発生が確認されて以来 (YAMADA et al., 1972), 年々発生地が拡大している。本線虫はジャガイモを主要な寄主とするが、同じナス属の作物であるトマト (*Solanum lycopersicum*) にも寄生して被害を及ぼすことが国内外で報告されている (HESLING and ELLIS, 1972; 山田, 1987; 北海道病害虫防除所, 1997)。トマトにおける被害はジャガイモに比較すればごくわずかであるが、本線虫は植物防疫法で特に指定されている重要線虫であり、発生地域が年々広がっている (奈良部, 2009)。今後、トマトへの被害、さらにはトマトで増殖した本線虫が、ジャガイモへの汚染源になる可能性も否定できない。

有害線虫全般の防除において、経済的かつ効果的な防除法は、それぞれの線虫に対する抵抗性品種を適切に利用することである。ジャガイモの場合も、国内外で野生種や導入品種等から交配により抵抗性遺伝子を導入した抵抗性品種が育成されている。抵抗性品種は線虫害を軽減するばかりでなく、土壤中の線虫密度を下げる効果も期待できる (串田・百田, 2005)。これは、抵抗性品種であってもジャガイモシストセンチュウが根に侵入するが、抵抗性品種の根の中の線虫は成長ができずに死滅するケースが多いため、土壤中の線虫密度が減少する結果となるのである。なお、ジャガイモシストセンチュウは非寄主作物を栽培した場合では、卵からのふ化が促進されず、シスト内にとどまったまま10数年に渡って土壤中で生存し続ける。ジャガイモシストセンチュウとジャガイモについての関係は、感受性品種および抵抗性品種との関係について非常に多くの知見が蓄積されており、ジャガイモシストセンチュウ抵抗性遺伝子である *H1* 遺伝子が国内の育種の現場で有効に利用され、実際に多くの優良なジャガイモシストセンチュウ抵抗性品種が育成さ

れている。そして、それらの品種を栽培した場合のジャガイモシストセンチュウの土壤中の密度低減に関しても多くの研究成果が報告されている (INAGAKI, 1978; 山田, 1987)。しかしながら、トマトに関しては、その寄生程度や抵抗性品種の知見はそれほど多くない。

I ジャガイモシストセンチュウ抵抗性トマト

かつて国内では山田 (1987) により、国内育成のトマト29品種が供試され、ジャガイモシストセンチュウの接種試験が行われたが、トマト栽培品種のなかに抵抗性品種は見いだされてはなかった。また、山田 (1987) により、感受性トマト品種への接種試験において、トマトの生育調査も行われており、中密度以上 (11~99卵/乾燥土壌1g) で明らかにトマトの生育へ影響が認められて、生育が抑制されることが報告されている。

一方、海外ではトマト栽培種に抵抗性系統の報告がある (ELLIS and SMITH, 1971)。その抵抗性遺伝子は *Hero* 遺伝子と名づけられている。この抵抗性遺伝子は、トマト野生種である *S. pimpinellifolium* から交配により栽培種へ導入されている。*S. pimpinellifolium* の果実のサイズは直径1cmほどで小さな果実であるが、成熟すると赤くなり、糖度も高いことで知られる。マイクロトマトとして、市販されている。

国内のミニトマト品種および台木品種については、ジャガイモシストセンチュウの接種試験がほとんど行われていない。そこで、複数のミニトマト品種と台木トマト品種への接種試験を行った。その結果、ミニトマト品種を中心に有意にシスト形成数が少ない、すなわち次世代があまり増えない品種が複数あることが明らかとなった (植原ら, 2008)。線虫に対する抵抗性品種とは、その植物種が通常は線虫の寄主であり、線虫が増殖するのに対して、その植物種の特定の品種においては線虫がほとんど増殖しないか、増殖が著しく劣る場合に、その品種を抵抗性と呼ぶ。供試された品種のうち抵抗性と考えられる品種は、複数のミニトマト品種と一つの台木品種であり (表-1)、固定品種である‘シュガーランプ’、台木品種の‘ドクターK’等が含まれていた。本試験では、ミニトマトでもジャガイモシストセンチュウを増殖する品種も見つかった。また、トマトの抵抗性品種は、完全

Characterization of the Tomatoes Having Potato Cyst Nematode Resistant Gene *Hero*. By Taketo UEHARA

(キーワード: ジャガイモシストセンチュウ, トマト, 抵抗性)

表-1 ミニトマトおよび台木品種におけるジャガイモシストセンチュウの寄生程度

品種	用途	形成シスト数 ^a /乾土 50 g	
マグネット	台木	193.0 ± 7.5	} 感受性
ガードナー	台木	182.4 ± 18.7	
影武者	台木	175.1 ± 68.4	
バルカン	台木	170.7 ± 14.0	
ブロック	台木	168.0 ± 33.2	
強力米寿		160.3 ± 30.3	
プチ	ミニトマト	149.9 ± 27.2	
キャロル7	ミニトマト	98.8 ± 21.5	
<hr/>			
イエローキャロル	ミニトマト	1.9 ± 0.8	} 抵抗性
ピコ	ミニトマト	1.3 ± 0.9	
ドクター K	台木	1.2 ± 0.8	
ミニキャロル	ミニトマト	1.1 ± 1.1	
キャロル 10	ミニトマト	1.0 ± 0.5	
シュガーランプ	ミニトマト	1.0 ± 1.0	
オレンジキャロル	ミニトマト	0.7 ± 0.6	
チェルシーミニ	ミニトマト	0.6 ± 0.5	
キャロルクイーン	ミニトマト	0.2 ± 0.3	

^a 平均値 ± 標準偏差.

に次世代が育たないわけではなく、ごく少数であるが次世代のシストが形成された。

II 抵抗性遺伝子マーカー

ジャガイモシストセンチュウ抵抗性トマト品種が見だされてきたが、どのような遺伝的因子で抵抗性になっているか興味が持たれたので、抵抗性を示した品種のうち F1 品種の一つである台木品種の‘ドクター K’を選択して、自殖し採種を試みた。その種子から苗を作り、再びジャガイモシストセンチュウの接種試験を行った。3 か月栽培後、次世代のシストを分離したところ、明らかにシスト形成が多く、線虫が増殖する感受性個体と、次世代の増殖が著しく劣る抵抗性とと考えられる個体に分離した。分離比が 1 : 3 と推定できるため、単一優性遺伝子による抵抗性であると推測される結果となった (UEHARA et al., 2010)。トマトのジャガイモシストセンチュウ抵抗性遺伝子は前述の *Hero* 遺伝子以外は報告されていない。そこで、この抵抗性は、*Hero* 遺伝子に起因する抵抗性である可能性が高いのではと考えられた。すでに海外で、*Hero* 遺伝子の単離が報告されている (ERNST et al., 2002)。*Hero* 遺伝子は、病害の抵抗性遺伝子として典型的な LRR 型の抵抗性遺伝子である。確認するために文献情報よりプライマーを作製して PCR 増幅産物の塩基配列を調べたところ、やはり国内のジャガイモシ

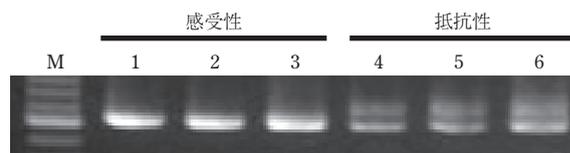


図-1 *Hero* 遺伝子判定マーカー (CABRERA POCH et al., 2006) による PCR 産物

M : 分子量マーカー, 感受性 : 強力米寿, 抵抗性 : シュガーランプ.

ストセンチュウ抵抗性トマトは、*Hero* 遺伝子を保持していることが明らかとなった (UEHARA et al., 2010)。また、海外では、*Hero* 遺伝子を持つかどうかを判定する DNA マーカーが 1 例報告されており (CABRERA POCH et al., 2006)、それを国内の品種に適応してみたところ、報告に記述されている PCR 産物と同様の PCR 産物が得られた。その DNA マーカーは、抵抗性では 2 本の極めて近接するバンドが観察され、感受性は 1 本のバンドが検出できるというものであり、抵抗性の 2 本のバンドは、アガロースゲル電気泳動で隣接するため、泳動がスミアーの状態の場合は、判定がはっきりしないこともあった (図-1)。そこで、新たにプライマーを作製して、PCR した後に制限酵素でそのバンドを切断することで、明確に抵抗性と感受性を分ける PCR-RFLP 法による判定法を開発した (UEHARA et al., 2015) (図-2)。ジャガイモシ

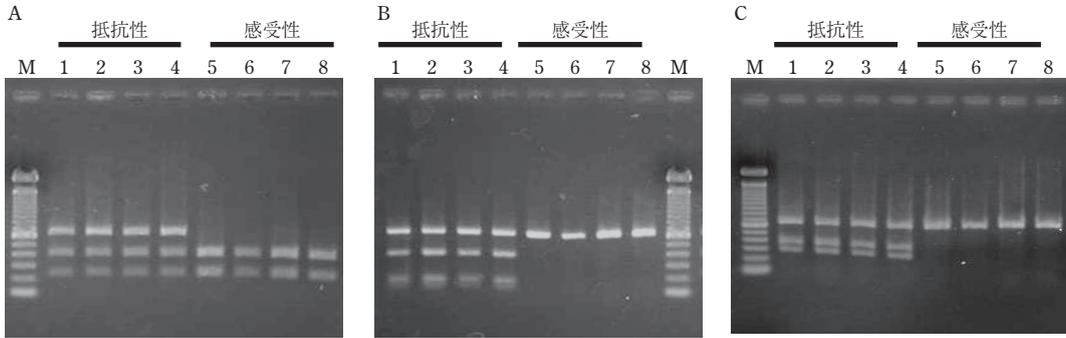


図-2 PCR-RFLP法 (UEHARA et al., 2015) による抵抗性と感受性の判別

1: シュガーランプ, 2: ミニキャロル, 3: イエローキャロル, 4: ドクター K, 5: 桃太郎, 6: マネーメーカー, 7: 強力米寿, 8: 影武者, M: 100 bp 分子量マーカー。
使用制限酵素, A: *AfaI*, B: *AluI*, C: *TaqI*。

ストセンチウは、特に植物防疫法で指定されている重要な線虫であり、取り扱いに注意を要する。そのために、生きた線虫の接種試験でなく、遺伝子マーカーなどで簡単に抵抗性の判別が行えれば、生きた線虫を扱う操作も最小限に限ることができ、さらに、抵抗性判定に要する時間も、接種試験では2~3か月要するところを、DNAマーカーでは実生の一部からDNAを抽出して、短時間で抵抗性の判定ができる利点もある。今のところ、接種試験とDNAマーカーによる判定は、完全に一致している (UEHARA et al., 2015)。また、*Hero* 遺伝子は、ジャガイモストセンチウのすべてのパソタイプに抵抗性を示し、ジャガイモシロストセンチウ (*G. pallida*) (SOBZAC et al., 2005) のすべてのパソタイプにもある程度抵抗性を示すと報告されている。

III 抵抗性品種の土壤中の線虫密度低減効果

ジャガイモストセンチウ抵抗性のジャガイモを栽培することにより、土壤中の線虫密度が大幅に減少することは明らかにされており、線虫対策の一つとして非常に有効な方法である。しかし、抵抗性のトマトを栽培した場合は、土壤中の線虫密度が減少するかどうか、その効果は明らかになっていなかった。そこで、高密度の現地土壤をワグネルポットに詰めて、抵抗性トマト品種を栽培し、その効果を確認することを試みた。供試した抵抗性品種は‘ドクター K’と‘シュガーランプ’である。現地土壤は、初期密度 684 卵/乾燥土壌 1g の土壤を用いたが、3か月後、何も栽培しなかった場合は約3割減少した。感受性トマト‘強力米寿’を栽培した土壤中の線虫はさらに密度が高まった。一方、抵抗性品種を栽培したあとの土壤では、‘ドクター K’で最終密度が24.2卵、‘シュガーランプ’では20.4卵となり、大幅な減少を示した

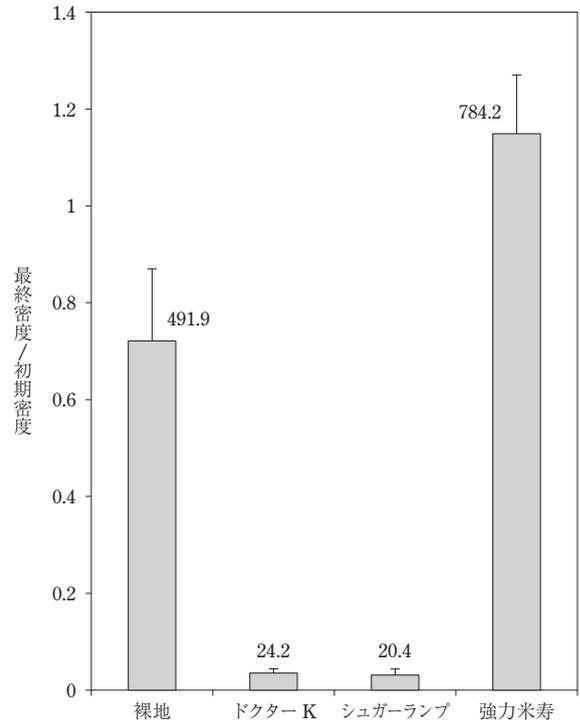


図-3 トマト品種を栽培した後の線虫密度 (乾燥土壌 1g 当たりの卵数) の増減 (UEHARA et al., 2011)

バーの上の数字は、乾燥土壌 1g 当たりの卵数、初期密度は 684 卵/乾燥土壌 1g。

エラーバーは標準誤差を示す。

(図-3) (UEHARA et al., 2011)。さらに、実際のジャガイモストセンチウ汚染農家圃場に抵抗性トマト品種を栽培した結果でも、線虫密度は 80~90% 減少した (伊藤ら, 2014)。抵抗性のトマトを栽培した場合も一般的な非寄主作物の輪作などによる密度減少と比較して、極

めて高い積極的な線虫密度低減効果があると考えられる。ジャガイモシストセンチュウ汚染地帯で、トマト栽培する場合、特にミニトマト栽培の場合は、複数の優良なジャガイモシストセンチュウ抵抗性のミニトマト品種が確認されており、それらを栽培することがジャガイモシストセンチュウ対策として効果が高いと考えられる。大王のトマトでも、台木として‘ドクター K’が使用できるところではジャガイモシストセンチュウに対する効果が得られると判断される。

IV 抵抗性機構の解明に向けて

抵抗性トマトとジャガイモシストセンチュウを用いて線虫抵抗性の分子機構の解析を試みた (UEHARA et al., 2010)。抵抗性のメカニズムとしては、シストセンチュウが寄主植物に形成する多核体細胞周辺が、過敏反応により細胞死などを起こすためだと推測されている。線虫抵抗性品種と感受性品種それぞれにジャガイモシストセンチュウを接種して、接種3日目と7日目の反応をトマトのマイクロアレイを用いて解析することにした。根に接種して3日目は、多核体細胞の誘導時期であり、7日目は、抵抗性品種において誘導された多核体細胞が崩壊する時期であると推測される。マイクロアレイの結果は、線虫接種3日目で特に植物の抵抗性反応が強く誘導されているようであり、抵抗性品種では、病原体の感染過程で宿主植物が特異的に発現する様々なPRタンパク質遺伝子とフェニルアラニンアンモニリアアーゼや *Myb* 遺伝子の発現が確認された。しかし、感受性品種では逆に線虫接種により、それらの遺伝子の発現は抑制されていた。

次に様々なPRタンパク質遺伝子の発現をリアルタイムPCRにより調査した。その結果、*PR1a* が複数の抵抗性品種で特徴的に強く誘導されることが明らかになった。トマトは植物ホルモンや病害虫に対する反応が解析されており、サリチル酸で *PR1a* などが、ジャスモン酸で *PR6* などが誘導されることが知られている。*Hero* 遺伝子による抵抗性反応でもサリチル酸が強いかかわっていることが示唆された。

抵抗性品種へ線虫が侵入・感染した場合、線虫が植物体に侵入し多核体細胞を形成するなどして寄生を成立させるための植物体内での反応がある。また、抵抗性遺伝子がない場合でも線虫が侵入することによる植物の防御反応が起こる。さらに、抵抗性遺伝子による防御反応が植物体内で起こり、これらの反応が同時に植物体内で起こるので、抵抗性遺伝子による線虫抵抗性機構の解析を複雑にしているのではないかと推測している。現在、世

界の研究者がその解明に向けて取り組んでいるので、近い将来、線虫と植物の相互関係が、明確に解明されることであろう。

おわりに

国内のトマト品種にもジャガイモシストセンチュウ抵抗性があること、そして、その遺伝子が単一優性の *Hero* 遺伝子であることが明らかとなった。さらに、それら抵抗性トマト品種の栽培が、土壌中のジャガイモシストセンチュウの密度低減効果を示すことを確認した。簡便なDNAマーカーも作製したので、どの品種が *Hero* 遺伝子を保持しているかを接種試験なしで比較的短期間に判定でき、品種選択の面でも活用できる。もちろん、育種にも利用可能と考えられる。今後、トマトの台木品種などで、ジャガイモシストセンチュウ抵抗性かつ他の重要病害にも抵抗性の品種などが育成されれば、ジャガイモシストセンチュウ発生地では利用価値は非常に高い。また、加工用品種に導入するなどの応用も考えられるかもしれない。*Hero* 遺伝子はジャガイモシストセンチュウのすべてのパソタイプに抵抗性を示し、ジャガイモシストセンチュウのすべてのパソタイプにもある程度の効果を示すと報告されている (SOBZAC et al., 2005)。さらにタバコシストセンチュウ (*G. tabacum*) にも強い抵抗性を示すこともわかってきた (植原, 未発表)。今まで育種の場面で特に注目されていない *Hero* 遺伝子ではあるが、*Hero* 遺伝子はナス属に寄生する *Globodera* 属のシストセンチュウに広く抵抗性を発揮する有益な遺伝子であるので、今後、活用されることを期待したい。

最後に、線虫の防除手段は、一つの防除法に頼り切るのではなく、抵抗性品種、化学農薬、対抗植物、輪作等を組み合わせる持続可能な管理を行うことが重要である。

引用文献

- 1) CABRERA POCH, H. L. et al. (2006): *Plant Cell Environ.* **29**: 1372 ~ 1378.
- 2) ELLIS, P. R. and J. W. M. SMITH (1971): *Euphytica* **20**: 93 ~ 101.
- 3) ERNST, K. et al. (2002): *Plant J.* **31**: 127 ~ 136.
- 4) HESLING, J. J. and P. R. ELLIS (1972): *Ann. Appl. Biol.* **71**: 251 ~ 261.
- 5) 北海道病害虫防除所 (1997): *北農* **64**: 199 ~ 210.
- 6) INAGAKI, H. (1978): *Jpn. J. Nematol.* **8**: 11 ~ 15.
- 7) 伊藤賢治ら (2014): *農林水産技術会議事務局研究成果*. **503**: 77 ~ 80.
- 8) 串田篤彦・百田洋二 (2005): *日線誌* **35**(2): 87 ~ 90.
- 9) 奈良部 孝 (2009): *でん粉情報* **21**: 4 ~ 8.
- 10) SOBZAC, M. et al. (2005): *Mol. Plant-Microbe Interact.* **18**: 158 ~ 168.
- 11) UEHARA, T. et al. (2010): *Plant Cell Physiol.* **51**: 1524 ~ 1536.
- 12) ——— et al. (2011): *Nematol. Res.* **41**: 41 ~ 44.
- 13) ——— et al. (2015): *ibid.* **45**: 115 ~ 120.
- 14) 植原健人ら (2008): *応動昆* **52**: 146 ~ 148.
- 15) YAMADA, E. et al. (1972): *Jpn. J. Nematol.* **2**: 12 ~ 15.
- 16) 山田英一 (1987): *北海道立農業試験場報告* **61**: 1 ~ 98.