

1 - 4 赤かび病抵抗性検定及び育種の展開方向

1) 小麦の赤かび病抵抗性検定法

北海道農業研究センター 畑作研究部 西尾善太

1. 小麦の赤かび病抵抗性検定法

小麦赤かび病は、現在 60% 以上の国産小麦を生産する北海道において、最も被害の大きい病害の一つである。赤かび病の問題は近年大きくなっており、北海道における赤かび病抵抗性に関する育種や研究の蓄積はまだ少ないのが現状である。

小麦は開花中に最も赤かび病に罹りやすくなる。しかし、小麦の開花する時期や長さは、品種によって異なる。このため、全ての品種を一度に接種できないことが、赤かび病の抵抗性検定をより難しくしている。そこで本研究では、開花期の異なる品種を安定した条件で検定する方法を検討した。

1) 接種方法

噴霧接種による切り穂検定法を試みたが(坂 1991, 武田ら 1992), 発病のばらつきが大きく、安定した結果が得られなかった。このため、開花中の穂に赤かび病菌の孢子液を注入する、注射による接種試験を行った。その結果、注射接種によって確実に赤かび病を発病させることができた。

2) 環境条件

均一な条件で発病させるために、自動スプリンクラー装置を使って、5分おきに1分間の散水を24時間連続で行った(連続降雨処理)。これにより、天候にかかわらず、全ての品種の穂が常に濡れている状態を保つことができた。

接種方法と環境条件を改良した結果、安定した赤かび病抵抗性検定が可能になった。現在は、圃場にスプリンクラーを立てる方法と、ビニールハウス内にスプリンクラーを下げる方法を行っている。

検定法について以下に説明する。

(1) 検定の準備

- a. 検定用の植物材料は20粒を50cm畦長・72cm畦間に播種し、基肥は窒素6kg/10a、追肥は融雪後に窒素2kg/10aを施用した。除草剤散布および雪腐病防除は育種試験と同様に行った。
- b. スプリンクラー装置と散水タイマーは(株)北海道サンホープ製のサンライザーセットを使用した。赤かび病菌の孢子を散水中に混入できるように、動力噴霧器の接続口を設けた。
- c. PDA培地で培養した赤かび病菌(*Fusarium graminearum*)の気中菌糸を取り除き、培地断片をマングビーン液体培地(20gマングビーン(緑豆)を1L蒸留水で20分煮沸した上清)に移植し、約1週間振とう培養した(20~25℃, 120rpm)。移植するPDA培地は培養後半年以上経過した物を使用すると孢子の形成率が高いようであった。

(2) 赤かび病の接種

- a. 連続降雨処理は早生品種の開花期の1週間前から開始した。散水間隔は5分間、散水時間は1分間に設定した。検定中は24時間連続で散水を行った。

- b. 赤かび病菌の孢子液を小花内に注入するために分注式マイクロピペットを使用した。(株)ニチリョー製の分注式マイクロピペットと1.25mlのアダプターを用いると1回の分注量が適当であった。
- c. それぞれの材料の開花期は、各畦の半分以上の穂が開花した日とした。開花期に各畦から10本の穂を選んで接種した。接種は、外穎と内穎の隙間からピペットを差し込み、小花の内部に孢子液(1 × 10⁵個/ml)を10 μl注入した。穎花を開く際に損傷を与えないように注意し、傷つけてしまった穂は切り落とした。

(3) 赤かび病の調査

- a. 接種21日後の発病度をそれぞれ調査した。発病度の調査は遠観による発病指数(0~9)で評価した(Ban and Suenaga 2000)。
- b. 検定終了後にそれぞれの品種を全刈して脱穀し、種子重を測定した。

それぞれの品種に接種してから3週間経過すると、遠観により簡便に発病度を判定できた。北海道の主要品種の発病度は、タクネコムギが発病指数で3~4、ホロシリコムギが4~5、チホクコムギが5~6、ホクシンは7~8以上であった(表1)。この他の北海道品種や育成系統は、ほとんどが主要4品種の発病度の範囲に分布していた(図1)。

北海道品種の抵抗性と比較するために、世界的に強い抵抗性を持つことが知られている、中国品種の蘇麦3号と九州の品種を、北海道品種と同じ条件で検定した。通常は、九州の品種を北海道で秋まきにすると越冬が困難であるが、2001年は積雪条件が小麦の越冬に適当で、かつ雪腐病の防除を行ったことにより、ほとんどが越冬した。

九州品種と北海道品種の開花期は10日以内の差であった(表1)。検定の結果、西海165号の抵抗性は北海道のタクネコムギと同程度で、蘇麦3号と、その派生系統¹⁾は、北海道品種よりもかなり強い抵抗性を持っていることが明らかになった(表1, 図1)。

表1 北海道小麦品種の赤かび病抵抗性

品種名	2002年圃場検定		品種名	2002年ハウス検定	
	赤かび発病度 ³⁾	開花日 ²⁾		赤かび発病度 ³⁾	開花日 ²⁾
蘇麦3号(オーストリア)	1.2 a	9	蘇麦3号(オーストリア)	2.1 a	12
蘇麦3号(九州農研)	1.5 ab	5	蘇麦3号(九州農研)	2.5 ab	8
蘇麦3号(CIMYTT)	1.6 ab	5	蘇麦3号(CIMYTT)	2.9 abc	9
新中長	2.6 bc	4	新中長	3.1 abc	6
勝系28号 ¹⁾	3.1 c	7	勝系28号 ¹⁾	3.2 abc	8
西海165号 ¹⁾	3.2 c	4	西海165号 ¹⁾	3.8 bcd	6
タクネコムギ	3.3 c	5	タクネコムギ	4.0 cd	8
ホロシリコムギ	4.6 d	14	ホロシリコムギ	5.1 de	16
チホクコムギ	5.4 d	12	チホクコムギ	6.1 e	16
ホクシン	7.8 e	12	ホクシン	7.9 f	14

¹⁾ 育成系統の系譜

勝系28号 月系8904/ 札系184
西海165号 蘇麦3号/ アサカゼコムギ

²⁾ 6月の日付

³⁾ 同一アルファベットの記述のある品種間にはTukeyの多重比較(P<0.05)で有意差がないことを示す

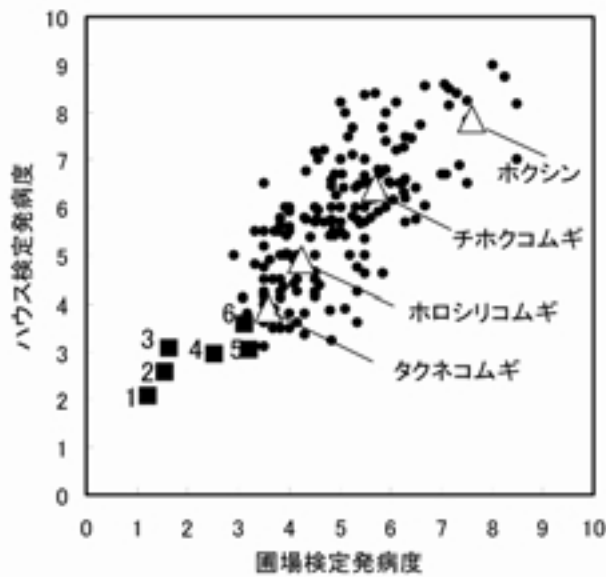


図1 2002年の赤かび病検定の結果

1. 蘇麦3号(オーストラリア系統); 2. 蘇麦3号(九州系統); 3. 蘇麦3号(CIMYTT系統);
4. 新中長; 5. 西海165号; 6. 勝系28号

強い抵抗性を示した蘇麦3号オーストラリア系統と、他の蘇麦3号の差を明らかにするために、さらに厳しい条件で検定を行った。小麦は登熟期間が開花から約40日間あるが、その間連続して5分間隔の散水を行った。全ての品種が激しく罹病したため、達観による判定は困難であった。検定後にそれぞれを全刈し、種子重を測定した。

その結果、蘇麦3号オーストラリア系統のみが20g以上の種子重を示した。一方、蘇麦3号は10g程度であり、西海165号はほとんど種子が採れなかった(図2)。この方法を用いることによって、赤かび病に非常に強い、高度の抵抗性品種が選抜できる可能性があると考えている。

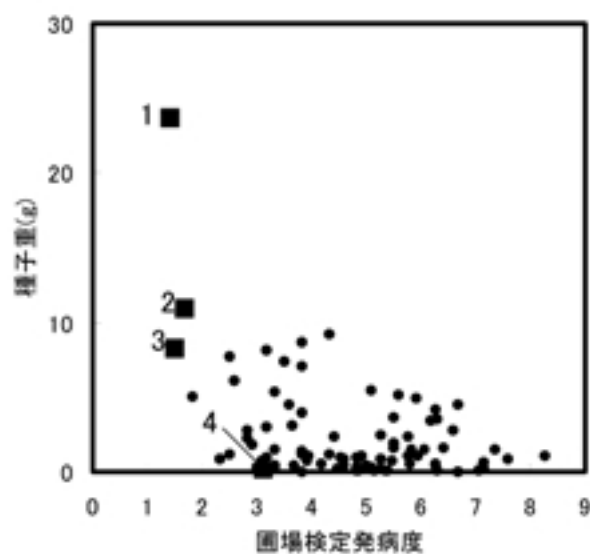


図2 赤かび病検定後の種子重

1. 蘇麦3号(オーストラリア系統); 2. 蘇麦3号(九州系統); 3. 蘇麦3号(CIMYTT系統); 4. 西海165号

世界各地に配布された蘇麦3号のうち、オーストリアから日本に導入された系統（出所はハンガリー）は、出穂日、稈長などの特性が異なっており、蘇麦3号オーストリア系統としている。九州農研とCIMYTTから分譲された蘇麦3号は、ほぼ同一の特性を持っていた。

実際に、抵抗性系統が選抜できるかどうかを検証するために、育成系統を用いて実験を行った。供種材料として、北海道の主要品種のホクシンに、九州農研で、蘇麦3号と延岡坊主小麦の組み合わせから育成された赤かび病抵抗性の「中間母本農4号」と、蘇麦3号とアサカゼコムギの組み合わせから育成された「PL33」をそれぞれ交配した材料のF₅世代を用いた。それぞれ、240～250系統を供試した。

各親品種の罹病度は、蘇麦3号が1～2、中間母本農4号とPL33は3～4、ホクシンは7～8であった。2001年にF₅世代を検定した結果、各系統の罹病度は抵抗性親よりも強い抵抗性系統を含む連続分布を示した（図3）。両組み合わせとも、大部分の系統が罹病性側に分布していたが、抵抗性系統を合計で15系統を選抜した。

2002年に選抜後のF₆世代の抵抗性を評価した。この結果、ホクシンと中間母本農4号の組み合わせから1系統、北海道で越冬可能な蘇麦3号並みの抵抗性を持つ系統が得られた（図4）。

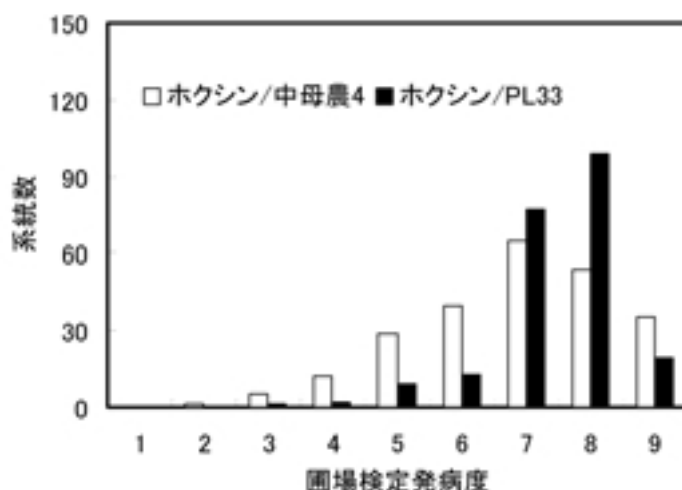


図3 F₅世代の赤かび病発病度分布

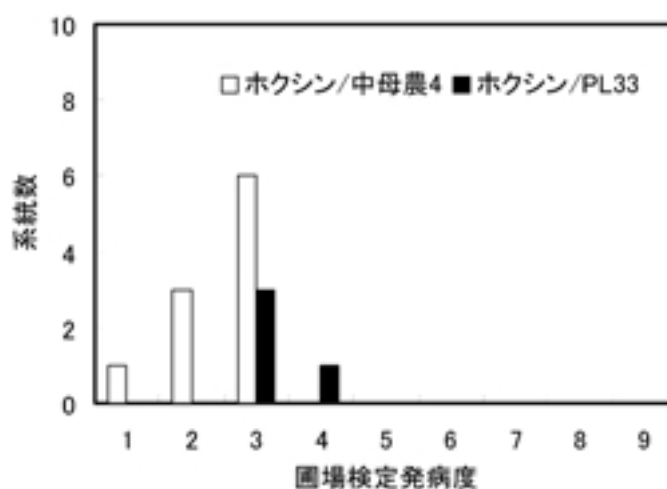


図4 選抜後のF₆世代の赤かび病発病度分布

以上の結果より、注射接種と連続降雨処理によって、赤かび病を安定して発病させることに成功した。赤かび病抵抗性系統の選抜が可能になり、蘇麦3号並みの抵抗性を持つ寒地型の系統が得られた。さらに登熟期まで連続降雨処理を行うことにより、赤かび病に非常に強い、高度の抵抗性品種を選抜できる可能性が示唆された。

蘇麦3号および九州の抵抗性品種と北海道品種の抵抗性を比較した結果、西海165号の抵抗性は蘇麦3号よりもやや劣り、北海道のタクネコムギと同程度であった。北海道の主要品種では、タクネコムギが最も強く、ホクシンが最も罹病性であった。

2. 小麦の赤かび病抵抗性育種の展開方向

赤かび病検定の結果から、最近の北海道品種の赤かび病抵抗性が劣っていることが明らかになった。この理由として、北海道品種の系譜には外国品種が多く含まれており、府県の品種と遺伝的背景が異なることや、北海道の小麦栽培の歴史が短いことから、府県品種と比較して赤かび病に弱い系統の淘汰が進んでいないことが考えられた。北海道品種の赤かび病抵抗性の改良には、府県や中国の抵抗性母本を活用して、積極的に抵抗性を取り入れていくことが必要である。

本実験では、ホクシンと中間母本農4号の組み合わせから、蘇麦3号並の抵抗性を持つ系統が得られた。この結果から、寒地に適応した蘇麦3号並みの赤かび病抵抗性系統の育成は、十分可能であると考えられる。今後の育種の戦略としては、このような寒地型の赤かび病抵抗性系統に優良品質、耐穂発芽性、耐雪性の各特性を揃えていくことが重要であると考えている。

赤かび病抵抗性の遺伝様式は、両親よりも抵抗性の超越分離を含む連続分布を示すことが多く報告されている (Snidjer 1990, Buerstmayr *et al.* 1999, Ban and Suenaga 2000)。赤かび病抵抗性育種のためには、超越分離した抵抗性系統を利用するののも一つの選択肢である (Buerstmayr *et al.* 1999)。

赤かび病で大きな問題となっている、かび毒の汚染に対する抵抗性系統を選抜するためには、現在市販されている検査薬の適用はコスト的に難しく、低コストで簡便な検査法の開発が望まれる。

参考文献

- 坂 智広 コムギにおける赤かび病抵抗性評価のための切り穂検定法の有効性 . 1991 . 育雑 41(別2) : 404 .
- Ban, T. and K. Suenaga 2000. Genetic analysis of resistance to *Fusarium* head blight caused by *Fusarium graminearum* in Chinese wheat cultivar Sumai 3 and Japanese cultivar Saikai 165. *Euphytica* 113: 87-99.
- Buerstmayr, H., M. Lemens, S. Berlakovich and P. Ruckebauer (1999) Combining ability of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) in the F₁ of a seven parent diallel of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 110: 199-206.
- Snijders, C.H.A. (1990) Response to selection in F₂ generations of winter wheat for resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum*. *Euphytica* 50: 163-169.
- 武田和義・金谷良市・張 成林 切り穂検定法で評価したコムギ赤かび病抵抗性の品種変異 . 1992 . 育雑 42 : 649-656 .

1 - 4 赤かび病抵抗性検定及び育種の展開方向

2) 大麦の赤かび病抵抗性検定法

作物研究所 麦類研究部(現九州沖縄農業研究センター 地域基盤研究部) 吉田 めぐみ

1. はじめに

麦類の赤かび病は、発病程度が感染時の環境条件に大きく影響され、安定した抵抗性評価を行うことが難しい病害である。赤かび病抵抗性検定を精度良く行うには、麦の感染適期とされる開花期に接種時期をそろえることと、接種後の温度・湿度条件を菌の感染に適した条件にそろえることが重要と考えられる。当研究室では、それらの条件を満たすことに留意した「ポット検定」法を開発し、既に報告されている「切り穂検定」法(武田・部田 1989)、および「圃場検定」法と、共通の材料について複数年次にわたり検定を行ってきた。本稿では各検定法の具体的方法を紹介するとともに、各検定法の検定精度及びその他の特性について比較検討した結果を報告する。

2. 供試材料

既に抵抗性程度が報告されている品種を含む、国内外の大麦品種・系統を供試した。各年度において全ての検定法に共通して供試した品種・系統数は、1999, 2000, 2001年度でそれぞれ55, 33, 29であった。それらをまとめて表1に示す。供試材料は、既報の抵抗性判定を参考に、抵抗性程度の極強から弱の品種・系統を含むように選定を行った。また、日本の温暖地における抵抗性検定を前提とし、極端に秋播性程度の高い品種や極晩生の品種は除いた。

3. 検定法

1) 接種源

農業研究センター(現中央農業総合研究センター)糸状菌病害研究室で保存されている赤かび病菌 *Fusarium graminearum* H-3 菌株の分生孢子懸濁液(5 × 10⁵ 個/ml)を、噴霧接種源として用いた。赤かび病検定期間中は、シャーレに作成したオートミール寒天培地で本菌を継代培養し、随時その培地片をマングビーン液体培地に移植し浸透培養することにより、分生孢子を大量形成させた。以下に、当研究室における赤かび病菌の培養法、及び分生孢子懸濁液の作成手順の詳細を記す。

(1) 培地の作成

培地はオートミール寒天培地とマングビーン液体培地の2種類を用いた。いずれも3ヶ月以上冷蔵保存でき、シーズン始めに大量に作成したものを順次用いた。

a) オートミール寒天培地

オートミール粉末 50g, しよ糖 5g, 粉末寒天 15g, および蒸留水 1 リットルを鍋に入れて火にかけ、よく攪拌しながら溶かしたものを、オートクレーブ滅菌し、クリーンベンチ内で9cm 径の滅菌済みプラスチックシャーレに分注した。(1回でシャーレ約20枚分の培地ができた。)培地が固まり次第、乾燥

表 1 - 1 供試大麦品種・系統

系統 番号	品種・系統名 ¹⁾	条 性	皮 裸 性	並 渦 性	開・閉花 受粉性	既報の抵抗性程度 ²⁾	全検定法 供試年度 ³⁾			ポット開花期			圃場出穂期	
							1999	2000	2001	1999	2000	2001	2000	2001
1	アサヒ5号	2	皮	並	閉	極強(文献4), 強(文献2)				3/8	2/28	-	4/22	-
2	あまぎ二条(1)	2	皮	並	閉	やや強(文献1)				3/8	3/5	3/7	4/18	3/28
3	あまぎ二条(2)	2	皮	並	閉	やや強(文献1)				3/8	-	-	-	-
4	関東二条2号	2	皮	並	閉	極強(文献1, 4)				3/19	-	-	-	-
5	関東二条32号	2	皮	並	閉					3/7	-	-	-	-
6	関東二条34号	2	皮	並	閉					3/7	-	-	-	-
7	さつき二条	2	皮	並	開	弱(文献1)				3/11	3/4	3/10	4/17	4/3
8	成城17号	2	皮	並	閉	やや強(文献1)				3/10	3/2	-	4/21	-
9	ダイセンゴールド	2	皮	並	閉	強(文献1)				3/12	3/5	3/6	4/15	4/3
10	タカホゴールド	2	皮	並	閉					3/7	-	-	-	-
11	筑系9318	2	皮	並	開					3/14	-	-	-	-
12	ニシノチカラ	2	皮	並	閉					3/9	-	-	-	-
13	新田二条16号	2	皮	並	閉					3/9	2/28	3/7	4/13	3/30
14	ニューゴールド	2	皮	並	閉	強(文献1)				-	-	3/13	-	4/19
15	ミカモゴールド	2	皮	並	閉					-	-	3/5	-	3/31
16	ミサトゴールド	2	皮	並	閉					3/9	3/2	3/3	4/12	3/31
17	吉系38	2	皮	並	開					3/7	3/2	3/6	4/15	3/27
18	関東二条29号	2	皮	並	閉					-	-	3/7	-	4/9
19	成城11号	2	皮	並	閉					-	3/7	-	4/20	-
20	CI12445	2	皮	並	閉					3/15	-	-	-	-
21	CI12775	2	皮	並	閉					3/15	-	-	-	-
22	Harrington	2	皮	並	開					-	-	3/9	-	4/16
23	Horni Pesekey	2	皮	並	開	極強(文献4)				3/18	3/6	-	5/1	-
24	Imperial	2	皮	並	閉	極強(文献4), 強(文献2)				3/20	-	-	-	-
25	Kombainiesis	2	皮	並	閉	極強(文献4)				3/22	3/12	-	5/8	-
26	Maja	2	皮	並	開	極強(文献4)				3/19	3/14	-	5/13	-
27	Niedzica 1	2	皮	並	開	極強(文献4)				3/19	-	-	-	-
28	Sanalta	2	皮	並	閉	極強(文献4)				3/19	-	-	-	-
29	Svansota	2	皮	並	閉	極強(文献1, 2, 4)				-	-	3/11	-	4/19
30	独11号	2	皮	並	閉	極強(文献4), 強(文献2)				3/19	-	-	-	-
31	ハルビン二条	2	皮	並	閉	極強(文献4), 強(文献2)				3/14	3/11	-	5/4	-
32	露6号	2	皮	並	閉	極強(文献2, 4)				3/16	3/14	3/13	5/9	4/19

¹⁾ 同じ品種・系統名でも入手先の異なるものは別系統として扱い, (1), (2), ...として区別した。

²⁾ 文献1: Gocho and Hirai, 1987, 文献2: 部田・日浦, 1962, 文献3: Rudd et al., 2001, 文献4: 武田・部田, 1989。
なお文献1を引用した抵抗性評価のうち一部は, 文献中の接種試験データから筆者が判断した評価である。

³⁾ 各年度において, 全検定法に共通して供試した品種・系統を 印で示した。

表1 - 2 供試大麦品種・系統

系統 番号	品種・系統名 ¹⁾	条 性	皮 裸 性	並 渦 性	開・閉花 受粉性	既報の抵抗性程度 ²⁾	全検定法 供試年度 ³⁾			ポット開花期			圃場出穂期	
							1999	2000	2001	1999	2000	2001	2000	2001
33	アサマムギ	6	皮	渦	開	やや弱(文献1)				3/17	-	3/8	-	4/11
34	イチバンボシ	6	裸	渦	開					3/9	3/3	3/7	4/13	4/4
35	カシマムギ	6	皮	渦	開	弱(文献1)				3/12	3/6	3/8	4/14	4/1
36	関係 b316	6	皮	渦	開					3/16	-	-	-	-
37	関東皮6号	6	皮	渦	閉					3/11	3/6	3/5	4/22	4/8
38	キカイハダカ	6	裸	渦	開	やや強(文献1)				3/17	3/8	3/9	4/30	4/19
39	鴻系 B4205	6	皮	並	開					3/16	3/8	-	4/23	-
40	鴻系 RB3017-5	6	皮	渦	開					3/18	-	-	-	-
41	コビンカタギ	6	裸	渦	開	中(文献2)				-	3/10	-	5/1	-
42	サツキムギ	6	皮	渦	閉					3/9	-	3/9	-	4/1
43	サヌキハダカ	6	裸	渦	開	やや強(文献1)				3/17	3/7	3/7	5/1	4/18
44	シュンライ	6	皮	並	開					3/18	3/10	3/8	4/24	4/15
45	すずかぜ	6	皮	渦	やや開					3/18	3/9	3/9	4/26	4/12
46	関取崎1号	6	皮	渦	やや開					3/18	-	-	-	-
47	ダイシモチ	6	裸	渦	開					3/10	-	-	-	-
48	ドリルムギ	6	皮	渦	閉	弱(文献1)				3/12	-	-	-	-
49	ナトリオオムギ	6	皮	渦	開					3/19	-	-	-	-
50	東山皮94号	6	皮	並	開					3/13	3/6	3/7	4/20	4/6
51	東山裸99号	6	裸	並	開					3/17	-	-	-	-
52	べんけいむぎ(1)	6	皮	並	開	弱(文献1)				-	3/15	3/14	4/26	4/18
53	べんけいむぎ(2)	6	皮	並	開	弱(文献1)				-	3/12	-	4/27	-
54	べんけいむぎ(3)	6	皮	並	開	弱(文献1)				3/20	3/12	-	4/26	-
55	マサカドムギ	6	皮	渦	やや開					3/15	-	-	-	-
56	ミノリムギ(1)	6	皮	並	開	やや弱(文献1)				3/18	3/9	3/9	4/23	4/15
57	ミノリムギ(2)	6	皮	並	開	やや弱(文献1)				3/20	-	-	-	-
58	横綱	6	皮	渦	閉					3/16	3/10	3/8	4/27	4/14
59	関係 b486	6	皮	並	開					3/8	3/2	3/4	4/10	3/30
60	関係 b492	6	皮	渦	開					3/10	-	-	-	-
61	関東皮75号	6	皮	渦	開					3/8	-	-	-	-
62	白裸1号	6	裸	並	開	中(文献2)				-	-	3/9	-	4/15
63	北陸皮16号(1)	6	皮	並	開					3/18	-	-	-	-
64	北陸皮16号(2)	6	皮	並	開					3/20	-	-	-	-
65	Chevron Sel.	6	皮	並	開					-	3/11	-	5/3	-
66	Chevron (1)	6	皮	並	開	六条品種中では強(文献2,3)				3/15	3/8	3/11	4/29	4/11
67	Chevron (2)	6	皮	並	開	六条品種中では強(文献2,3)				-	3/8	-	5/2	-
68	Morex	6	皮	並	開					-	-	3/5	-	4/12

1) - 3) 表1 - 1と同様。

と雑菌の混入を防ぐためにビニール袋に入れ、冷蔵保存した。

b) マングビーン液体培地

蒸留水 1 リットルに対し 20g のマングビーン（緑豆）を鍋に入れ、20 分間程度煮たものをざるでこし、煮汁の蒸発分をメスアップした。これに Yeast extract 1g/ リットルを加え、オートクレーブ滅菌した。（Yeast extract は加えなくても使えるが、加えたほうが孢子の形成量が増える傾向がみられたので、途中からはこれを加えるようにした。）

(2) 菌株の培養・継代

赤かび病検定シーズン前に、 -80°C でストックしておいた菌株の培地片 ((5)「菌株の保存」参照) をオートミール寒天培地の中央部に置き、 25°C 、暗黒条件下で 10 日間程度培養した。するとシャーレ全体に菌叢が広がり、培地が全体的に赤く着色してくるので、この培地を 5mm 角程度の大きさにピンセットで切り取り、新たなオートミール寒天培地上に移植し、同様にして培養した。検定シーズン中はこれをくり返し、菌株を継代培養した。なお、移植等の作業はクリーンベンチ内で行った。菌の培養および分生孢子の形成には日数を要するため、雑菌混入等のトラブルが生じる危険性も考慮し、遅くとも検定が始まる 1 ヶ月前には培養を開始するようにした。

(3) 分生孢子の形成

培養 10 ~ 20 日目のオートミール寒天培地上の菌叢をピンセット等で掻き取り除去し、その下側の赤色に着色した培地を 5mm 角程度の大きさに切り取り、この培地片を、滅菌済みの 500ml 三角フラスコに 200ml 程度分注したマングビーン液体培地中に移植した。これを室温および 24h 連続照明の条件下で浸とう培養し (135 回/分)、分生孢子を大量形成させた。孢子の形成量は培養開始後約 1 週間目でピークとなったので、接種には培養 5 ~ 9 日目の分生孢子を用いた。

(4) 分生孢子懸濁液の調製

接種当日、噴霧接種源とする分生孢子懸濁液を調製した。マングビーン液体培地の培養 5 ~ 9 日目の培養液を、2 重にしたキムワイプで濾過し、この濾液から、7000rpm、10 分の遠心分離により分生孢子を回収して蒸留水に懸濁し、血球計算盤を用いて孢子濃度を 5×10^5 個/ml に調製した。これを冷蔵保存し、接種直前によく振り混ぜて孢子を均一に懸濁してから接種源として用いた。なお、フラスコ 1 本分 (200ml) の培養液から、通常 700 ~ 1400ml の接種源を得ることができた。

(5) 菌株の保存

分譲を受けた菌株は、オートミール寒天培地で一度培養し、その培地片を、1.5ml エッペンドルフチューブに分注した 10% グリセロール溶液中に入れ、 -80°C で保存した。継代培養を続けると菌株に変異が生じる可能性があるため、このストックを大量に作っておき、シーズン始めにはこのストックから培養を始めることとした。

2) 「ポット検定」法

供試材料は、11 月上旬に、6 号硬質ポリエチレンポットに 1 鉢あたり 6 粒播種し、幼苗期に生育が不揃いの個体を間引きし 1 鉢あたり 4 個体植えとした。ポット植えした材料はビニールハウス内で栽培し、1 月下旬より長日処理および夜温 5°C 以上を維持するための加温を行い出穂を促した。

赤かび病菌の接種は、2 月下旬から 3 月下旬に気温 $20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ に加温したビニールハウス内で行っ

た。正確に開花期接種を行うため、各品種・系統の出穂期に達したポットを選び、穂の発育ステージが開花期にある5から8穂以外の穂を切除し、午後15時以降に分生孢子懸濁液をスプレーで穂全体に噴霧接種した。

接種後の検定材料は、ビニールハウス内に設置した湿室に1晩置き、菌の感染を促した(図1)。湿室内は、超音波加湿器により湿度100%となるよう加湿した。翌朝検定材料を湿室から出し、感染回避を防ぐために、夕方再び分生孢子懸濁液の接種を行った。接種の終了した検定材料は、ビニールハウス内で赤かび病の発病適温及び高湿度条件に置き発病を促した。発病温度は、温風暖房による加温、ビニールハウス側面の開閉及び気温25℃以上となった場合の30秒間ミスト状散水により、 20 ± 5 ℃に保った。また、吊り下げ式スプリンクラーにより5分毎に5秒間の断続的なミスト状散水を行い、穂の乾燥を防ぎビニールハウス内湿度を70~100%(夜間は95%以上)に保った(図2)。

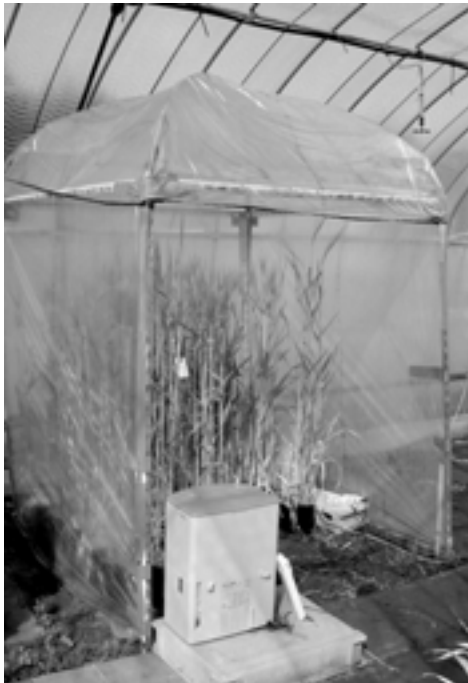


図1 「ポット検定」に用いたビニールハウス内の湿室
(中に接種後のポットが置かれた状態、加湿器は手前に見える1台と、奥にもう1台設置している。)



図2 「ポット検定」におけるビニールハウス内のミスト状散水

発病調査は、接種後1及び2週間後の2回行い、各品種・系統について一部例外を除き3ポットを供試し反復とした。発病程度は、各ポットの代表的な発病程度の穂について、Ban and Suenaga (2000)による小麦の罹病程度判定基準を参考とし、観察による10段階の罹病性スコア(図3)を用いて評価した。

3) 「切り穂検定」法

「切り穂検定」法は、武田・部田(1989)による方法を一部改変して行った。供試材料として「ポット検定」法と共通のポット栽培大麦を用い、各品種・系統の開花期の穂を、上位葉を2枚以上残して穂先端から40cm程度の部位で切り取り、3穂を1組として系統番号と日付(接種日)を記した耐水性荷札で束ね、分生孢子懸濁液を噴霧接種した。接種後の切り穂は流水中に立て、気温25℃、湿度100%、24h連続照明の接種箱に1日置き、菌の感染を促した。接種翌日、感染回避を防ぐため再び接種を行い、さらに1日接種箱に置いた。

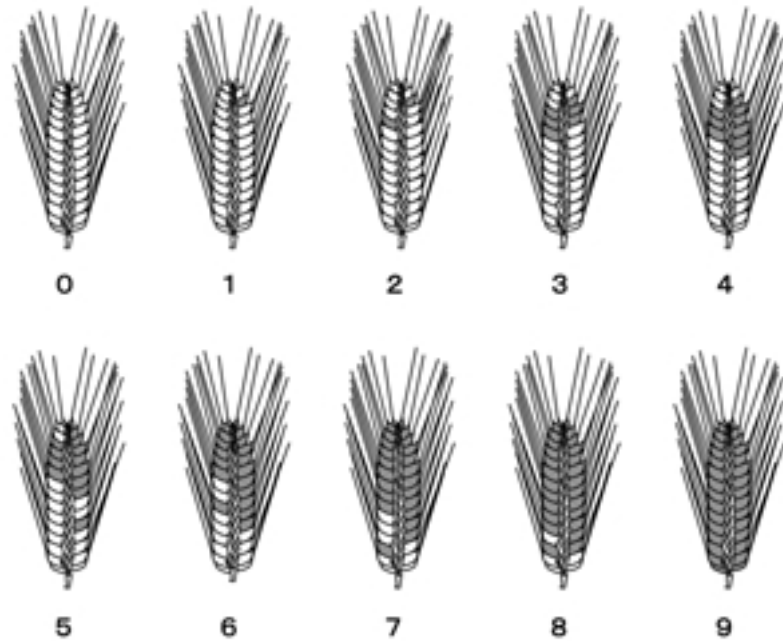


図3 罹病性スコアによる発病程度の評価

罹病性スコア 0:発病なし, 1:1穂あたり1小花が罹病, 2:1穂あたり2小花~1割程度の小花が罹病, 3, 4, 5, 6, 7:それぞれ2~3, 4, 5, 6, 7~8割程度の小花が罹病, 8:8割以上~10割未満の小花が罹病, 9:全小花が罹病。

2回目接種の終了した切り穂は、加湿器を入れたグロスチャンバーに移し発病を促した(図4)。発病期間を通じて切り穂には水道水をかけ流した。グロスチャンバー内の温度は18~25程度、湿度は加湿器により80~100%とした。夜間の温度はほぼ18、湿度100%に保たれた。

発病調査は、接種後1週間目および2週間目の2回行い、「ポット検定」と同様に10段階の罹病性スコアにより評価した。品種・系統の抵抗性評価は、3本の切り穂を1組として接種したもののうち、発病程度の高い2穂の罹病性スコアの平均値をその組の罹病性スコアとし、原則として3反復で試験を行った。

4)「圃場検定」法

供試材料は、畝間60cmの圃場に、2000年度は畦長25cmあたり10粒、2001年度は畦長35cmあたり20粒条播し、慣行法により2反復で栽培した。

4月上旬より一週間毎に、開花期に達した検定材料に対し、プレッシャー式噴霧器により、穂全体に分生孢子懸濁液を噴霧接種した。接種は各区につき1回のみとし、接種を行った区にはラッカーで印を付け、重複して接種する事のないようにした。検定圃場にはスプリンクラーを設置し、初回の接種日以降10分毎に15~20秒間霧状散水し、穂の湿気を保ち発病を促した(図5)。

発病調査は、接種後2週間目および3週間目の2回行い、各試験区の代表的な発病程度の穂について、「ポット検定」と同様に10段階の罹病性スコアにより評価した。

4.各検定法における検定精度等の比較検討

「ポット検定」と「切り穂検定」は1999~2001年度の3年間、「圃場検定」は2000~2001年度の2



図4 加湿器を入れたグロスチャンパーにおける接種終了後の切り穂の養成



図5 圃場検定におけるスプリンクラー散水

年間行った。累年の検定結果をもとに各検定法の精度等について比較検討した。

1) 各検定法の単年度における検定精度

各検定法の単年度における検定精度は、罹病性スコアの最小有意差や、罹病性スコアのレンジに対する最小有意差の比率（全体の罹病性スコアの変異をどの程度細かく区別できるかを表す指標と考えられる）の大小により評価できると考えられる。これらの値が小さいほど精度が高いと考えられるが、全年度・全検定法に共通して供試した19品種・系統について、検定法および年度毎に罹病性スコアの有意水準5%の最少有意差（FisherのPLSD法による）を算出したところ、最小有意差、及びレンジに対する最小有意差の比率のいずれについても、検定法間よりも各検定法における年次間差のほうが大きく、単年度における検定精度に検定法間の差は認められなかった（データ省略）。

2) 検定法間における抵抗性評価の比較

「ポット検定」、「切り穂検定」、「圃場検定」の3種の検定法間における抵抗性評価の相関を表2および図6に示した。「ポット検定」による抵抗性評価と「切り穂検定」や「圃場検定」による評価との間に

表2 罹病性スコアの検定法間相関

	1999年度(n=55)	2000年度(n=33)	2001年度(n=29)
ポット検定 - 切り穂検定	0.82*** (0.53***)	0.77*** (0.68***)	0.81*** (0.82***)
ポット検定 - 圃場検定	-	0.74*** (0.80***)	0.68*** (0.66***)
切り穂検定 - 圃場検定	-	0.47*** (0.61***)	0.66*** (0.70***)

注) 括弧なしは1回目評価時、括弧内は2回目評価時のスコア間の相関係数。

***: 0.1%水準で有意。

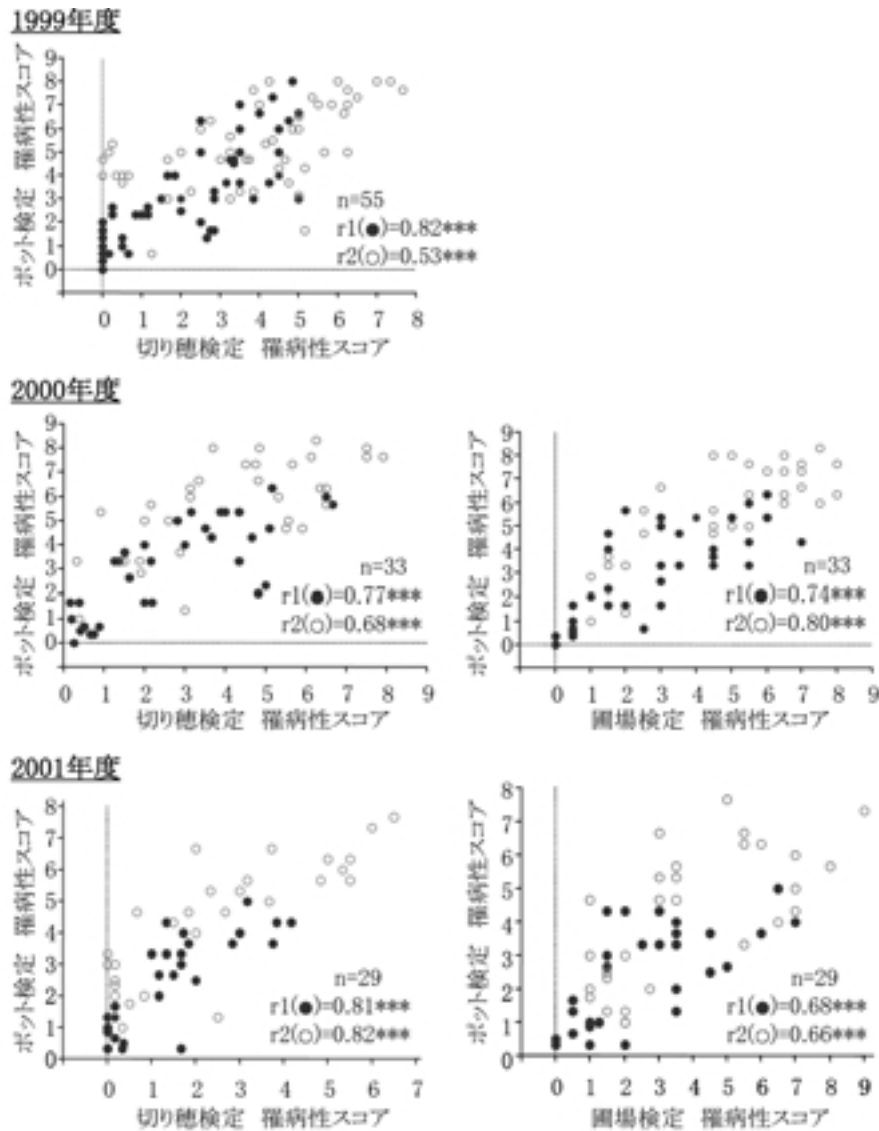


図6 各年度における罹病性スコアの検定法間相関

：1 回目調査時罹病性スコア。 2 回目調査時罹病性スコア。
 r1, r2 はそれぞれ1 回目調査時, 2 回目調査時の罹病性スコア間の相関係数。
 *** : 0.1%水準で有意。

は高い相関が見られ、その評価はほぼ一致したが、「切り穂検定」と「圃場検定」との相関は、「ポット検定」との相関に比べやや低かった。

また各検定法による抵抗性評価の特徴を見ると、「切り穂検定」においては「ポット検定」や「圃場検定」に比べ、罹病性スコアが0に近く判定される、すなわちほとんど感染及び発病を示さない場合が見られ(図6)、他の検定法と比べ、「切り穂検定」では確実な発病をさせ得ない場合があると考えられた。

3) 各検定法における抵抗性評価の年次間の安定性

図7に、各検定法における抵抗性評価の1999～2000年度及び2000～2001年度における年次間相関を示した。いずれの方法においても抵抗性評価の年次間相関はほぼ同程度に高かったが、「圃場検定」についてはこれまでに2年次しか試験を行っておらず、2000～2001年度においては年次間で高い相関が得られたが、年次によっては結果が気象条件により影響を受ける恐れがある。「ポット検定」及び

「切り穂検定」では気象条件の影響が「圃場検定」より明らかに少なく、また3年次にわたる試験で評価が安定しており、安定した検定が可能と考えられた。

4) 抵抗性評価と出穂期との関係

各検定法について供試材料の出穂期と罹病性スコアとの相関を調べた結果を表3に示す。各年次とも「切り穂検定」では罹病性スコアと出穂期との相関は無かったが、「ポット検定」及び「圃場検定」では年次によっては有意な正の相関が見られ、晩生の品種・系統が弱く評価される場合があった。特に2000年度に行った「ポット検定」の接種2週間後の罹病性スコアにおいて、やや高い正の相関が見られた。

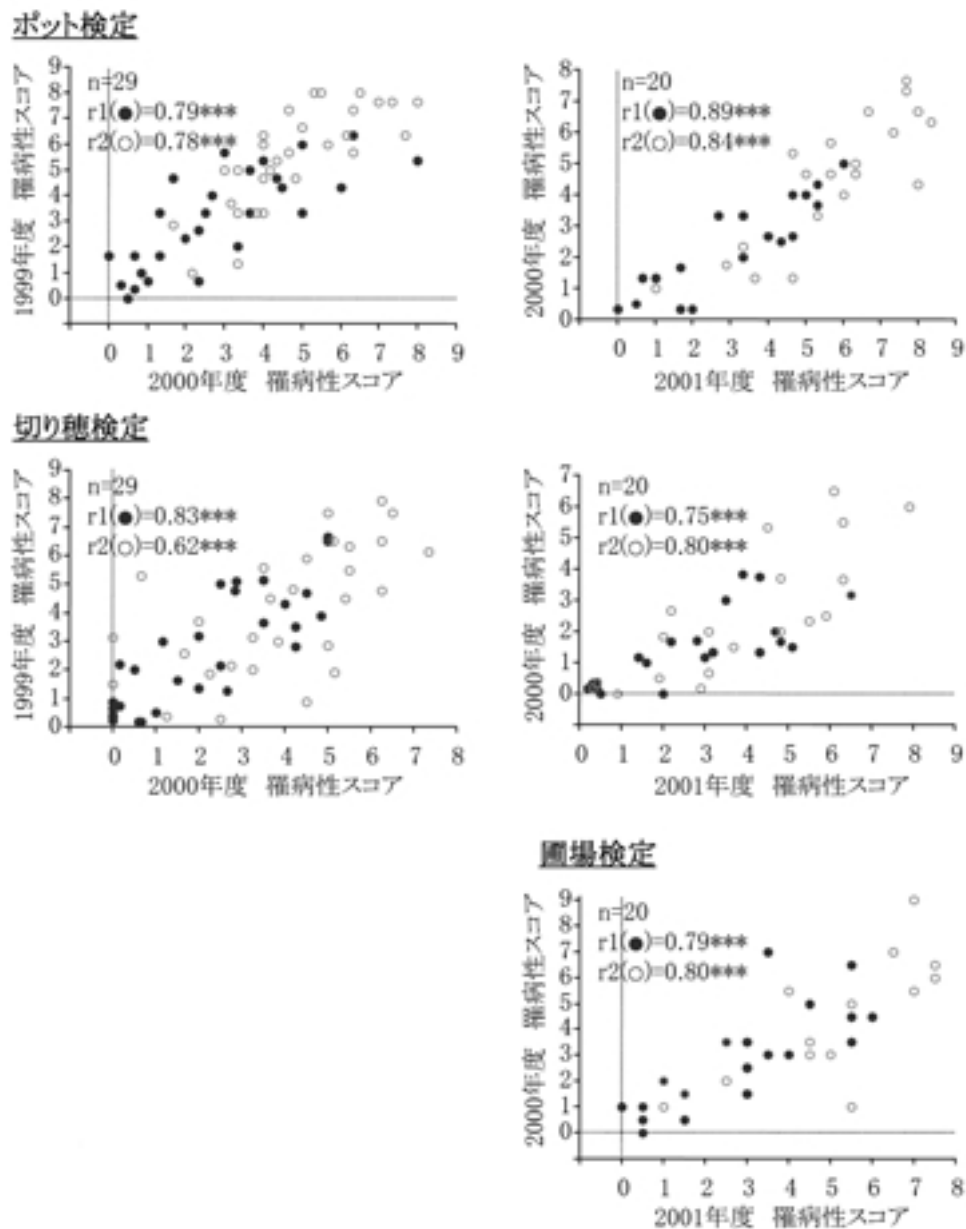


図7 各検定法における罹病性スコアの年次間相関

● : 1回目調査時罹病性スコア。 ○ : 2回目調査時罹病性スコア。
 $r1, r2$ はそれぞれ1回目調査時, 2回目調査時の罹病性スコア間の相関係数。
 $***$: 0.1%水準で有意。

表3 各検定法における罹病性スコアと出穂期との相関

	1999年度(n=55)	2000年度(n=33)	2001年度(n=29)
ポット検定	0.07 (0.30*)	0.39* (0.61***)	0.14 (0.23)
切り穂検定	0.09 (-0.20)	0.00 (0.26)	0.28 (0.21)
圃場検定	-	0.31 (0.47**)	0.19 (0.23)

注) 括弧なしは1回目評価時, 括弧内は2回目評価時のスコア間の相関係数。

*, **, ***: それぞれ5%, 1%, 0.1%水準で有意。

これらの相関関係は、供試材料の遺伝的特性によること、すなわち今回供試した品種・系統については抵抗性の弱い晩生系統が多かったことによる可能性も考えられるが、「切り穂検定」では相関が見られないことから、検定法の特徴による可能性が高いと思われる。「ポット検定」では晩生系統の検定期になると、外気温が上がるにつれてビニールハウス内の平均日中温度が相対的にやや高くなってしまいうこと、また、晩生系統の検定期になるにつれビニールハウス内に接種済みの検定材料が蓄積していくことにより、菌が蔓延した可能性が考えられる。「ポット検定」における抵抗性評価と出穂期との関係については今後も検討を要するが、温度管理をより厳密に行い、病原菌の蔓延を防ぐため検定材料の早晚などに分けて発病処理を行うことにより、出穂期の影響を軽減できると考えられる。

5. 抵抗性判定標準品種の選定

2000年度の試験を終えた時点で、3種の検定法による2年間の検定結果から、出穂期が早、中、晩で、抵抗性強、中、弱の10品種を、大麦の赤かび病抵抗性判定の標準品種として選定した。表4に、2001年度も含めた各年度、各検定法における抵抗性評価とともに示す。また、2000年度の各検定法における具体的データを表5に示す。表4に示すように、選定した標準品種の抵抗性評価は、年次間および検定法間で完全には一致しないものの大体においては一致しており、これらの標準品種を抵抗性判定の基準として用いることができると考えられた。ただし抵抗性が中の品種は、抵抗性強および弱の品種・系統に比べ抵抗性評価の変動が大きい傾向があり、判定基準としては抵抗性強および弱の品種に比

表4 選定したオオムギの赤かび病抵抗性判定標準品種

抵抗性判定	早晩性	品種・系統名	条性	並渦性	皮裸性	開・閉性	1999年度評価		2000年度評価			2001年度評価		
							ポット検定	切り穂検定	ポット検定	切り穂検定	圃場検定	ポット検定	切り穂検定	圃場検定
強	早	ミスサトゴールデン	2	並	皮	閉	R	MR	R	R	R	R	R	R
	中	ダイセンゴールド	2	並	皮	閉	R	R	R	R	R	R	R	R
	晩	露6号	2	並	皮	閉	R	R	MR	MR	MR	MR	R	R
中	中	サヌキハダカ	6	渦	裸	開	M	MR	MR	MR	M	M	MR	MR
	中	横綱	6	渦	皮	やや開	M	MR	M	MR	MR	MR	M	MS
	晩	Chevron	6	並	皮	開	M	M	S	MS	MS	MS	M	MR
弱	早	カシムギ	6	渦	皮	開	MS	MS	MS	MS	MS	MS	MS	S
	早	関係b486	6	並	皮	開	S	S	S	S	MS	S	S	MS
	中	アサムギ	6	並	皮	開	S	-	S	-	S	MS	MS	S
	晩	ミノリムギ	6	並	皮	開	MS	S	S	S	S	S	S	S

注) 各年度、各検定法における、1回目調査時と2回目調査時の罹病性スコアの平均値に基づいた5段階の抵抗性評価(R:強, MR:やや強, M:中, MS:やや弱, S:弱)を示した。

表5 標準品種の各検定法による検定結果（2000年度）

品種・系統名	抵抗性判定	早晚性	ポット検定		切り穂検定		圃場検定	
			スコア1	スコア2	スコア1	スコア2	スコア1	スコア2
ダイセンゴールド	強	中	0.0 a	1.0 a	0.3 a	0.4 a	0 a	1 a
ミサトゴールド	強	早	0.5 ab	2.9 b	0.4 a	1.9 ab	0.5 ab	1 a
露6号	強	晩	1.7 bc	6.3 c	0.4 a	3.1 bc	1.5 abc	5.5 bc
サヌキハダカ	中	中	2.7 cd	5.0 c	1.6 b	2.0 ab	3 bcd	5 b
横綱	中	中	3.3 d	6.0 c	1.4 b	3.1 bc	5.5 d	7.5 d
Chevron	中	晩	5.3 ef	8.0 d	3.2 c	4.8 cd	3 bcd	4.5 b
カシマムギ	弱	早	4.7 def	7.3 cd	3.5 c	4.5 cd	3.5 cd	6.5 cd
関係 b486	弱	早	5.3 ef	7.7 d	3.9 c	6.1 d	4 cd	5.5 bc
アサマムギ	弱	中	4.7 def	8.0 d	-	-	5 d	7 d
ミノリムギ	弱	晩	6.0 f	7.7 d	6.5 d	7.9 e	5.5 d	7 d

注) スコア1, 2はそれぞれ、各検定法における1回目調査時, 2回目調査時の罹病性スコア平均値。
 数値脇英字の同一文字間は5%水準で有意差なし。(FisherのPLSD法による)

重をおくほうがよいと考えられる。また、ここで選定した標準品種は耐寒雪性の弱い品種が多く、寒地・寒冷地向けには別途標準品種を選定する必要がある。

6. おわりに

ここで紹介した「ポット検定」等の検定法により精度の高い抵抗性検定が可能であるが、抵抗性の正確な判定には、複数年次の検定や他の検定法の併用により抵抗性評価を反復して行うことが望ましい。特に抵抗性が中程度の品種・系統は、抵抗性強および弱の品種・系統に比べて抵抗性評価の変動が大きい傾向があり、単年度の検定で抵抗性を判定するのは難しいと考えられた。また、検定法の精度については、検定法自体の特性に加え、温度・湿度制御に関わる設備の条件にも大きく影響されると考えられる。いずれの検定法においても検定設備の整備にあたっては、より均一な条件が作れるよう注意を払うべきである。

各検定法の検定精度およびその他の特性について比較すると表6の通りに整理できる。検定精度以外に労力面も重要で、今回行った3検定法を比較すると、「圃場検定」が最も労力が軽くすむ方法である。それに対し、「ポット検定」、材料をポット養成した場合の「切り穂検定」は、労力を要する方法である。ただし「圃場検定」は圃場の出穂期以降に行わなければならない、育種の現場では圃場作業の多忙な時期と重なってしまうのに対し、人工気象条件下ビニールハウス内でポット栽培した検定材料を用いて「ポット検定」や「切り穂検定」を行う場合は、材料の出穂期を調整することにより、検定を圃場の出穂期以前に終わらせることができるため、圃場作業との労力分散ができ、さらに同一年度内の抵抗性系統等の選抜と交配が可能となる。

表6に示すように「ポット検定」を含めそれぞれの検定法において長所・短所があり、目的や労力、設備等の条件により使い分ければよいと思われる。当研究室では、遺伝資源の一次スクリーニング、赤かび病抵抗性を育種目標とした育成系統の初期選抜等、検定系統数が多く、高い精度を求めない試験には「圃場検定」を適用し、高い検定精度を要する実験系統等の研究材料、中後期世代の育成系統の検定や、抵抗性母本の最終評価等には「ポット検定」法を用いている。また、単年度試験でより多くのデー

表6 各検定法の特性比較表

		ポット検定	切り穂検定	圃場検定
検定精度	長所	・人工条件で、安定性高い検定が可能。 ・確実に発病させ得る。	・人工条件で、安定性高い検定が可能。	
	短所	・晩生系統の評価がやや弱い可能性あり。	・確実な発病をさせ得ない場合がある。	・気象条件により影響を受ける可能性あり。
精度以外の特性	長所	・圃場の出穂期以前に検定できる。 ・圃場作業との労力の分散が可能。 ・同一年度の抵抗性選抜と交配が可能。		・比較的労力は軽くすむ。
	短所	・比較的労力を要する。		・検定時期が圃場の出穂期以降。 ・他の圃場作業との労力配分を要する。

注)「切り穂検定」は、ポット栽培大麦を材料とした場合について記した。

タを得たい場合には、「ポット検定」に加え「切り穂検定」も合わせて行っている。なお「切り穂検定」法は圃場栽培大麦を検定材料に想定し、場所をとらずに比較的簡易に大量の検定ができ、抵抗性が弱の系統を予備的に淘汰するのに有効な方法として報告されているものである(武田・部田, 1989)。圃場の出穂期以降に労力が確保できるならば、「切り穂検定」は系統の一次選抜等にも適すると考えられる。

参考文献

- Ban, T. and K. Suenaga (2000) Genetic analysis of resistance to *Fusarium* head blight caused by *Fusarium graminearum* in Chinese wheat cultivar Sumai 3 and the Japanese cultivar Saikai 165. *Euphytica*, 113, 87-99.
- Gocho, H. and T. Hirai (1987) Varietal resistance to scab in barley. *Barley Genetics* V, 625-630.
- 部田英雄・日浦運治 (1962) 赤かび病に対する病抵抗性の品種間差異。オオムギの耐病性に関する研究 第13報。農学研究, 49, 177-188。
- Rudd, J.C., R.D. Horsley, A.L. McKendry and E.M. Elias (2001) Host plant resistance genes for *Fusarium* head blight: Sources, mechanisms, and utility in conventional breeding systems. *Crop Sci.*, 41, 620-627.
- 武田和義・部田英雄 (1989) オオムギにおける赤かび病検定法の開発と耐病性品種の検索。育種学雑誌, 39, 203-216。

1 - 4 赤かび病抵抗性検定及び育種の展開方向

3) 赤かび病抵抗性の遺伝・育種

作物研究所 麦類研究部 河田 尚之

はじめに

赤かび病の抵抗性育種が困難な原因として、麦類とその近縁種に赤かび病菌に対する高度あるいは免疫的抵抗性遺伝子が存在しないことと、赤かび病の発病が麦類の生育ステージや環境条件に大きく影響され自然発病条件では抵抗性評価が困難であることなどがあげられる。後者については、赤かび病菌の伝染や感染などの発生生態が明らかとなっており、麦類の生育ステージを最も感染の起こりやすい開花期に合わせ、病原として分生胞子の接種、接種後の温湿度を発病の好適条件に設定することにより、抵抗性検定に十分利用可能な精度の高い検定法が提案されている。今回、北海道農研と作物研より小麦と大麦の抵抗性検定法として報告されたように、品種の強弱を判定するにはほぼ満足できる精度の検定法が開発されている。

これまでの抵抗性検定や新たな精度の高い検定法による抵抗性判定結果を見てみると、日本の小麦品種、特に農林61号以降の系統や、日本の二条大麦は世界的には最強レベルの抵抗性を持っていると言える。しかし、免疫的抵抗性は無く、温暖多雨の日本の気象条件では発病を抑えることは出来ず、マイコトキシンの汚染が基準値を超える可能性があることから、さらなる抵抗性の強化を進めなければならないという状況にある。抵抗性育種の最近の事例として、北見農試の選抜結果を見ると、西海165号（蘇麦3号に由来する抵抗性強の系統）を交配母本として利用した集団では、西海165号並みの抵抗性強系統が選抜されており、明らかに抵抗性選抜の効果があがっている。また、北海道農研の事例で、抵抗性品種を交配親に用いた集団から単年度の検定で抵抗性強系統を選抜し、その次代でその選抜効果を見ると、明らかに抵抗性選抜の効果が得られている。蘇麦3号に近いレベルの抵抗性品種は、現在の抵抗性検定、あるいは選抜方法で、育成可能であるといえる。しかしながら、抵抗性育種をより効率的に進めることが重要であり、抵抗性QTLのマッピングとマーカー選抜、穂の形態形質と抵抗性との関係、発病程度とマイコトキシン産生性の3点について話題提供を行う。

1. 麦類の赤かび病抵抗性

麦類の赤かび病抵抗性は免疫的抵抗性遺伝子が無く、多数の量的遺伝子に支配される複雑な形質である。小麦では抵抗性は5つのタイプに分類され、主に菌の進展抵抗性（Type-2）について遺伝解析と育種が進められている。一方、大麦では初期感染抵抗性（Type-1）が主に取り扱われてきた。赤かび病の発生程度は温湿度などの気象条件に大きく影響され、抵抗性の評価には赤かび病の発生生態を考慮した検定法が必要となる。また、抵抗性には農業形質や穂の形態的形質が関与し、特に大麦では出穂期、稈長、1穂粒数、条性等が抵抗性に影響する（Steffenson et al., 1996. de la Pena et al., 1999）。

従来の遺伝分析では、小麦では2～6の抵抗性遺伝子の関与が示唆されているが、その遺伝子の数と

位置は必ずしも一致しない。例えば蘇麦 3 号の抵抗性遺伝子数は、2 (Van Ginkel et al., 1996), 3 (Yao et al., 1997), 3 以上 (Singh et al., 1995) と推定された。遺伝分析結果が一致しない理由として、赤かび病の抵抗性が量的遺伝子支配であること、遺伝的背景の影響が大きいこと、異なる遺伝資源・系統が用いられていること、異なる赤かび病菌種・系統が用いられていること、評価する抵抗性発現 (Type-1, 2 等) が異なること、抵抗性検定手法の違い、環境分散及び遺伝子型と環境との交互作用が大きいことなどがある (Kolb et al., 2001)。

最近、赤かび病抵抗性の QTL マッピングと準同質遺伝子系統などを用いた遺伝子効果の研究が進み、赤かび病抵抗性の遺伝が明らかになりつつある。

2. 赤かび病抵抗性の QTL マッピングとマーカー選抜

小麦の赤かび病抵抗性に関連する RAPD マーカーが 1995 年に報告されて以降 (Bai, 1995. Ban, 1997.), DNA マーカー (RAPD, RFLP, AFLP, SSR 等) を用いた抵抗性 QTL のマッピングが多数報告されている。表 1 に QTL 解析等により報告された小麦の赤かび病抵抗性に関連する染色体領域をとりまとめた (Kolb et al., 2001 の取りまとめに加筆)。マーカー情報や遺伝分析結果から、蘇麦 3 号の抵抗性は 5A, 3BS, 6BS にあると推定される。また共通して見られる領域として、2D, 6BL などがあり、他に 2A, 3A, 7A が赤かび病抵抗性に関与すると考えられる。個々の領域の寄与率を見ると、10 ~ 20% 程度である。また、1 つの集団における QTL 領域の累積寄与率は、蘇麦 3 号の例で見ると、検定精度が高い場合に 40 ~ 60% の値が示されている。個々の領域の寄与率は高くはないが、マーカー選抜を行えばそれらの領域を集積することが可能であると考えられる。

一方、大麦の QTL 解析では Chevron/M69 の F4-6 系統で 6H を除く全ての染色体上に (de la Pena et al., 1999), Gobernadora/CMB643 の DH 系統で 7H を除く全ての染色体上に (Zhu et al., 1999), 抵抗性に関連する領域が検出されているが、それらの領域は DON 濃度, 出穂期, 稈長, 種子数, 側列小花サイズなどと共通する領域である。Chevron/Stander の DH 系統で検出された 1H, 2H, 4H 上の QTL は、出穂期や稈長とは関連しないとされている (Ma et al., 2000)。最近、Russia 6/H.E.S.4 の RIL で、効果の高い QTL (累積寄与率は 40.8%) が 2H 上の条性遺伝子近傍に 2 つ, 5H 上に 1 つ検出され (堀ら, 2002), これらと具体的な抵抗性関連形質との関係解明が期待される。

マーカー選抜の実例として、QTL についての準同質遺伝子系統 (QTL - NILs, Sumai 3/Stoa の F4-6) を用いて、蘇麦 3 号の効果の高い 3BS の作用を見ると、12 系統対中の 5 系統は有意な赤かび病抵抗性を示し、残り 7 系統は有意差が無かった (Pumphrey and Anderson, 2001)。大麦では Chevron/ Lacey の組合せで、2H 上の QTL が抵抗性の Chevron 型ホモ選抜集団 (F3) は、無選抜集団に比べ赤かび病発病程度が 43% 減少し、6H 上の QTL が Chevron 型ホモ選抜集団は、罹病性の Lacey 型ホモの集団に比べ赤かび病発病程度が 11% 減少したと報告されている (Gustus and Smith, 2001)。

麦類の赤かび病抵抗性は量的遺伝形質であり、単独では作用の小さい複数の遺伝子を集積する必要がある。従って、抵抗性育種を進める場合、マーカー選抜は積極的に取り組んでいかなければならないと思われる。現在までにマーカー選抜育種を行った事例が少なく、その効果について必ずしも明確にはなっていない。今後は、実際の育種場面において選抜効果のデータの蓄積を進めていかなければなら

いと思われる。

表1 小麦の赤かび病抵抗性 QTLs のマッピングと DNA マーカー

遺伝子座	集団 ^{a)}	マーカー	寄与率(%)	参 考
2AL	Sumai 3/ <u>Stoa</u>	RFLP	14.3	Waldron et al., 1999
2AS	Ning 7840/ <u>Freedom</u>	SSR	20	Gupta et al., 2000,2001
2D	Ning 894037/ <u>Alondra</u>	SSR	5.5	Shen & Ohm 2001
2DS	Sumai 3/ <u>Gamenya</u> (Type-1)	RFLP, RAPD, SSR	15	Xu et al., 2001
2DS	Sumai 3/ <u>Gamenya</u> (Type-2)	RFLP, RAPD, SSR	17	Xu et al., 2001
2BS	Pion2684/ <u>W14</u>	SSR	23	Chen et al., 2001
Dic-3A	Langdon/ <u>T.dicoccoides</u> disomic substitution lines	SSR	38.0	Otto et al., 1999
Dic-3A	Langdon/ <u>T.dicoccoides</u> disomic substitution lines	SSR	55	Hartel et al., 2001
3AL	ND2603/ <u>Butte 86</u>	RFLP	9.1	Anderson et al., 1998
3BS	<u>Ning 7840</u> / <u>OH542</u>	SSR	7-12	Gupta et al., 2001
3B	<u>Sumai 3</u> / <u>HY368</u>	RFLP	-	Armstrong and Procnier, 2001
3B	<u>Ning 894037</u> / <u>Alondra</u>	SSR	29.1	Shen & Ohm 2001
3BS	<u>Sumai 3</u> / <u>Stoa</u>	RFLP	15.4	Waldron et al., 1999
3BS	<u>Sumai 3</u> / <u>Stoa</u>	AFLP	17.6	Anderson et al., 1998
		-	25-42	Anderson et al., 2001
3BS	<u>ND2603</u> / <u>Butte 86</u>	AFLP	15.6	Anderson et al., 1998
3BS	<u>Ning 7840</u> / <u>Clark</u>	AFLP	55.4	Bai et al., 1999
3BS	<u>Madison</u> / <u>W14</u>	SSR	19-23	Chen et al., 2000
3BS	<u>Pionner 2684</u> / <u>W14</u>	SSR	19-23	Chen et al., 2000
3BS	<u>Ning 7840</u> / <u>OH542</u>	SSR	13-15	Gupta et al., 2000, 2001
3BS	<u>Ning 7840</u> / <u>Freedom</u>	SSR	-	Gupta et al., 2000
3BS	<u>Ning 7840</u> / <u>Clark</u>	SSR	34-44	Zhou et al., 2000
3BS	<u>Sumai 3</u> / <u>Gamenya</u> (Type-2)	RFLP, RAPD, SSR	12	Xu et al., 2001
3BS	<u>Fujian5114</u> / <u>Norm</u>	SSR	25	Bowen et al., 2001
3BS	<u>Wuhan 3</u> / <u>Norm</u>	SSR	11-41	McGowan et al., 2001
4BL	Sumai 3/ <u>Stoa</u>	RFLP	7.2	Waldron et al., 1999
5AL	<u>Sumai 3</u> / <u>Gamenya</u> (Type-1)	RFLP, RAPD, SSR	20	Xu et al., 2001
6B	<u>Sumai 3</u> / <u>HY368</u>	RFLP	-	Armstrong and Procnier, 2001
6BS	<u>Sumai 3</u> / <u>Stoa</u>	RFLP	6.0	Waldron et al., 1999
6BL	<u>Sumai 3</u> / <u>Stoa</u>	AFLP	9.0	Anderson et al., 1998
6BL	<u>ND2603</u> / <u>Butte 86</u>	AFLP	6.3	Anderson et al., 1998
7BS	<u>Ning 7840</u> / <u>Freedom</u>	SSR	-	Gupta et al., 2000
ND ^{b)}	<u>Ning 7840</u> / <u>Clark</u>	AFLP	12.3	Bai et al., 1999
ND	<u>Ning 7840</u> / <u>Clark</u>	AFLP	7.5	Bai et al., 1999
ND	<u>Ning 7840</u> / <u>Clark</u>	RAPD	14.5	Bai et al., 1995
ND	<u>Ning 7840</u> / <u>Clark</u>	RAPD	6.1	Bai et al., 1995
ND	<u>Fukuhokomugi</u> / <u>Oligo Culm</u>	RAPD	-	Ban, 1996
ND	<u>Sumai 3</u> / <u>Gamenya</u>	RAPD	-	Ban & Suenaga, 1998
ND	<u>Sumai 3</u> / <u>Emblem</u>	RAPD	-	Ban & Suenaga, 1998

^{a)} アンダーラインは、抵抗性品種

^{b)} ND は座上染色体が不明

3. 穂の形態形質と赤かび病抵抗性

赤かび病抵抗性に開閉花受粉性，葯の残存，条性（大麦），穂密度等の穂形態形質が関与するとされるが，その効果については必ずしも明確ではない。大麦では抵抗性強い品種は全て二条の開花受粉性であることから，これらの形質が赤かび病抵抗性に大きく関与することが考えられる。

準同質遺伝子系統を材料に，穂形態等の形質が赤かび病抵抗性に及ぼす効果について，出穂期，穂の直立・垂頭，穂型（棍棒型）では有意差が見られたが，条性，穂密度及び皮裸性では差は見られないと報告されている（Steffenson et al., 1996）。一方，抵抗性が強い品種であるミサトゴールドンの遺伝的背景を持つ準同質遺伝子系統を材料に行った結果では，開閉花受粉性は赤かび病抵抗性に影響すること（表2），条性遺伝子は抵抗性に影響するがその効果は開閉花受粉性に比べ小さいこと，Deficiens，穎のワックス欠や渦性については効果が判然としないか認められなかった（表3）。

大麦については，開花受粉性は赤かび病抵抗性に関係し，抵抗性を弱くする効果がある。開花受粉性の二条大麦や極少数の裸麦と六条大麦を除けば，大麦の赤かび病抵抗性は弱～やや弱でほぼ例外なく開

表2 開閉花受粉性が赤かび病抵抗性に及ぼす効果

品種・系統名	ポット検定				切り穂検定		
	反復	スコア1	スコア2	罹病小花率(%)	反復	スコア1	スコア2
ミサトゴールドン	8	0.5	1.8	28	7	0.4	0.5
開花 IL of ミサト(1)	6	1.5**	2.8*	32	7	2.1***	4.0***
開花 IL of ミサト(2)	6	1.5**	2.7*	39	7	2.1***	4.2***
開花 IL of ミサト(3)	5	2.0**	3.6**	57**	4	3.0***	5.1***

*, **, *** はそれぞれ，5%，1%，0.1%水準で親品種（原品種）と有意差あり
スコア1，2 はそれぞれ，接種1，2週間目の罹病性スコア

表3 条性，並渦性及び穂密度が赤かび病抵抗性に及ぼす効果

品種・系統名	00 ポット検定			00 切り穂検定		01 ポット検定			01 切り穂検定	
	スコア1	スコア2	罹病小花率(%)	スコア1	スコア2	スコア1	スコア2	罹病小花率(%)	スコア1	スコア2
ミサトゴールドン	0.5	2.9	41	0.4	1.9	0.5	1.8	28	0.4	0.5
六条 IL of ミサト(1)	0.2	2.2	26	0.6	2.7	1.3*	2.2	26	0.1	0.5
六条 IL of ミサト(2)						0.7	2.2	23	0.1	0.1
六条 M of ミサト	0.8	3.7	39	1.0*	1.8	2.0**	3.7**	42	0.1	0.7
ニューゴールドン	1.3	6.1	83	0.4	2.5	0.9	2.5	46	0.0	0.2
六条 M of ニュー	2.7**	7.7*	88	0.7	2.5	1.7	3.8	61	0.0	0.1
ミサトゴールドン	0.5	2.9	41	0.4	1.9	0.5	1.8	28	0.4	0.5
渦 IL of ミサト	1.0	3.3	50	0.2	0.7	1.2	2.2	34	0.2	0.1
関東二条 29号	0.5	4.9	57	1.8	1.3	1.0	2.0	26	0.0	0.2
Def. M of K29	1.5*	5.3	69	0.3	1.7	1.2	3.0	38	0.0	0.1
渦? M of K29						1.3	3.8	47	0.1	0.3
密穂 M of K29						1.5	4.0	58	0.1	0.2
極密穂 M of K29						0.5	2.3	34	0.1	0.1

*, ** はそれぞれ，5%，1%水準で親品種（原品種）と有意差あり
スコア1，2 はそれぞれ，接種1，2週間目の罹病性スコア
IL は準同質遺伝子系統，M は突然変異系統を示す

花受粉性である。大麦については、少なくとも閉花受粉性を導入することにより、抵抗性の強化が図れると考えられる。さらに、世界的に見ても最強の抵抗性を持つ日本の二条大麦を遺伝的背景とし、赤かび病抵抗性に大きく影響する閉花受粉性を付与することにより、二条大麦に近い抵抗性を備えた六条大麦品種の育成が可能と考えられる。

一方、小麦は開花受粉性であるが、唯一閉花受粉性の品種としてU24がある。この系統の赤かび病抵抗性を小麦の抵抗性標準品種と比較した結果を表4に示す。赤かび病抵抗性の検定には「ポット検定」法を用い、比較として供試した小麦標準品種は全て開花受粉性、大麦標準品種のダイセンゴールドやミサトゴールデン、横綱は抵抗性強あるいは中の品種である。U24は圃場やビニールハウスで栽培するかぎりには閉花受粉性が安定している。U24の罹病性スコアは、抵抗性強の蘇麦3号や延岡坊主小麦並みの値を示すが、感染した小穂は褐変が著しくまた赤かび病菌の穂軸へ進展が著しいという特徴が見られ、進展抵抗性は弱いものの感染抵抗性がかなり強いと判定される。小麦の抵抗性育種においても蘇麦3号、延岡坊主小麦、西海165号などが持つ進展抵抗性にU24の持つ閉花受粉性を付与することにより、抵抗性を大きく強化することが可能で、赤かび病抵抗性が強～極強の小麦品種の育成が期待される。

表4 小麦閉花受粉性品種U24の赤かび病抵抗性

品種名	備考	開閉花受粉性	スコア1	スコア2	抵抗性
U24	閉花受粉性小麦	閉花	1.7	2.7	MR
蘇麦3号	小麦標準(VR-R)	開花	1.3	2.3	R
SUMAI #3, AUT	小麦標準(VR-R)	開花	1.7	3.0	MR
延岡坊主小麦	小麦標準品種(VR)	開花	1.7	3.3	MR
西海165号	小麦標準(R)	開花	4.0	5.3	MS
FRONTANA	小麦標準(R)	開花	0.7	3.0	R
新中長	小麦標準(R)	開花	4.0	4.7	M
東海63号	小麦標準(R)	開花	4.7	7.0	S
Gamenya	小麦標準(VS)	開花	4.0	6.3	MS
農林12号	小麦標準(VS)	開花	5.7	7.7	S
ダイセンゴールド	大麦標準(R)	閉花	0.3	1.0	R
ミサトゴールデン	大麦標準(R)	閉花	0.5	1.8	R
横綱	大麦標準(M)	開花	2.0	4.0	MR
Chevron	大麦標準(M)	開花	4.3	6.7	MS

2001年度、ポット検定による罹病性スコア(0-9)と抵抗性スコア1, 2はそれぞれ、接種1, 2週間目の罹病性スコア

4. 赤かび病の発病程度とマイコトキシン産生性

赤かび病の被害は収量減と並んで、産生されるマイコトキシンの汚染が重要である。マイコトキシン汚染の程度は赤かび病の発病程度に比例するの否か、また品種抵抗性との関係については不明な点が多い。九州農研センター中島上席から話題提供があったように、環境条件や栽培地の異なる農家で生産された小麦の罹病程度とDON汚染量との関係を見ても、明確な関係を示すデータは出てこない、DONの汚染量は単純に罹病程度では評価できないという話があった。この関係を明らかにするには、一定の発病条件下において、品種抵抗性とマイコトキシン汚染量との関係、赤かび病菌の菌系とマイコトキシ

ン産生との関係、及びこれらの相互関係を調べる必要がある。以下にこれまでに報告されている結果を示す。

米国の小麦について赤かび病の罹病程度と DON 汚染との関係を見てみると、蘇麦 3 号などに由来する抵抗性系統と罹病性品種との 4 組合せの交雑 F2 個体を用いた試験では、赤かび病罹病粒率と DON 濃度との相関は $r = 0.86$ 、罹病程度と DON 濃度との相関は $r = 0.54$ で、前者には高い相関があると報告されている (Chen et al., 2001)。また、抵抗性程度の異なる多数の小麦品種を用いた試験結果を表 5 に示す。赤かび病罹病程度と DON 汚染との関係を見ると、DON 濃度は赤かび粒率と高い相関があり、罹病程度や小穂罹病率との相関も認められている (Akos Mesterhazy, 2001)。

表 5 小麦品種における赤かび病抵抗性と DON 汚染、収量との関係

形質	罹病程度	小穂罹病率	赤かび粒率	収量減
1999 n = 72				
小穂罹病率	0.996			
赤かび粒率	0.707	0.701		
収量減	0.847	0.838	0.695	
DON 濃度	0.734	0.721	0.893	0.717
2000 n = 56				
小穂罹病率	0.999			
赤かび粒率	0.730	0.725		
収量減	0.516	0.513	0.598	
DON 濃度	0.523	0.523	0.634	0.526

相関係数はすべて 0.1%水準で有意, Akos Mesterhazy, 2001 による

米国におけるもう 1 つ事例として、抵抗性の春播小麦品種を用いた試験結果 (Zhang et al., 2001) をもとに、赤かび病抵抗性と DON 汚染量との関係を図示して示す (図 1)。赤かび罹病指数と DON 汚染量との相関係数は $r = 0.57$ で、赤かび抵抗性の強い品種は DON 汚染が少ない傾向にあるが、同程度の抵抗性であっても DON 産生に幅があることを示している。

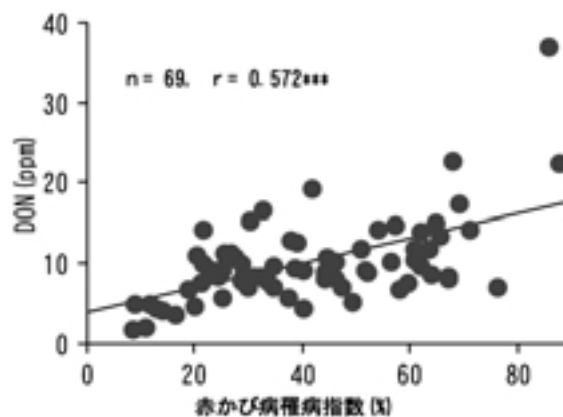


図 1 小麦品種の赤かび病抵抗性と DON 産生量との関係

抵抗性春播品種 69 を供試, 罹病指数は 2000, 2001 年の平均値。
DON 産生量は 2001 年の分析。
Zhang et al., 2001 のデータより作図。

作物研で行っている抵抗性検定に供試した罹病穂を用い、品種抵抗性と DON 濃度との関係を見た結果では、ポット検定材料（ビニールハウス内の赤かび病菌発生に最適の温湿度条件、「大麦の赤かび病抵抗性検定法」を参照）で $r = 0.65$ 、圃場検定材料（圃場条件で散水処理）で $r = 0.51$ の相関があった（図 2、3）。抵抗性と DON 濃度とは有意な相関があるが、同じ罹病性スコアであっても DON 濃度は数倍の変動を示している。この結果は、自然条件下ではあり得ない高発病条件で検定した場合のマイコトキシン産生を見たものであり、実際の圃場条件では赤かび病菌種・系統が異なりマイコトキシン産生性に変異があること、低レベルの発病では発病やサンプリングによる変動が大きくなること、マイコトキシンの分解や雨による流亡、感染・発病時期によるマイコトキシン産生量の変動などが考えられ、発病程度とマイコトキシン産生との関係が不明確になると考えられる。

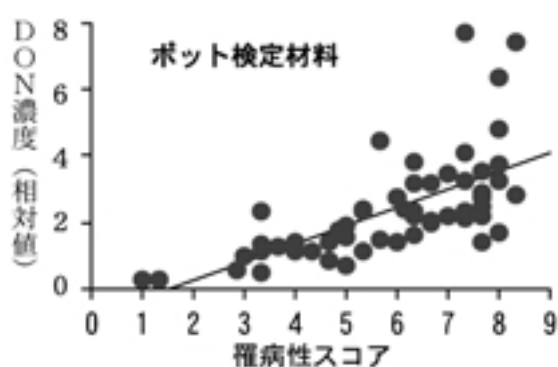


図 2 大麦品種の赤かび病抵抗性と DON 汚染

材料は H-3 菌系を接種しポット検定した 56 品種
 $r = 0.65$, 0.01%水準で有意

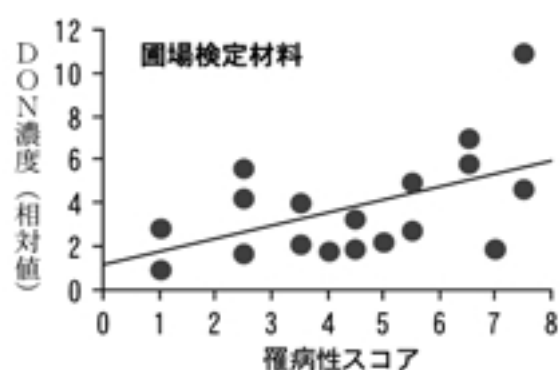


図 3 大麦品種の赤かび病抵抗性と DON 汚染

材料は H-3 菌系を接種し圃場検定した 18 品種
 $r = 0.51$, 5%水準で有意

従来、赤かび病の抵抗性育種においては、マイコトキシンの産生や汚染を考慮せず、赤かび病の発病程度による選抜を行ってきたが、基本的にはこの選抜法で大きなまちがいはないと考えられる。しかし、同一の発病程度であっても品種や検定条件によりマイコトキシン産生量が変わることから、マイコトキシン産生量の把握も併せて行う必要があると思われる。

参考文献

- Steffenson, B. J., Prom, L. K., Salas, B., Fetch, T. G. Jr., Wesenberg, D. M., and Bockelman, H. E. 1996. Severity of Fusarium head blight and concentrations of deoxynivalenol in near-isogenic lines of barley differing for several agronomic characters. in Proc. Seventh Intl. Barley Genetics Symp. 774-776. University Extension Press, Saskatoon, Saskatchewan.
- de la Pena, R. C., Smith, K. P., Capettini, F., Muehlbauer, G. J., Gallo-Meagher, M., Dill-Macky, R., Somers, D. A., and Rasmusson, D. C. 1999. Quantitative trait loci associated with resistance to Fusarium head blight and kernel discoloration in barley. Theor. Appl. Genet. 99: 561-569.
- Van Ginkel, M., W. Van Der Schaar, Y. Zhuping, and S. Rajaram. 1996. Inheritance of resistance to scab in two wheat cultivars from Brazil and China. Plant Dis. 80: 863-867.
- Yao, J., Y. Ge, S. Wang, G. Yao, C. Zhou, and C. Qian. 1997. Chromosomal location of genes for scab resistance in wheat cultivar Sumai 3. Acta Agronomica Sinica 23: 450-453.

- Singh, R. P., H. Ma, and S. Rajaam. 1995. Genetic analysis of resistance to scab in spring wheat cultivar Frontana. *Plant Dis.* 79: 238-240.
- Kolb, F. L., G-H. Bai, G.J. Muehlbauer, J.A. Anderson, K. P. Smith, and G. Fedak. 2001. Host plant resistance genes for Fusarium Head Blight: Mapping and manipulation with molecular markers. *Crop Sci.* 41: 611-619.
- Bai, G-H. 1955. Scab of wheat: Epidemiology, inheritance of resistance and molecular marker linked to cultivar resistance. Ph. D. thesis. Purdue University, West Lafayette, IN. Ban, 1997
- Ban, T. 1997 Genetic analysis of fusarium head blight resistance using wheat doubled haploids. *Proc. Fusarium Head Scab: Global Status and Future Prospects.* 71-78. CIMMYT, Mexico, D. F., Mexico.
- Zhu, H., Gilchrist, L., Hayes, P., Kleinhofs, A., Kudrna, D., Liu, Z., Prom, L., Steffenson, B., Toojinda, T., and Vivar, H. 1999. Does function follow form? Principal QTLs for Fusarium head blight (FHB) resistance are coincident with QTLs for inflorescence traits and plant height in a doubled-haploid population of barley. *Theor. Appl. Genet.* 99: 1221-1232.
- Ma, Z., Steffenson, B. J., Prom, L. K., and Lapitan, N. L. V. 2000. Mapping of quantitative trait loci for Fusarium head blight resistance in barley. *Phytopathology* 90: 1079-1088.
- 堀清純, 小林哲朗, 佐藤和弘, 武田和義, 川崎信二. 2002. 高密度連鎖地図を用いたオオムギ赤かび病抵抗性の QTL 解析. *育種学研究* 4(別 2): 299.
- Pumphrey, M. O. and J. A. Anderson. 2001. Development and characterization of wheat lines near isogenic for a Fusarium head blight QTL. In *Proc. 2001 National Fusarium Head Blight Forum*, Holiday Inn, Cincinnati KY. 271 (http://www.scabusa.org/pdfs/01_VDUN_Web.pdf).
- Gustus, C. and K. P. Smith. 2001. Evaluating phenotypic and marker-assisted selection in the F2 generation for Chevron-derived FHB resistance in barley. In *Proc. 2001 National Fusarium Head Blight Forum*, Holiday Inn, Cincinnati KY. 238 (http://www.scabusa.org/pdfs/01_VDUN_Web.pdf).
- Chen, J., C. A. Griffey, and M. A. Saghai Maroof. 2001. Heredity and molecular markers for wheat scab resistance. In *Proc. 2001 National Fusarium Head Blight Forum*, Holiday Inn, Cincinnati KY. 10-13 (http://www.scabusa.org/pdfs/01_VDUN_Web.pdf).
- Mesterhazy, A. 2001. Results in breeding for resistance against Fusarium Head Blight (FHB) in wheat. In *Proc. 2001 National Fusarium Head Blight Forum*, Holiday Inn, Cincinnati KY. 254-258 (http://www.scabusa.org/pdfs/01_VDUN_Web.pdf).
- Zhang, X., P. Anderson, and Y. Jin. 2001. A procedure of producing *Fusarium graminearum* conidia in large quantities. In *Proc. 2001 National Fusarium Head Blight Forum*, Holiday Inn, Cincinnati KY. 216-219 (http://www.scabusa.org/pdfs/01_VDUN_Web.pdf).