キュウリ黄化えそ病抵抗性を有する 'きゅうり中間母本農 7 号'の育成経過とその特性[†]

杉山 充啓・川頭 洋一・下村 晃一郎・吉岡 洋輔* 坂田 好輝・吹野 伸子・野口 裕司

(平成27年8月25日受理)

Development of Cucumber (*Cucumis sativs* L.) Parental Line 'Kyuri Chukanbohon Nou 7 Go' with Resistance to *Melon Yellow Spot Virus*

Mitsuhiro Sugiyama, Yoichi Kawazu, Koichiro Shimomura, Yosuke Yoshioka, Yoshiteru Sakata, Nobuko Fukino and Yuji Noguchi

I 緒 言

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ある (Kato ら, 2000; 竹内ら, 2001). 現在, 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 MYSV の発生が報告されて いる (Chenら, 2008; Chiemsombatら, 2008; Guら, 2012; Quito-Avila ら, 2014). MYSV は Bunyaviridae 科 Tospovirus 属に属する3分節の1本鎖RNA ウイルスで, ミナミキイロアザミウマ (Thrips palmi Karny) によって永 続伝搬される (Kato ら, 1999). MYSV に感染したキュウ リ (Cucumis sativus L.) は葉にモザイク, 退緑斑点, 黄化 およびえそ症状などを示す. 一部の果実にも退緑斑点やモ ザイク症状を生じ、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、それは容易 ではない.

トマト (Solanum lycopersicum L.) およびピーマン (Capsicum annuum L.) では、Tospovirus 属に属する

トマト黄化えそウイルス(Tomato spotted yellow virus, TSWV)を病原とする黄化えそ病に抵抗性を有する実用品種が育成され、黄化えそ病対策に利用されている。しかし、キュウリでは、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、未だその育成には至っていない。本病は、世界的にも日本が初発生とされ、海外から抵抗性品種・系統の導入ができなかった。そこで筆者らは、黄化えそ病抵抗性を有するキュウリ遺伝資源の検索を行い、タイ原産のキュウリ系統 27028930 および山胡瓜-1が黄化えそ病に中程度の抵抗性を有することを明らかにし(Sugiyama ら、2009)、27028930 を育種素材として黄化えそ病に中程度の抵抗性を有する 'きゅうり中間母本農 7 号'を育成した。ここにその育成経過と特性について報告する。

'きゅうり中間母本農 7号'の育成に関して、野菜育成系統評価試験における特性検定試験の実施にあたっては群馬県農業技術センター東部地域研究センター(群馬農技セ)、高知県農業技術センター(高知農技セ)および宮崎県総合農業試験場(宮崎総農試)の担当者各位に多大な御協力を頂いた。また、中央農業総合研究センター奥田充博士からウイルス株を分譲して頂いた。さらに、野菜茶

^{〒 514-2392} 三重県津市安濃町草生 360

野菜育種・ゲノム研究領域

^{*} 筑波大学生命環境系

[†] 本報告の一部は、 園学研 ., 12, 255-261 (2013); Euphytica, 205, 615-625 (2015) において発表した.

業研究所・研究支援センター・業務第1科の方々、特に掘文明氏、増地智氏および山下大介氏には多大な業務支援を頂いた。ここに記して感謝の意を表する。本品種の育成は、2013および2014年度には農林水産省の「ゲノム情報を活用した農畜産物の次世代生産基盤技術の開発プロジェクト」(HOR-1001)により実施した。

Ⅱ 育成経過

黄化えそ病抵抗性素材として 27028930 を用いた. 27028930 は雌花着生率が非常に低く、単為結果性を持たず、果皮は白色で、収量性が極めて低い等の欠点を有する。 2006 年に 27028930 をわが国の固定品種 'ときわ'に交雑し、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、 F_5 系統を得た(図-1)。 2008 年にこの F_5 系統を F_1 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、2011 年に育種素材の 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。本系統は育種素材である 27028930 に比べウイルスの感染に起因する病徴が軽く、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(杉山ら、2013)、本系統にキュウリ安

濃4号の系統名を付した. 2013 および 2014 年度に野菜育成系統評価試験を実施した結果,本系統の黄化えそ病抵抗性が確認され,さらに,本系統が有する黄化えそ病抵抗性は,後代に遺伝することが確認された. これらのことから,キュウリ安濃4号は中間母本として有望であると判断し,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).

Ⅲ 特 性

1 育成地における試験成績

育成地で実施した試験の概要を表-1に示す.

a 黄化えそ病抵抗性

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。対照品種として、罹病性の'ときわ'および'アンコール 10'、中程度抵抗性の 27028930を用いた。ウイルスはキュウリから分離された MYSV-FuCu05Pを供試し、MYSV 感染キュウリ植物の葉を 10 倍量(\mathbf{v}/\mathbf{w})の 100 mM リン酸ナトリウム緩衝液(\mathbf{pH} 7.0、0.1% 2-メルカプトエタノール含有)で磨砕した、磨砕した粗汁液をガーゼに含ませ、カーボランダム(600メッシュ)をふりかけたキュウリの子葉にガーゼを擦り付け

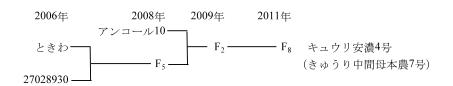


図-1 'きゅうり中間母本農 7号'の育成系統図

試験内容・年度	作型	播種日	接種日	定植日	調査日	畦幅	株間	栽植本数	台木	施肥 (kg/a)	試験規模
						(cm)	(cm)	(株/a)		$N-P_2O_5-K_2O$	
黄化えそ病抵抗性検定											
2013	半促成	1/9	1/15	2/5	4/11	120	40	167	自根	1.2-1.2-1.2	10株×2反復
2013	抑制	10/2	10/7	10/17	12/10	120	40	167	自根	1.2-1.2-1.2	10株×2反復
2014	抑制	9/17	9/24	10/7	11/23	120	40	167	自根	1.2-1.2-1.2	10株×2反復
減収率・収量性											
2010	促成	11/19	11/26	12/8	2/4	120	40	167	自根	1.2-1.2-1.2	3株×4反復
2011	抑制	9/13	9/30	10/6	11/22	120	40	167	ゆうゆう	1.2-1.2-1.2	3株×4反復
									一輝(黒)		
遺伝解析											
2012		9/25	10/1	10/10	12/4	120	40	167	自根	1.2-1.2-1.2	
一般特性											
2012	早熟	3/6	_	4/2		120	45	148	自根	1.2-1.2-1.2	20株反復なし

表-1 育成地における試験の概要

ることで汁液接種を行った。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。主枝 1 本仕立てとし,第 16 節程度で摘心した。側枝および果実は全て除去した。個体毎に第 $5\sim14$ 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 $\sim20\%$),4:えそおよび黄化(同面積 $20\sim50\%$),5:激しいえそおよび黄化(同面積 50% 以上),6:枯死)を調査し,第 $5\sim14$ 葉の平均発病評点を算出した。

発病株率は、2014年の抑制栽培を除き全ての品種・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(表-2)。罹病性の対照品種である 'ときわ' および 'アンコール 10' の発病評点は $4.8\sim5.6$ と高く、激

表-2 育成地における黄化えそ病抵抗性検定試験の結果

年度・作型	品種・系統名	発病評	F点.	発病株率(%)
2013年半促成	きゅうり中間母本農7号	1.6	cz	100
	ときわ	5.1	a	100
	アンコール10	4.8	a	100
	27028930	3.8	b	100
2013年抑制	きゅうり中間母本農7号	1.3	c	100
	ときわ	5.0	a	100
	アンコール10	4.9	a	100
	27028930	3.6	b	100
2014年抑制	きゅうり中間母本農7号	1.4	$\mathbf{c}^{\mathbf{z}}$	100
	ときわ	5.6	a	100
	アンコール10	5.6	a	100
	27028930	2.7	b	90

発病評点 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.

しい黄化症状が認められた。また、中程度抵抗性の 27028930 の発病評点は $2.7\sim3.8$ 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 $1.3\sim1.6$ で最も低く、病徴は非常に軽かった(図-2)。

b 黄化えそ病抵抗性の遺伝解析

罹病性の'きゅうり中間母本農 4号'と'きゅうり中間 母本農7号'を両親として交雑した集団を用いて黄化えそ 病抵抗性の遺伝解析を実施した。93 個体の F., 各 10 個体 の親系統および F₁ を用いた. 2012 年 9 月 25 日に 6cm ポットに播種し、10月1日にウイルスを接種した。10月 10日にポリオレフィンフィルムハウス内に定植し、12月4 日に発病評点を調査した. 接種方法, 栽培方法および抵抗 性の判定は、上記の黄化えそ病抵抗性試験と同様に行った. また、罹病性 'ときわ'と 27028930 の F₂ 集団を用いた QTL 解析の結果, 27028930 由来の主要な QTL が第1お よび第3連鎖群,27028930由来の効果の低いQTLが第 7連鎖群, 'ときわ' 由来の効果の低い QTL が第4連鎖群 に検出された (Sugiyama ら, 2015). そこで、'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 団において、27028930 由来の主要な QTL の SSR マー カー(第1連鎖群:SSR13109, 第3連鎖群:SSR31430) を用いて, マーカー遺伝子型と発病評点との関連性を調べ た. 各個体のマーカー遺伝子型を調べるため、まず DNeasy 96 Plant Kit (Qiagen) または DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いて、各個体の本葉からゲノム DNA を抽 出した. 次に、Shimizuら(2011)が報告した1チューブ





図-2 MYSV を接種したキュウリの植物体 左: 'きゅうり中間母本農 7 号', 右: 'ときわ' 子葉に MYSV を接種した後, 49 日目の様子(2013 年 12 月 5 日撮影)

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。

多重ポストラベル法を用いて PCR 産物を蛍光色素標識し,シーケンサー Applied Biosystems 3730xl DNA Analyzer で泳動し、GeneMapper (Applied Biosystems) ソフトウェアで PCR 産物の長さを解析した。 PCR の温度条件は、95°C 5分間、「95°C 20 秒間、55°C 90 秒間、72°C 30 秒間」を 33 サイクル、「95°C 20 秒間、49°C 90 秒間、72°C 30 秒間」を 3 サイクル、68°C 5 分間とした。

"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 F_1 の発病評点は、両親のほぼ中間の値を示し、 F_2 集団の発病評点は連続的な分布を示した(図-3)。こ

のことから、黄化えそ病抵抗性は不完全優性に遺伝し、抵抗性遺伝子は複数存在すると推測された。また、第1連鎖群および第3連鎖群のSSRマーカーについて、'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 F_2 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、2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-3)。これら2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

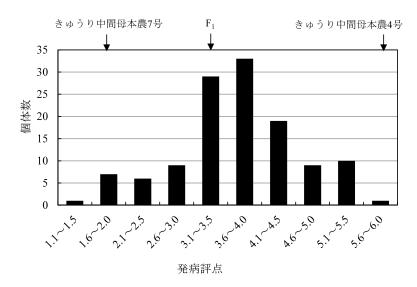


図-3 'きゅうり中間母本農 4 号'と'きゅうり中間母本農 7 号'と の F₂集団における発病評点の分布

表-3 マーカー遺伝子型別に分類した F_2 ('きゅうり中間母本農 4 号' \times '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 ^z	平均発病評点 ^y
		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	В	В	5.8 ± 0.2
$F_1(N \times A)$	10	Н	Н	3.3 ± 0.2
$F_2(N \times A)$	5	A	A	$2.5\pm0.7\ e^x$
	7	A	В	3.8 ± 0.4 bd
	12	A	Н	3.5 ± 0.5 cd
	5	В	A	3.1 ± 0.5 de
	5	В	В	4.7 ± 0.4 ab
	13	В	Н	3.9 ± 0.7 bc
	11	Н	A	3.2 ± 0.5 de
	15	Н	В	4.8 ± 0.1 a
	20	Н	Н	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, B: 'きゅうり中間母本農4号'型ホモ接合, H: ヘテロ接合.

y 平均值±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。

表-4 第3連鎖群の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

 系統名	マーカー遺伝子型゜	マーカー名			
		CSN251	SSR7225	CSN161	
F ₂ (農4号×農7号)	A	3.1 c ^y (26)	3.0 c (23)	3.2 b (28)	
	В	4.6 a (22)	4.4 a (24)	4.2 a (23)	
	Н	3.8 b (45)	3.8 b (46)	3.9 a (42)	

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, B: 'きゅうり中間母本農4号'型ホモ接合, H: ヘテロ接合.

表-5 各 SSR マーカーで検出される PCR 増幅断片長

品種•系統名		マーカー名	
	CSN251	SSR7225	CSN161
きゅうり中間母本農7号	284	212	217
27028930	284	212	217
きゅうり中間母本農4号	290	208	215
節青成	290	208	215
アルファー	290	208	215
アンコール10	290	208	215
加賀青長	290	208	215
エクセレント節成2号	290	208	215
輝世紀	290	208	215
極光607	290	208	215
霜知らず地這	290	208	215
シャープ1	290	208	215
ときわ	290	208	215
トップラン	290	208	215
夏節成	290	208	215
ハイグリーン21	290	208	215
久輝	290	208	215
Vアーチ	290	208	215
フレスコダッシュ	290	208	215
フレスコ100	290	208	215
プロジェクトX	290	208	215
モンドール	290	208	215
エテルノ	290	208	215
ZQ-7	290	208	215

表の数値は増幅サイズ(bp)を示す.

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(表 -3)、選抜マーカーとして第3連鎖群の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連鎖群のQTL 領域について、3種類の多型マーカーを選定し、各マーカーの選抜効果を検討した(表 -4)、93個体の F_2 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。そこで次に、これらのマーカーの汎用性を確かめるため、様々なキュウリ品種を用いて、'きゅうり中間母本農 7号'との間の多型の有無を調査した(表ー5)。その結果、全てのマーカーにおいて、抵抗性系統('きゅうり中間母本農 7号'および 27028930)とそれ以外の品種との間に多型があったことから、選抜マーカーとしての汎用性が高いと考えられた。

c 減収率の評価

ウイルスの感染による減収率の評価は、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(表-1). 'きゅうり中間母本農7号', 罹病 性の対照品種として'ときわ'および'アンコール 10' を用い、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。ウイルスの接種は上記の黄化えそ病抵抗性試験と 同様に行い、ウイルス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た. 接種後の植物は ポリオレフィンフィルムハウス内に定植し、主枝は畝面 から 180cm の高さにある誘引線に達した段階で摘心した. 主枝第6節までに発生した側枝および果実を摘除し、第 7節以上から発生した側枝についてはすべて第1節で摘 心した。100g 程度の大きさの果実を収穫し、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 (Sigiyama ら, 2009) 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、モザイク果は認められなかった (表 - 6). 一方、罹病性品種の収量は、対無接種区比で 32~52%となり、

^y 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。 カッコ内の数字は個体数。

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(表-7)。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 $1\sim2$ 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。

d 一般特性

一般特性の評価は2012年度に早熟栽培で実施した(表-1). 'きゅうり中間母本農7号', 'ときわ', 'アンコール10' および27028930を用いた.2012年3月2日に9cmポットに播種し,4月2日にガラス温室内に定植し,植物体および果実特性を調査した.栽培方法については上記の減収率の評価(自根栽培)と同様とした.なお,'きゅうり中間母本農7号'の収量性の比較には,減収率評価試験時のデータを用いた.

'きゅうり中間母本農 7 号'は他の品種・系統と同様,無限伸長を示した(表-8,図-4). 主枝および葉柄は, 'ときわ'および 'アンコール 10'に比べ短く, 葉は緑色でやや薄かった. 葉身の長さは 'ときわ'および 'アンコール 10'と同程度で,側枝の発生率は高かった. 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した. 単為結果性は 'ときわ'および 'アンコール 10'と同程度で,27028930 よりも高かった.

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、胎座は小さかった(表-9)。果皮硬度は 'ときわ' および 'アンコール 10' と同程度で、果肉はやや硬かった。果肉の食感の指標値(CI 値)は 'ときわ' および 'アンコール 10' に比べやや低かった。果実基部に首(肩こけ)が認められた。果皮は濃緑色で斑点はなく、イボ・トゲが認められた(図-5)。ブルーム(果皮表面に発生する白い粉状の物質)の程度は 'ときわ' および 'アンコール 10' に比べ強かった。

収量(全収穫果実重)は $1545\sim1890$ g で、'ときわ' および'アンコール 10'の収量 $1963\sim2494$ g および $2801\sim3180$ g に比べ低かった(表-6).

2 特性検定試験場所における試験成績

各特性検定試験場所で実施した特性検定試験の概要を表-10に示す.対照品種,仕立て方法および調査項目は育成地における特性検定試験と同様に行った.

表-7 ウイルス接種区おけるウイルスの蓄積量

品種名	促成栽培	抑制栽培
きゅうり中間母本農7号	0.53 ^z b ^y	0.88 b
ときわ	1.28 a	2.47 a
アンコール10	1.47 a	2.83 a

²DAS-ELISAの405nm吸光度を示す.

コントロールとして設定した無接種区'ときわ'の吸光度は,2011年促成 栽培および抑制栽培で,それぞれ0.23および0.09であった.

表-6 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	全収穫 果実重	モザイク果 発生率	全収穫果実数	全収穫 果実重	モザイク果 発生率
		(本/株)	(g/株)	(%)	(本/株)	(g/株)	(%)
きゅうり中間母本農7号	接種区	13.1	1360	0.0	16.5	1485	0.0
	無接種区	15.4	1545		21.4	1890	
	接種区/無接種区	0.85 a ^y	0.88 a		0.77 a	0.79 a	
	t検定 ^z	**	**		**	*	
ときわ	接種区	12.3	1231	24.0	11.3	1021	53.1
	無接種区	23.8	2494		19.5	1963	
	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	1027	40.5	13.5	1377	76.2
	無接種区	30.4	3180		27.9	2801	
	接種区/無接種区	0.34 c	0.32 c		0.48 b	0.49 b	
	t検定	**	**		**	**	

 $^{^{}z}$ *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に有意差があることを示し, ns は有意差がないことを示す $^{(n=4)}$.

 $^{^{}y}$ 同一のアルファベットは、Tukeyの多重検定により5%水準で、品種間に有意差がないことを示す (n=4) .

⁹ 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).

表-8 育成地における'きゅうり中間母本農7号'の植物体特性

	子葉の長さ	子葉の 幅/長さ	草姿	主枝の長さ	第1次側枝の 節間長	発生率
	(mm)			(cm)	(cm)	(%)
きゅうり中間母本農7号	50.0	0.56	無限伸張	80.6	8.7	100.0
ときわ	52.7	0.60	無限伸張	95.3	10.0	100.0
アンコール10	48.7	0.60	無限伸張	98.6	8.1	98.8
27028930	43.6	0.55	無限伸張	79.6	8.3	100.0

植物体特性は各品種・系統につき20個体を調査した.

品種・系統名	葉身の長さ (cm)	葉柄の長さ (cm)	葉色	性表現型 ^z	単為結果性	着果習性	八重成り性の 有無 ^y
きゅうり中間母本農7号	30.1	18.5	緑	混性型	峝	側枝型	無
ときわ	31.1	22.2	濃緑	混性型	高	側枝型	無
アンコール10	30.4	21.4	極濃緑	混性型雌性型	高	主枝側枝型	無
27028930	30.6	25.4	やや濃緑	混性型	低	側枝型	無

² 混性型:雌花と雄花を着生する,混性型雌性型:全ての節に雌花を着生し,少数の雄花を着生する.

^y1節に多数の雌花が着生する形質を八重成性と呼ぶ.



図-4 'きゅうり中間母本農 7 号'の植物体 (2012年11月13日撮影)

\$ 4 3 2 1 209 8 7 6 \$ 4 3 2 1 100 9 8 7 6 \$ 4 3 3 4 3 5 4 3 3 5 1 100 9 8 7 6 5 4 3 3 5 1 100 9 8 7 6 5 7 8

図-5 '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 (2015年4月16日撮影)

a 黄化えそ病抵抗性

'きゅうり中間母本農 7 号'の平均発病評点は 0.2~3.0 で、罹病性 'ときわ'および'アンコール 10'の発病評 点 $2.4\sim4.8$ および $1.4\sim4.8$ に比べ低く、病徴は弱かった (表-11). いずれの場所においても 'きゅうり中間 母本農 7 号'の抵抗性は優れると判定された.

表-9 育成地における'きゅうり中間母本農7号'の果実特性

品種・系統名	果実の長さ	果実の直径		果肉の厚さ	胎座の半径	果皮硬度	果肉硬度	果肉CI ^y
	(cm)	(mm)	/直径	(mm)	(mm)	(N)	(N)	
	. ,	. ,		. ,		. ,	. ,	
きゅうり中間母本農7号	22.5	26.6	8.5	9.2	5.6	8.0	9.2	1.3
ときわ	21.2	26.7	8.0	7.6	6.8	7.7	8.1	1.5
アンコール10	23.4	24.7	9.5	7.4	5.8	8.1	7.2	1.7
27028930 ^z	_	_	_	_	_	_	_	_

果実特性は各品種・系統につき20果実を調査した.

^y 「シャキシャキ(あるいはパリパリ)」感の指標(値が高いほど良いとされる).

品種・系統名	果実の基部 の形	果皮色	トゲの色	トゲの密度	イボの有無	果実の斑点 の有無	ブルームの 程度	成熟期の果 実の地色
きゅうり中間母本農7号	首あり	濃緑	É	粗	有	無	強	緑
ときわ	首あり	緑	淡褐	中	有	有	中	緑
アンコール10	鈍形	やや濃緑	É	中	有	無	中	緑
27028930	首あり	自	白	粗	有	無	_	自

表-10 特性検定試験場所における試験の概要

検定場所 ^z	年度	播種日	接種日	調査日	試験規模
群馬農技セ	2013 2014	9/30 10/6	10/8 10/15		10株×2反復 10株×2反復
高知農技セ	2013 2014	4/5 4/1	4/13 4/10		10株反復なし 10株反復なし
宮崎総農試	2013	1/30	2/11	4/17	10株×3反復

²所在地 群馬農技セ:群馬県館林市当郷町,高知県農技セ:高知県南国市廿枝,宮崎総農試:宮崎県宮崎市佐土原町下那珂.

表-11 特性検定試験場所における黄化えそ病抵抗性検定試験の結果

検定場所	年度	きゅうり中間母本農7号		ときわ		アンコール10		27028930		判定 ^z
		発病評点	発病株率(%)	発病評 点	発病株 率(%)	発病評 点	発病株 率(%)	発病評 点	発病株 率(%)	
群馬農技セ	2013 2014	1.0 0.6	100 100	4.8 2.4	100 100	4.8 1.4	100 100	2.7 0.8	100 100	0
高知農技セ	2013 2014	1.4 0.2	70 60	3.8 4.6	100 100	3.5 3.3	100 100	0.6 0.3	20 70	0
宮崎総農試	2013	3.0	100	4.3	100	4.4	100	3.8	100	0

²○:優れる, △:同等, ×:劣る.

3 用途,利用上の注意点および種子の配布

'きゅうり中間母本農 7 号'は、黄化えそ病抵抗性キュウリ品種育成のための母本として用いることができる。本品種の黄化えそ病抵抗性は不完全優性に遺伝するため、'きゅうり中間母本農 7 号'と同程度の抵抗性を持つ F_1 品種を育成するためには、両親への抵抗性付与が必要である。本品種を用いた交雑後代では MYSV を接種すれば発病する。そのため、品種育成過程の抵抗性検定におい

て全く発病しない個体は、接種が上手くできなかった個体と考える必要がある。 'きゅうり中間母本農 7号'の種子は、野菜茶業研究所から入手可能である。

Ⅳ 考 察

"きゅうり中間母本農7号"は、育種素材である 27028930よりも強い抵抗性を有する。この原因として、

²27028930は着果しなかっため、過去のデータを参照に果実形質を調べた.

'ときわ'と 27028930 との F_2 集団を用いた黄化えそ病抵抗性の QTL 解析において検出された効果の低い QTL の関与が示唆される。つまり、'きゅうり中間母本農 7号'では、第 4 連鎖群に検出された QTL 近傍のマーカー遺伝子型は、'ときわ'ホモ接合型であることが確認されていることから、'きゅうり中間 母本農 7号'は、27028930 由来の 2 つの QTL に加え、'ときわ'由来のQTL の関与によって 27028930 より強い抵抗性を有すると考えられる。よって、'きゅうり中間母本農 7号'と同程度の抵抗性を付与するためには、第 3 連鎖群のQTL のみでは不十分で、第 1 連鎖群のQTL およびその他の効果の低いQTL を集積させる必要があると考えられる。

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 が感染した'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 (櫻井ら, 2013). 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(表-7),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.

"きゅうり中間母本農 7号"は、雌花着生率が実用品種に比べ低く、果実基部に首が認められる等の欠点を有する。本中間母本を素材として実用品種を育成する場合、雌花着生率を高く、果実形質を向上させるような品種・系統と交雑する必要がある。

黄化えそ病抵抗性を判定するためには、接種後 2τ 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。今後、DNA マーカーの利用により、'きゅうり中間母本農7号'を母本とした実用品種の育成の早期化が期待される。

Ⅴ 摘 要

1) 'きゅうり中間母本農 7 号'は、黄化えそ病抵抗性を

有するキュウリ系統 27028930 と固定品種 'ときわ'を交雑した F_5 世代に F_1 品種 'アンコール 10'を交雑し、抵抗性検定による選抜と自殖を繰り返すことにより、黄化えそ病抵抗性および主要形質を固定させた中間母本である.

- 2) 'きゅうり中間母本農 7 号'は、罹病性品種に比べて 病徴は弱いが、MYSV に全身感染するため黄化えそ病に 対して中程度の抵抗性を有する。さらに、キュウリ系統 27028930 より強い抵抗性を示す。
- 3) 'きゅうり中間母本農 7号'と罹病性 'きゅうり中間 母本農 4号'を交雑した F_1 の発病評点は、両親のほぼ中間の値を示す。また、その F_2 集団における発病評点は幅広い分布を示すことから、黄化えそ病抵抗性には複数の遺伝子が関与し、抵抗性は不完全優性に遺伝すると推定される。第3連鎖群の3マーカーは、キュウリの MYSV 抵抗性育種における選抜マーカーとして利用できる。
- 4) 幼苗期に MYSV に感染すると、罹病性品種は $5\sim7$ 割程度の減収になるのに対して、'きゅうり中間母本農 7号'は $1\sim2$ 割程度の減収に抑えられる。また、'きゅうり中間母本農 7号'の果実には、MYSV の感染に起因するモザイクなどの症状は見られない。
- 5) 主枝の長さは短く, 側枝の発生率は高い. 性表現は 混性型で, 単為結果性を有する. 果皮は濃緑色で, 果実 基部に首があり肩こけが認められる.
- 6) 黄化えそ病抵抗性は不完全優性に遺伝するため、'きゅうり中間母本農 7 号'と同程度の抵抗性を持つ F_1 品種を育成するためには、両親への抵抗性付与が必要である.

引用文献

- Chen, T. C., Y. Y. Lu, Y. H. Cheng, C. A. Chang and S. D. Yeh (2008): *Melon yellow spot virus* in watermelon: a first record from Taiwan. *Plant Pathol.*, 57, 765.
- Chiemsombat, P., O. Gajanandana, N. Warin, R. Hongprayoon, A. Bhunchoth and P. Pongsapich (2008): Biological and molecular characterization of tospoviruses in Thailand. Arch. Virol., 153, 571-577.
- 3) Gu, Q. S., H. J. Wu, H. Y. Chen, X. J. Zhang, M. Z. Wu, D. M. Wang, B. Peng, X. Y. Kong and T. J. Liu (2012): Melon yellow spot virus identified in China for the first time. New Dis. Rep., 25, 7.
- 4) Kato, K., K. Hanada and M. Kameya-Iwaki (1999): Transmission mode, host range and electron microscopy of a pathogen causing a new disease of melon (*Cucumis melo*) in Japan. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn., 65, 624-627.
- Kato, K., K. Hanada and M. Kameya-Iwaki (2000): Melon yellow spot virus: A distinct species of the genus Tospovirus isolated from melon. Phytopathology, 90, 422-426.
- 6) 奥田 充・山崎修一・杉山充啓 (2009): キュウリ黄化えそ病 の発生動向と防除対策の展望. 植物防疫, **63**, 279-283.

- 7) Quito-Avila, D. F., E. L. Peralta, R. R. Martin, M. A. Ibarra, R. A. Alvarez, A. Mendoza, M. Insuasti and J. Ochoa (2014): Detection and occurrence of *melon yellow spot virus* in Ecuador: an emerging threat to cucurbit production in the region. *Eur. J. Plant Pathol.*, 140, 193-197.
- 8) 櫻井民人・杉山充啓(2013): ミナミキイロアザミウマ虫媒性 に対するメロン黄化えそウイルス抵抗性キュウリ品種の評価. 第57回日本応用動物昆虫学会大会講演要旨集,107.
- Shimizu, T. and K. Yano (2011): A post-labeling method for multiplexed and multicolored genotyping analysis of SSR, indel and SNP markers in single tube with bar-coded split tag (BStag). BMC Research Notes, 4, 161.
- 10) Sugiyama, M., M. Okuda and Y. Sakata (2009): Evaluation of resistance to melon yellow spot virus in a cucumber

- germplasm collection. Plant Breed., 128, 696-700.
- 11) 杉山充啓・吉岡洋輔・下村晃一郎(2013): メロン黄化えそウイルスの感染が黄化えそ病中程度抵抗性を有するキュウリ安濃4号および罹病性品種の生育と収量に及ぼす影響. 園学研., 12, 255-261.
- 12) Sugiyama, M., Y. Kawazu, N. Fukino, Y. Yoshioka, K. Shimomura, Y. Sakata and M. Okuda (2015): Mapping of quantitative trait loci for *Melon yellow spot virus* resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Euphytica, DOI 10.1007/s10681-015-1444-x
- 13) 竹内繁治・奥田 充・花田 薫・川田洋一・亀谷満朗 (2001): メロン黄化えそウイルス (Melon yellow spot virus) による キュウリ (Cucumis sativus) の黄化えそ病. 日植病報., 67, 46-51.

Development of Cucumber (*Cucumis sativs* L.) Parental Line 'Kyuri Chukanbohon Nou 7 Go' with Resistance to *Melon Yellow Spot Virus*

Mitsuhiro Sugiyama, Yoichi Kawazu, Koichiro Shimomura, Yosuke Yoshioka, Yoshiteru Sakata, Nobuko Fukino and Yuji Noguchi

Summary

'Kyuri Chukanbohon Nou 7 Go', a cucumber parental line with intermediate resistance to *Melon yellow spot virus* (MYSV), was developed from crosses among 27028930, which has intermediate resistance, and susceptible 'Tokiwa' and 'Encore 10'. 'Kyuri Chukanbohon Nou 7 Go' shows milder symptoms than susceptible cultivars. Its resistance is controlled by polygenes with incomplete dominance. SSR markers on chromosome 3 allowed selection for MYSV resistance in breeding. The yields of 'Kyuri Chukanbohon Nou 7 Go' inoculated with MYSV were 79 to 88% of those of healthy controls, and mosaic fruits were not observed. On the other hand, the yields of susceptible cultivars were only 32 to 52% of those of the controls, and mosaic fruits were observed. 'Kyuri Chukanbohon Nou 7 Go' is monoecious and parthenocarpic. The fruits have dark green skin and a necked shape at the stem end.