

キク矮化ウイルス抵抗性の遺伝と選抜

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 花き研究所 ^{まつ}松 ^{した}下 ^{よう}陽 ^{すけ}介

はじめに

ウイルスは1971年にDienerによって初めて分離・同定されたタンパク質遺伝子をコードしない核酸のみの植物病原体である。我が国においても、*Chrysanthemum stunt viroid* (キク矮化ウイルス; CSVd) や *Citrus exocortis viroid*, *Hop stunt viroid* 等が分離・同定されている。CSVdは塩基数348～356塩基の環状1本鎖RNAであり、キク矮化病の病原体である。CSVdの宿主は栽培ギクや野生ギク等のキク属やシネリア・ダリアなどのキク科植物、ペチュニアやトマト等のナス科植物である。ただし、矮化などの症状が明瞭に現れ、栽培上問題となるのは主に栽培ギクである。

CSVdの我が国での発生の確認は1977年が最初である(大沢ら, 1977)。その後、三重県(花田ら, 1982)や香川(楠ら, 1993)、兵庫(塩飽ら, 1996)、熊本(森山ら, 1996)、北海道(李ら, 1997)、山形(兼松, 1998)、新潟(杉浦ら, 1998)、福岡・宮崎・沖縄(花田ら, 2001)、秋田(山本ら, 2001)、静岡(土井ら, 2004)等各地で発生が報告されており、また、松下(2006)による調査ではほぼ全国で本病が発生していることが確認されている。

主な病徴は葉が小型化し節間が短縮して矮化し、また、さし穂の発根が非常に悪くなること等があげられる。花の小型化や開花期の早期化または遅延化が見られる品種もある。品種‘ミスルトー’の葉には2mm程度の特徴的な退緑斑や黄斑が生じる。この病徴は26～29℃で最も早く現れるが(HANDLY et al., 1980) 汁液接種で1～2か月、接木接種で20～30日を要する。しかし低温、弱光線下では病徴が現れにくい。種子伝染に関しては、高保毒個体から得られた実生50個体から16個体がRT-PCRで検出され、種子伝染が確認されている(大石, 2001)。虫媒伝染や土壌伝染は報告されていない。

主要な伝染源は無病徴株を含めた罹病ギクで、摘蕾、収穫、刈り込み等の管理作業に伴う接触、あるいは刃物によって伝染が起こる。病徴が現れていない時期に外見から判断して感染個体を除去することは非常に困難であ

るため、罹病個体を親株として増殖していることにより被害を拡大していると思われる。生育障害の程度は品種によって異なり、香川県農試(1994)の報告では、開花時の茎長が‘秀芳の力’は正常株の69%、‘花秀芳’は30%、‘精興黄金’は44%になり、花卉も短くなっている。

キク矮化病は上述したように全国的に発生しており、その防除対策が望まれているが、キクの栄養繁殖にともなって病原体が拡散すること、また、品種によっては潜伏期間が長期にわたることから根絶が困難となっている。また、ウイルス防除では弱毒ウイルスが用いられることがあるが、ウイルスは変異の発生速度が非常に速いことから安定性に欠き、弱毒系統の開発や維持、利用は困難であると考えられる。それらの理由から抵抗性品種の活用が望まれている。しかしながら、これまでにウイルス抵抗性を備えた宿主植物の品種や系統は知られておらず、過去にナス科植物の中からジャガイモやせいもウイルス(PSTVd)の抵抗性植物の探索が行われているものの、結局は無病徴感染であったものを誤って抵抗性としていただけであった(SINGH et al., 1984)。また、PSTVdは重要作物であるトマトに感染すると、激しい植物全体の矮化や葉の黄化やえそ等を生じることから、過去にも抵抗性品種の探索が行われている。その結果、激しい病徴を示すものから無病徴のもの(耐病性)は得られたが、抵抗性品種は得ることはできなかった(MAHFOUZE et al., 2009)。そのため、CSVdにおいても、抵抗性の遺伝資源となるキクは存在しないとされ(LAWSON, 1987)、抵抗性についてはほとんど論じられることはなかったが、最近になって、CSVdの感染濃度が非常に低い品種が発見され、初めて抵抗性品種の存在が示されたことから(OMORI et al., 2009)、CSVd抵抗性についての研究が注目されるようになった。

I キク矮化ウイルス抵抗性の選抜

我々は抵抗性の選抜とその遺伝様式について明らかにするために以下の試験を行った。はじめに、抵抗性のキクを選抜するために材料として花き研究所遺伝資源にある栽培キク22品種または系統およびキク属の野生種6種を用いた(表-1)。穂木として各キク品種および系統を、また台木としてCSVd感染キクを用いて接木接種によりCSVdを接種した。接木個体は長日条件下で生育さ

Selection and Inheritance of Resistance to Chrysanthemum Stunt Viroid. By Yosuke MATSUSHITA

(キーワード: キク矮化ウイルス, 抵抗性, 遺伝)

せた。接木接種後に上位葉をサンプリングし、RT-PCRによってCSVdの検定を行った。RT-PCRはHosokawa et al. (2006)の方法に従って行った。その結果、キク品種‘岡山平和’および‘岩の白扇’を除く、すべての品種で接木接種30日後にCSVdがRT-PCRで検出された(表-1)。「岡山平和」と‘岩の白扇’は接種後にRT-PCRで検出されるまでの期間が他の品種と比較して著しく遅れた。また、「岡山平和」は接種210日後においても感染は全く認められないことから、CSVdの感染に対する抵抗性があると判断された(表-1)。

岡田(1957)によると、「岡山平和」は1949年に販売された品種であるとされており、相当古い品種であることがわかる。現在となつてはその由来は不明であり、花き研究所の遺伝資源として残されている系統だけが現存

しているものと思われる。

また、本試験では6種の野生種も接種試験に用いているが、すべて全身感染しており、抵抗性の野生種は見つけれなかった。また、花き研究所遺伝資源にあるこれら以外のキク属の野生種である、ナカガワノギクやオオシマノジギク、チョウセンノギク、ピレオギク、リュウノウギク、シマカンギクはCSVdに感染することが判明していることから、これらも抵抗性ではないと判断される(MATSUSHITA et al., 2007)。しかし、花き研究所遺伝資源以外のキク属野生種すべてにおいても抵抗性はないとは断言できないので、調査されていない野生種に抵抗性遺伝子がある可能性は現時点では否定できない。

II 抵抗性形質の後代への遺伝

自殖による抵抗性の後代は得られることがOMORI et al. (2009)の試験によって示されており、得られた後代の中から強い抵抗性の個体が得られている。一方で、感受性品種と抵抗性品種との交雑によって得られるF₁個体での抵抗性形質の遺伝と発現については不明であった。そこで、抵抗性品種‘岡山平和’がもつ抵抗性形質の後代への遺伝を確認するために、感受性品種との交雑を試みた。「岡山平和」からはほとんど花粉が得られないため、抵抗性品種‘岡山平和’を子房親とし、感受性品種‘セイエルザ’および‘アンリ’を花粉親として交雑した。その結果、それぞれ76個体と8個体の後代を得た。得られた後代を穂木として、また台木としてCSVd感染キクを用いて接木接種によりCSVdを接種した。接木個体は長日条件下で生育させた。接木接種後に上位葉をサンプリングし、RT-PCRによってCSVdの検定を行い、陰性であったものを抵抗性であると判断した。接木接種試験は3回行った。その結果、抵抗性個体がそれぞれ76個体中13個体、8個体中1個体得られた(表-2)。これより、「岡山平和」のCSVd抵抗性は感受性個体との交雑によって得られた後代に遺伝し、抵抗性を示す個体が得られることが示された。なお、口絵のように、得られたF₁の花の形質は明らかにそれぞれの両親の形質を引き継いだ表現型を示していることがわかることから、自殖によ

表-1 CSVd 抵抗性系統または品種の選抜

| 種およびタイプ | 系統または品種 | 接種後経過 (日) | | |
|--|----------|--------------|----|-----|
| | | 30 | 60 | 210 |
| <i>Chrysanthemum morifolium</i> | | | | |
| 小ギク | 寒小月 | + | + | + |
| | 寒わらべ | + | | |
| | 寒金山 | + | | |
| | 黒姫 | + | | |
| | せせらぎ | + | | |
| | 淀君 | + | | |
| | イエローブレイク | + | | |
| | レッドブレイク | + | | |
| | ホワイトブレイク | + | | |
| | 輪ギク | 如月 | + | |
| 岡山平和 | | - | - | - |
| 岩の白扇 | | - | - | + |
| | 精興の誠 | + | | |
| スプレーギク | セイローザ | + | | |
| | セイチャイナ | + | | |
| 食用ギク | 青森黄 | + | | |
| | もつてのほか | + | | |
| 古典ギク | 春小雨 | + | | |
| | 初島 | + | | |
| | 少納言 | + | | |
| | 姫心 | + | | |
| | 秋月 | + | | |
| | 3-14 | + | | |
| <i>C. boreale</i> | 3-14 | + | | |
| <i>C. pacificum</i> | 3-16 | + | | |
| <i>C. japonense</i> var. <i>japonense</i> | 8816 | + | | |
| <i>C. japonense</i> var. <i>ashizuriense</i> | BF1 | + | | |
| <i>C. shiwogiku</i> | ET1 | + | | |
| <i>C. indicum</i> var. <i>ioense</i> | ZBL1 | + | | |

++ : RT-PCRによってCSVdの感染が確認されたもの。

- : RT-PCRによってCSVdの感染が陰性であったもの。

表-2 CSVd 抵抗性品種‘岡山平和’と感受性品種との交雑後代における抵抗性と感受性の個体数

| 種子親 | 花粉親 | 交雑個体 | 抵抗性 ^a | 感受性 |
|--------|---------|------|------------------|-----|
| ‘岡山平和’ | ‘セイエルザ’ | 76 | 13 | 63 |
| ‘岡山平和’ | ‘アンリ’ | 8 | 1 | 7 |

^a 接種後にRT-PCRによってCSVdの感染の有無を確認し、陰性であったものを抵抗性とした。接種試験は3回行った。

て得られた後代ではなく、交雑によって得られた後代であることがわかる。今後は遺伝様式の解明などが重要な課題の一つとなるが、栽培ギクは6倍体を中心とした高次倍数性の作物であることから抵抗性遺伝子の遺伝解析には困難を伴うと思われる。

III 抵抗性のメカニズム

一般的にウイルスは篩管によって全身移動しているとされている (PALUKAITIS 1987)。そこで、‘岡山平和’における CSVd の移動を接木によって確認した。台木として CSVd 感染個体を用いて、中間穂木として‘岡山平和’をつなぎ、さらにその上に感受性品種‘セイエルザ’の健全個体を接木した。接木後、‘セイエルザ’の上位葉をサンプリングして、RT-PCR によって CSVd の検定を行った。その結果、‘セイエルザ’の上位葉から CSVd が検出された。この結果から、台木に感染していた CSVd が‘岡山平和’の篩管を通り、‘セイエルザ’に到達して感染したことがわかる。したがって、CSVd は‘岡山平和’の篩管を通過できることから、‘岡山平和’の抵抗性は CSVd の移行を妨げるものではないことがわかった。また、接木接種中の‘岡山平和’は、環境条件によっては一時的に CSVd が検出されることがあるが、その後は検出されなくなる。さらに、一時的に CSVd が検出された個体を台木から分離して挿し木すると、ただちに CSVd は検出されなくなる。したがって、‘岡山平和’は、環境条件によっては一時的に全身移行するのかもしれないが、CSVd の複製は行われない可能性が高い。

NABESHIMA et al. (2012) はキク品種・系統 85 個体から抵抗性品種を 20 系統選抜し、それらの抵抗性形質について解析を行っている。その結果、CSVd 抵抗性の形質は、接種後の感染パターンや濃度で分類すると少なくとも 2 種類あるとしており、非感染または非常に低濃度感染のタイプ、そして感染後に CSVd が消失するタイプがあるとしている。

おわりに

NABESHIMA et al. (2012) の試験結果のように、在来の品種・系統の中に抵抗性を有するものが数品種見つかってきていることから、今後はこれまで着目されてこなかった CSVd 抵抗性に関する既存品種の評価が重要な作業となる。そのためにも簡易な抵抗性選抜法の開発が求められるが、感染の有無を評価する方法は今のところ接木接種またはそれに準ずる方法によるしかなく、交雑試験によって得られた大量の個体を検査できる簡易な接種方法の開発が必要である。

次に抵抗性の遺伝様式についての解析についても今後の大きな課題である。矮化病と同様にキクの重要病害である白さび病に関しては、過去に抵抗性と其の遺伝に関する研究が宮城県で行われている。その遺伝様式の解析結果から 6 本の相同染色体中に 1 個の抵抗性遺伝子を有し、メンデルの法則に従って遺伝することが明らかになっている (岩井ら, 2009)。ただし、病菌レースと品種の組合せによって罹病性と抵抗性の結果が異なることが知られおり、白さび病菌には複数のレースが存在するため、他のレースと品種との病害抵抗性の判定については別に検討する必要があるとしている。CSVd 抵抗性に関しては、複数の遺伝子が関与している可能性が高く、遺伝解析には困難を伴うと推察される。

また、白さび病の複数存在するレースの事例と同様に、CSVd の変異体は数多く報告されていることから、それらに対する抵抗性の有無も判定する必要があると考えられる。実際にウイルスの変異発生率は非常に高く、CSVd においても異なる宿主植物を経ることで容易に変異を誘発することができることがわかっている (MATSUSHITA et al., 2009)。これまでにウイルス抵抗性に関する知見はほとんどなかったことから、ウイルスや糸状菌における抵抗性打破系統がウイルスにおいても存在または発生する可能性についても論ずる必要があるかもしれない。

引用文献

- 1) 土井 誠ら (2004): 関西病虫研報 46: 11 ~ 14.
- 2) 花田 薫ら (1982): 日植病報 48: 131.
- 3) ———ら (2001): 九病虫研報 47: 42 ~ 45.
- 4) HANDLEY, M. et al. (1980): *Phytopathology* 70: 567.
- 5) HOSOKAWA, M. et al. (2006): *J. Virol. Meth.* 131: 28 ~ 33.
- 6) 岩井孝尚ら (2009): 植物防疫 63: 760 ~ 764.
- 7) 香川県農業試験場 (1994): 平成 5 年度業務年報, 香川, p. 11 ~ 12.
- 8) 兼松誠司ら (1998): 北日本病虫研報 49: 73 ~ 75.
- 9) 楠 幹生ら (1993): 香川県農試研報 44: 19 ~ 26.
- 10) LAWSON, R. H. (1987): *The viroids*, Plenum Press, New York, USA, p. 247 ~ 259.
- 11) MAHFOUZE, S. A. et al. (2009): *Aust. J. Basic and Applied Sci.* 3: 3321 ~ 3329.
- 12) 松下陽介 (2006): 植物防疫 60: 455 ~ 456.
- 13) MATSUSHITA, Y. et al. (2007): *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 76: 333 ~ 337.
- 14) ——— et al. (2009): *Phytopathology* 99: 58 ~ 66.
- 15) 森山美穂ら (1996): 九病虫研報 42: 45 ~ 47.
- 16) NABESHIMA, T. et al. (2012): *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 81: 285 ~ 294.
- 17) 岡田正順 (1957): 園学雑 26: 59 ~ 72.
- 18) OMORI, H. et al. (2009): *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 78: 350 ~ 355.
- 19) 大石一史ら (2001): 園学雑 70: 192.
- 20) 大沢高志ら (1977): 日植病報 43: 372 ~ 373.
- 21) PALUKAITIS, P. (1987): *Virology* 158: 239 ~ 241.
- 22) 李世訪ら (1997): 北日本病虫研報 48: 113 ~ 117.
- 23) 塩飽邦子ら (1996): 兵庫農技研報 (農業) 44: 1 ~ 4.
- 24) SINGH, R. P. et al. (1984): *Plant Dis.* 68: 784 ~ 787.
- 25) 杉浦広幸ら (1998): 園学雑 67: 432 ~ 438.
- 26) 山本英樹ら (2001): 北日本病虫研報 52: 82 ~ 84.