

キク白さび病抵抗性小ギク品種の探索と抵抗性の遺伝様式

虎太有里・芳田侃大*・辻本直樹

Screening and Resistance Inheritance of
Chrysanthemum White Rust Resistant Cultivars

TORATA Yuri, YOSHIDA Kandai and TSUJIMOTO Naoki

Key Words: breeding, dominant resistance gene, *Puccinia horiana*, race

キーワード：育種，顕性抵抗性遺伝子，キク白さび病菌，レース

奈良県では、5～12月の長期間にわたり小ギク切り花が出荷されており、その出荷量は年間4,510万本で全国第2位、栽培面積は98haで全国第4位である（農林水産省、2020）。小ギクの生産は県北部の生駒郡平群町に集中しているが、県中部の葛城市でも作付が増えており、いずれの産地においても、近年、キク白さび病菌 (*Puccinia horiana*) によるキク白さび病（以下、白さび病とする）の多発が問題となっている。本病害の防除には、主に化学薬剤が用いられるが、薬剤抵抗性の発達により発病の抑制が困難となっており（De Backer, 2012；杉村ら, 1998；内田, 1983；山口, 1981），薬剤に依存しない防除技術が求められている。

一方、白さび病の発病程度には品種間差があり、全く症状を示さない抵抗性品種が存在することが知られている（De Backer ら, 2011；De Jong・Rademaker, 1986；杉村ら, 1998；山口, 1981）。これらの抵抗性品種は多くの場合、顕性抵抗性遺伝子を1つ持つことが示唆されており（De Jong・Rademaker, 1986；岩井ら, 2009），交配後代から抵抗性系統が得られることが明らかになっている（De Backer ら, 2011；De Jong・Rademaker, 1986；岩井ら, 2009；山口, 1981）。これらの知見から、抵抗性母本があれば、交配育種による抵抗性品種の作出が可能と考えられるが、白さび病菌には多くのレースが存在することが知られており（板橋ら, 2011；山口, 1981），作出にあたっては複数のレースに対して広範に抵抗性を示す品種が望ましい。

本試験では、白さび病抵抗性育種に取り組むにあたり、交配親として用いる抵抗性品種を選抜するため、複数の菌株を県内外から収集し、接種試験による在来品種の抵抗性検定を行った。また、そのなかで複数の菌株に抵抗性を示した1品種について、抵抗性

の遺伝様式を調べるため、罹病性品種との交配で得られたF₁後代を用い、抵抗性実生の出現割合を調査した。

材料および方法

実験1. 白さび病抵抗性品種の探索

抵抗性の検定は、病葉つり下げ検定法（山口, 1981）およびDe Backer（2012）に準じた接種試験により行った。接種には、県内2産地で採取した5菌株（平群A, 平群B, 平群C, 葛城Dおよび葛城E）と、県外で採取された2菌株（TSおよびTO2, それぞれ茨城県つくば市および富山県南砺市にて採取, Sumitomoら, 2022）の計7菌株を用いた。各菌株は、それぞれ罹病性品種‘春日の鈴音’もしくは‘ざくろ’に接種して単一病斑を形成させ、試験開始まで適宜、継代増殖を行った。県内栽培品種のうち、最需要期の7～8月に開花する小ギク30品種（第1表）を検定対象とし、罹病性品種の‘モゼロマネス’（スプレーギク, 原田ら, 2017）と‘ざくろ’をポジティブコントロールに用いた。接種には、挿し芽3週間後に7.5cmポリポットに鉢上げした苗を用い、各品種1ポットをアクリルチャンバー（幅48cm×高さ48cm×奥行60cm）に入れ、苗の上部に展開した4mm目合いのネット上に、葉全体に冬胞子堆を形成した罹病葉12枚を均等に配置した。ハンドスプレーを用いて罹病葉、苗およびチャンバー側面を蒸留水で十分に濡らし、密封して室温18～20℃、暗黒条件下に24時間置いて感染を促した後、苗を取り出して人工気象器内（20℃、14時間日長、80%RH）で管理した。接種3週間後に目視、あるいは明確に判断できない場合には実体顕微鏡下で冬胞子堆の有無を確認した。平群A株と葛

第1表 奈良県内の栽培品種の白さび病菌に対する感受性

開花時期	花色	品種 ^Y	菌株別の感受性 ^Z					TS	TO2	
			平群			葛城				
			A	B	C	D	E			
秋 9月	ピンク 赤	モゼロマネス	S	S	S	S	S	S	S	
		ざくろ	S	S	S	S	S	R	S	
		7R1	S	S	S	S	S	S	S	
		7R2	R	S	R	S	S	S	S	
		7R3	S	S	S	S	S	S	S	
		7R4	S	S	S	S	S	S	S	
		7R5	S	S	R	S	S	R	S	
	7月	赤	7R6	R	S	R	S	S	R	R
			7R7	S	S	S	S	S	R	S
			春日の鈴音	S	S	S	S	S	S	S
		白	7W1	S	S	S	S	S	S	S
			7W2	S	S	S	S	S	S	S
			7W3	S	S	S	S	S	S	S
			7Y1	R	R	R	S	S	R	S
黄	7Y2	S	R	R	S	R	R	S		
	7Y3	S	S	S	S	S	S	S		
	8月	赤	8R1	R	S	R	R	S	S	R
8R2			S	S	S	S	S	S	S	
春日の紅			S	S	S	S	S	S	S	
8R3			S	S	S	S	S	S	S	
8R4			S	S	S	S	S	S	S	
8R5		S	S	S	S	S	S	S		
白		8W1	S	S	S	S	S	S	S	
		8W2	S	S	S	S	S	S	S	
		8W3	S	S	S	S	S	S	S	
		8W4	S	S	S	S	S	S	S	
	8W5	S	S	S	S	S	S	S		
黄	春日の星	S	S	S	S	S	S	S		
	8Y1	S	S	S	S	S	S	S		
	8Y2	S	S	S	S	S	S	S		
	8Y3	R	R	R	R	R	R	R		
8Y4	S	S	S	S	S	S	S			

^Z S: 罹病性, R: 抵抗性

^Y ‘モゼロマネス’ (鹿児島県育成品種) と ‘ざくろ’ は罹病性のポジティブコントロールとして用いた

城 D 株を除く 5 菌株については、各品種 1 株×1 反復で一次スクリーニングを行い、冬胞子堆が確認できなかった品種に対し、1 株×3 反復で二次スクリーニングを行った。3 反復の全てで冬胞子堆が確認できなかった品種を抵抗性、それ以外を罹病性と判定した。平群 A 株と葛城 D 株については、発病程度の品種間差をみるため、全品種について 1 株×3 反復で接種を行い、上位 7~11 枚目の完全展開葉、計 5 枚について、発病程度を第 1 図の基準によって判別し、発病指数から次式によって発病度を算出した。

$$\text{発病度} = \left\{ \left(\sum (\text{指数別発病葉数} \times \text{指数}) \right) / 25 \right\} \times 100$$

実験 2. 白さび病抵抗性の遺伝様式

2016 年 2 月 12 日に罹病性品種 ‘春日の紅’ を種子親、抵抗性品種 ‘8Y3’ を花粉親とした交配を行い、

得られた種子 64 粒を 2016 年 3 月 12 日に播種した。2016 年 4 月 4 日に、発芽した苗から無作為に 40 株を選び、7.5 cm ポリポットに移植した。移植後は、無加温ハウスで管理した。2019 年 10 月 20 日に生育不良株および枯死株を除いた 21 株を台刈りし、12 cm プラスチック鉢に植え替えた。鉢替え後は 18℃加温、暗期中断 5 時間の条件下で管理し、伸長したシュートを採取して長さ 5~7 cm に調整後、水道水を 50 ml 入れた遠沈管に生けて接種試験に用いた。接種菌株には平群 C 株と葛城 D 株を用い、実験 1 と同様の方法でそれぞれ 2019 年 11 月 23 日と 12 月 10 日に接種を行い (1 シュート×3 反復)、3 週間後に各実生の抵抗性を評価した。

結果および考察

1. 白さび病抵抗性品種の探索

実験 1 で検定した 30 品種のうち、22 品種は 7 菌株すべてに対して罹病性であった (第 1 表)。いずれかの菌株に抵抗性を示した品種は 8 品種あり、花色は赤色が 5 品種と黄色が 3 品種で、白色の抵抗性品種はなかった。また、1 品種 (‘7R7’) が 1 菌株、2 品種 (‘7R2’, ‘7R5’) が 2 菌株、同じく 4 品種 (‘7R6’, ‘7Y1’, ‘7Y2’, ‘8R1’) が 4 菌株に対して抵抗性を示したが、抵抗性を示した菌株の組み合わせは品種により異なった。すべての菌株に抵抗性を示した品種は 8 月開花の黄色 1 品種 (‘8Y3’) のみであった。各品種の感受性のパターンからは、供試した県内 5 菌株は全て異なるレースである可能性が示唆された。

なお、ポジティブコントロールとして用いた 2 品種のうち、県内栽培品種 ‘ざくろ’ は県外の TS 株に対して抵抗性を示し、感受性が未知の菌株に対するネガティブコントロールの品種としては不適であった。



第 1 図 発病指数の基準

0: 発症なし, 1: クリーム色もしくは褐色の感染斑を形成, 2: ごく少数の冬胞子堆を形成, 3: 冬胞子堆が葉面積の 1/4 未満, 4: 冬胞子堆が葉面積の 1/4 以上~1/2 未満, 5: 冬胞子堆が葉面積の 1/2 以上

白さび病菌は世界中に多くのレースが存在し (De Backer ら, 2011), 日本国内においても, 宮城県内で最低でも 10 レースが存在することが報告されている (岩井ら, 2009). 奈良県のキク産地の歴史は古く, 明治末期には既に栽培が始まっており (西田, 1969). 現在では 90 ha を超える産地の規模からみても, 県内にも多くのレースが存在することが推察される. その実態は明らかではないが, 本試験の結果からも, 産地には相当数のレースが存在することが示唆された.

一方, 抵抗性品種の利用にあたっては, 菌株の変異による抵抗性の打破が懸念される. そこで, 抵抗性を示した 8 品種の産地への導入時期を調べたところ, ‘8Y3’ を含む 5 品種は県内産地で少なくとも 25 年以上栽培されていた. 残り 3 品種の導入時期は ‘7Y1’ が 2006 年, ‘7R7’ と ‘7Y2’ は 2015 年であった. ‘8Y3’ は 1998 年にも複数の菌株に完全な抵抗性を示すことが報告されており (杉村ら, 1998), 病原菌が常在する本県の産地において, 少なくとも 25 年以上の間, 抵抗性を維持していることが確認された. さらに ‘8Y3’ は県外の 2 菌株に対しても抵抗性を示しており, 多くの菌株に対し, 広範に抵抗性の可能性があると考えられた.

2. 発病度における品種間差

罹病性品種の発病度は, 平群 A 株で 5~69, 葛城 D 株で 9~79 の範囲にあり, 発病度に品種間差がみられた (第 2 表). 本試験では, 菌株ごとの接種圧が均一であることを確認していないため, 2 菌株の病原性の強弱は比較できないものの, 平群 A 株で発病度の

第 2 表 接種試験における発病度の品種間差

品種	菌株別の発病度		(続き) 品種	菌株別の発病度	
	平群A	葛城D		平群A	葛城D
7Y3	69	45	モゼロマネス	27	21
春日の鈴音	64	64	8R4	27	25
8Y1	59	79	8W2	27	19
8W4	59	31	7W2	25	25
8R3	56	76	春日の星	21	21
8Y4	55	51	7W3	20	21
8W5	53	56	8Y2	17	25
7R3	48	65	7Y2	15	17
7W1	47	25	7R4	11	20
8W1	45	29	7R7	8	39
ざくろ	38	48	7R5	5	19
8R5	37	72	7R2	0	13
7R1	35	56	7Y1	0	11
春日の紅	32	61	7R6	0	9
8R2	32	36	8R1	0	0
8W3	29	40	8Y3	0	0

*発病度 = { (Σ (指数別発病葉数 * 指数) / 発病指数 5 * 調査葉数 5) * 100

高い品種は葛城 D 株でも高い発病度を示し, 品種ごとの発病度の強弱は, 2 菌株で同じ傾向がみられた. また, 7 菌株のいずれかに抵抗性を示した ‘8Y3’ 以外の 7 品種は少なくとも 3 菌株に罹病性であったが, その発病度は平群 A 株で 0~15, 葛城 D 株で 0~39 と比較的低く, 量的な抵抗性を持つ可能性があると考えられた.

3. 白さび病抵抗性の遺伝様式

実験 2 における平群 C 株の接種試験では, 供試した F₁ の 21 実生のうち 14 実生が抵抗性, 7 実生が罹病性で, 抵抗性出現割合は 67% であった (第 3 表). 葛城 D 株では, 15 実生が抵抗性で, 抵抗性出現割合は 71% であった. また, 平群 C 株の抵抗性実生の全てが葛城 D 株に対して抵抗性であった.

キクは, キク属の種間雑種から生じた六倍体であるが, その遺伝様式は hexasomic で, 減数分裂の際には染色体のランダムな対合が起こっていることが示唆されている (Van Geest ら, 2017). Hexasomic な遺伝様式では, Nulliplex との F₁ 世代の分離比 (R : S) は, 遺伝子型が Simplex (Aaaaaa) では, 期待値 1 : 1, Duplex (AAaaaa) では期待値 4 : 1 となる. また, 抵抗性遺伝子が 2 種類あり, それぞれが異なる相同染色体群に Simplex で座乗する場合 (Aaaaaa, Bbbbbb) には 3 : 1 となる. 本試験での分離比は, 平群 C 株で 2 : 1, 葛城 D 株では 5 : 2 であった. カイ二乗検定を実施した結果, 平群 C 株での観測値は期待値 1 : 1, 3 : 1 および 4 : 1 に対して有意差はなく, 葛城 D 株での観測値は期待値 3 : 1 と 4 : 1 に対して有意差はなかった (P > 0.05). 以上から, 試験に用いた F₁ 実生数が少ないため, 正確な遺伝子型の推定は困難であるが, ‘8Y3’ は葛城 D 株に対する顕性抵抗性遺伝子を 2 つ, 平群 C 株に対する顕性抵抗性遺伝子を 1 つもしくは 2 つ保有する可能性があると考えられた.

以上から, 抵抗性発現のメカニズムは明らかでな

第 3 表 F₁ 世代でのキク白さび病抵抗性出現割合の観測値と抵抗性 × 罹病性の F₁ 集団における分離比の期待値との適合度の検定

菌株	抵抗性品種の推定遺伝子型と F ₁ 集団 ^a における					
	観測値		分離比の期待値 (P 値) ^y			
	実生数	R:S	Simplex (Aaaaaa)	Duplex (AAaaaa)	p	2種類の抵抗性遺伝子が異なる相同染色体群にそれぞれ Simplex で座乗 (Aaaaa, Bbbbbb)
平群C	14 : 7	1 : 1	(0.13)	4 : 1	(0.13)	3 : 1 (0.38)
葛城D	15 : 6	1 : 1	(0.05)	4 : 1	(0.33)	3 : 1 (0.71)

^a 罹病性品種 ‘春日の紅’ (種子親) × 抵抗性品種 ‘8Y3’ (花粉親) との後代

^y () 内の数値はカイ二乗検定における p 値

いものの, '8Y3' を交配親に用いることで抵抗性後代を得ることができ, その抵抗性が長期間打破されない可能性も期待できると考えられた. 一方, '8Y3' 以外の7品種については, 量的に発現する抵抗性を持つ可能性がある. このように量的に発現する抵抗性の遺伝様式は明らかでないが, レースに非依存的に発現する可能性があることから, 育種素材として検討する価値はあると思われる.

奈良県内の小ギクは200を超える品種を組み合わせて生産されており, そのすべてを抵抗性品種に置き換えることは現実的ではない. 県内産地に蔓延している白さび病の防除には, 近年注目されている挿し穂の温湯処理技術を用いて菌密度を低下させるなど(原田ら, 2017; 内田, 1983; 山岸ら, 2016), 薬剤以外の防除方法と化学薬剤防除を併用した総合的な防除体系の確立が必要と考えられ, その一助として, 抵抗性品種の育成が望まれる.

謝辞

本試験の遂行にあたり, 菌株の提供と貴重なご助言をいただきました国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構野菜花き研究部門の住友克友氏, 接種方法をご指導いただき, 試験材料として'モゼロマネス'を提供いただきました鹿児島県農業開発総合センターの原田陽帆氏(現農林水産省近畿農政局)および南公宗氏に厚く御礼申し上げます.

引用文献

- De Backer, M. Characterization and detection of *Puccinia horiana* on chrysanthemum for resistance breeding and sustainable control. Phd thesis. Ghent University. 2012, 67-77.
- De Backer, M., H. Alaei, E. van Bockstaele, I. Roldan-Ruiz, T. van der Lee, M. Maes and K. Heungens. Identification and characterization of pathotypes in *Puccinia horiana*, a rust pathogen of *Chrysanthemum × morifolium*. *Eur. J. Plant Pathol.* 2011, 130, 325-338.
- De Jong, J. and W. Rademaker. The reaction of

chrysanthemum cultivars to *Puccinia horiana* and the inheritance of resistance. *Euphytica.* 1986, 35, 945-952.

- 原田陽帆, 白山竜次, 郡山啓作. キク白さび病発病抑制のための温湯浸漬処理によるキクへの障害発生品種間差および温湯へ農薬を加用した場合の同病発病抑制効果. 九州病害虫研究会第93回研究発表会講演要旨. 2017, 6.
- 板橋 建, 千葉直樹, 瀬戸直美, 鈴木誠一. コギク品種の白さび病抵抗性と白さび病菌レース. 東北農業研究. 2011, 64, 145-146.
- 岩井考尚, 中村茂雄, 板橋 建, 佐々木 厚. キク品種の白さび病抵抗性と白さび病菌レース. 植物防疫. 2009, 63, 760-764.
- 西田博嘉. 奈良県の花弁産地. *人文地理.* 1969, 21, 617-637.
- 農林水産省. “令和元年産花きの作付(収穫)面積及び出荷量”. 2020-10-14. https://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/sakkyou_kaki/, (参照2023-08-24).
- 杉村輝彦, 吉田雅彦, 西崎仁博, 岡山健夫. 奈良県内から採取したキク白さび病菌による品種間の発病差異と薬剤の防除効果. *奈良農試研報.* 1998, 29, 9-14.
- Sumitomo, K., K. Shirasawa, S. Isobe, H. Hirakawa, A. Harata, M. Nakano, Y. Nakano, M. Yagi, T. Hisamatsu, H. Yamaguchi and F. Taniguchi. A genome-wide association and fine-mapping study of white rust resistance in hexaploid chrysanthemum cultivars with a wild diploid reference genome. *Horticulture Research.* 2022, 9, uhac170.
- 内田 勉. キク白さび病の伝染機構と防除に関する研究. *山梨農試研報.* 1983, 22, 1-105.
- Van Geest G., R. E. Voorrips, D. Esselink, A. Post, R. G. F. Visser and P. Arens. Conclusive evidence for hexasomic inheritance in chrysanthemum based on analysis of a 183 k SNP array. *BMC Genomics.* 2017, 18, 585.
- 山岸菜穂, 石山佳幸, 清水時哉. キクさし穂の温湯浸漬処理によるキク白さび病の発生軽減効果. 関東東山病害虫研究会報. 2016, 63, 41-43.
- 山口 隆. キクの白さび病抵抗性育種に関する研究. *育学雑.* 1981, 31, 121-132.