メロンつる割病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*) レース 1,2y 抵抗性台木品種 ‘どうだい 1 号’ 育成過程における抵抗性選抜効果とその抵抗性機作

中住晴彦 ^{*a}・平井 剛

北海道立花・野菜技術センター 073-0026 北海道滝川市東滝川

Selection Effectiveness and Mechanism of Expression in *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* Race 1,2y Resistance in a Breeding Process of Rootstock Cultivar ‘Dodai No. 1’

Haruhiko Nakazumi^{*a} and Goh Hirai

Hokkaido Ornamental Plants and Vegetables Research Center, Takikawa, Hokkaido 073-0026

Abstract

A rootstock cultivar of melon (*Cucumis melo* L.) ‘Dodai No. 1’, which shows remarkable quantitative resistance to race 1,2y of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*, was developed from a cross between ‘Melon Parental Line 1’ ((var. *reticulatus* Naud. × var. *makuwa* Makino) × var. *reticulatus* Naud.) and ‘Tokyo-wase (maruba)’ (var. *conomon* Makino). To clarify the selection effectiveness of resistance, both parents, F₁ line (‘Melon Parental Line 1’ × ‘Tokyo-wase (maruba)’), F₂ line and F₃–F₆ lines were evaluated for resistance by inoculation with *F. oxysporum* f.sp. *melonis* race 1,2y. Resistance was remarkably improved from F₂ to F₃, and moderately improved from F₄ to F₆. These findings indicate that *F. oxysporum* f.sp. *melonis* race 1,2y resistance is controlled by several additive genes derived from both parents. Observation using KOH-aniline blue technique for fluorescent staining of fungi demonstrated that the infection rate and extension of hyphae were suppressed in resistant cultivars and lines. These findings imply that the mechanisms in expression of additive genes are related to suppression of entrance and extension of *F. oxysporum* f.sp. *melonis* race 1,2y hyphae. Furthermore, it seemed that these mechanisms are common among *C. melo* cultivars that have different genetic backgrounds.

Key Words : breeding, disease resistance, mechanism of resistance, quantitative resistance, true resistance

キーワード : 病害抵抗性, 圃場抵抗性, 育種, 真性抵抗性, 抵抗性機構

緒 言

1993年に北海道で発生したメロンつる割病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*.) レース 1,2y (以降, レース 1,2y) (岩田, 1994; 田中・田村, 1997) は, その後急速に蔓延し, 北海道各地のメロン産地に大きな被害をもたらした。そこで, 著者らは抵抗性台木品種育成に向け, レース 1,2y 抵抗性に関する遺伝, 育種学的情報を得るため抵抗性のダイアレル分析を行った。その結果, 抵抗性の遺伝変異は量的遺伝子に支配され, その大部分は相加効果を有する微働遺伝子によると推察した (中住・平井, 2004)。それらの結果を基に抵抗性台木品種の育成を開始し, 1999年にレース 1,2y に強い量的抵抗性を有する抵抗性台木品種 ‘どうだい 1 号’ (旧系統名 ‘空知台 1 号’) を育成した (中住・平井, 1999)。

本報では, ‘どうだい 1 号’ 育成過程でのレース 1,2y 抵抗

性および抵抗性の発現機作について検討し, 選抜初期世代での顕著な選抜効果と, 選抜による抵抗性機作の推移について知見を得たので報告する。

材料および方法

1. ‘どうだい 1 号’ 育成過程における分離世代の抵抗性評価

‘どうだい 1 号’ は, メロン (*Cucumis melo*) の ‘メロン中間母本農 1 号’ (以降, ‘中母農 1 号’) を種子親とし, シロウリ (var. *conomon* Makino) の ‘東京早生 (丸葉)’ (以降, ‘東京早生’) を花粉親とした交配後代から系統育種法によって育成されたメロンつる割病菌レース 1,2y 抵抗性台木品種である (中住・平井, 1999)。「中母農 1 号」は, ‘平塚 3 号’ (ネットメロン, var. *reticulatus* Naud.) × ‘蜜糖埋’ (マクワウリ, var. *makuwa* Makino) の交雑後代に, ‘丸池 3 号’ (ネットメロン) を交配して育成された中間母本で (高田, 1983), メロンの中ではレース 1,2y に対し比較的強い抵抗性を示し (石内ら, 1996), 多くの相加的抵抗性遺伝子を持つと推定された品種である (中住・平井, 2004)。「東京早生」は, ‘中母農 1 号’ よりレース 1,2y 抵抗性が強く (石内ら, 1996), 比較的多くの相加的抵抗性遺伝子と劣性

2006年5月8日 受付. 2006年8月11日 受理.

* Corresponding author. E-mail: nakazuhr@agri.pref.hokkaido.jp

^a 現在: 北海道農政部農業経営局 060-8588 北海道札幌市中央区北 3 条西 2 丁目

の抵抗性遺伝子を持つと推定された品種である（中住・平井, 2004）。

‘どうだい1号’育成に至る各分離世代でのレース 1,2y 抵抗性の変化を明らかにするため、抵抗性の世代間比較を行った。材料は親 2 品種とそれらの F_1 , F_2 , およびレース 1,2y 抵抗性に関して選抜が加えられた世代である F_3 から F_6 系統を供試した。 F_3 以降の系統は、‘どうだい1号’育成の際に各世代で選抜対象個体の残余の種子から養成した。各品種・系統の供試個体数は 32 個体を基本としたが、保存種子量が少ない系統については第1表に示した個体数とした。

幼苗接種検定法は中住・平井（2004）の方法に準じ、発芽約 7 日後の本葉が数ミリに伸長した幼苗を対象に接種試験を行った。接種時の分生孢子懸濁液濃度は 1.0×10^5 個・ mL^{-1} とし、接種後は昼 25°C、夜 20°C に保ったガラス温室内で、日長は 12 時間とし、自然日長で不足する場合はナトリウムランプを用いて補光し、延長した。本試験では強い淘汰圧をかける目的で、中住・平井（2004）の結果で罹病程度が低かった‘中母農1号’が全個体枯死する直前の接種 18～20 日後に発病度を調査した。各個体の罹病程度は飯田（1984）の基準に従い、5 段階の発病指数（0：無病徴，1：子葉の萎凋，2：黄化を伴った軽い萎凋，3：黄化を伴った激しい萎凋，4：枯死）で評価した。各個体および各品種・系統の発病度は、次式によって算出した。

$$\text{発病度} = \Sigma \text{発病指数} \times 100 / (\text{最大発病指数} \times \text{供試個体数})$$

2. レース 1,2y 抵抗性の発現機作

実験 1：レース 1,2y 抵抗性が根部においてどのような機作で発現されているのかを視覚的に知るため、根端部におけるレース 1,2y 菌糸の感染成立の可否および根端部付近から根部組織内に侵入した菌糸の長さを蛍光顕微鏡で観察した。供試した材料および接種方法は分離世代における抵抗性評価試験と同様とし、供試個体数は 1 品種・系統当たり 3 個体とした。感染成立の可否の観察は、1 個体あたり約 25 本、合計 75 本の根端を含む根を無作為抽出して行った。分離世代における抵抗性評価試験では、全個体が枯死する直前の接種 18～20 日後に発病度を調査したが、供試個体中に枯死個体が発生すると、その個体の根部組織が崩壊して観察が困難になることが予想されたため、本実験では全供試個体中に枯死個体が発生する直前の接種 12 日後の個体を供試した。これら全供試個体は地上部を切除して根部を蒸留水で洗浄した。洗浄後の根部の処理および蛍光顕微鏡による観察は、Hood・Shew（1996）の方法に準じて行った。すなわち、洗浄した根部を 1 N の KOH に浸漬してオートクレーブで 121°C、15 分間処理し、蒸留水で 3 回洗浄した後、1 個体から 1～2 cm の根を無作為に 25 本程度切り取ってスライドグラスに乗せ、0.067 M の K_2HPO_4 に溶解させたアニリンブルー 0.05% 液を数滴滴下してカバーグラスをかけ、HBO100-W/2 紫外線バーナーを光源とし、330–385 nm の励起フィルター、420 nm の吸収フィルターを用いた U 励起

法で観察した。

Fusarium oxysporum は根冠表皮の細胞間隙から侵入する（駒田, 1980）と言われており、予備的な観察によっても根冠部付近からの感染が多いことが確認されたため、根冠部および根端から約 1.5 mm の範囲内の分裂帯および伸長帯を観察部位とした。感染成立の確認は、菌糸が根冠内部、皮層および維管束の組織内に達しているかどうかで判断し、1 本以上の菌糸が組織内に達していることが確認されれば感染が成立していると思なし（第 1 図 A, B, C, D, E, G）、（菌糸の感染が確認された根数 $\times 100$ / 観察した根の総数）を感染率とした。根部組織内に侵入した菌糸の長さは、第 1 図 C に示したように菌糸の侵入部位から菌糸末端まで、菌糸の屈曲に沿って蛍光顕微鏡に付設したモニター画面上で計測した。

実験 2：実験 1 において確認された抵抗性機作の品種・系統間差異は、‘どうだい1号’育成過程における分離世代という遺伝的に限定された範囲内での現象であったが、その結果がメロンにおけるより広い遺伝的変異の中においても当てはまるかどうかについて検討した。供試品種は、予備実験の結果から、レース 1,2y 抵抗性について広い変異を示す 5 品種（固定種）を供試した（第 2 図）。試験方法は、接種 7 日後に各品種 3 個体から 50 本の根を無作為抽出して行った他は実験 1 と同様の方法で行った。

結 果

1. 育成過程におけるレース 1,2y 抵抗性の選抜効果

種子親である‘中母農1号’が全個体枯死する直前を目安として発病度を調査したため、その発病度は 97.9、花粉親の‘東京早生’の発病度は 85.6 であった。 F_1 の発病度は 93.8、 F_2 集団の発病度は 91.2 で、いずれも両親の中間の値を示した。しかし、これらの間には統計的な差異はなく（第 1 表）、親や F_1 でほとんどの個体が罹病する強い淘汰圧の下で試験を実施したことが確認できた。

F_2 集団の発病度 91.2 に対し、 F_3 系統の発病度は有意に低い 35.8 であり、最初の選抜における顕著な選抜効果が確認された（第 1 表）。さらに、 F_3 系統から F_4 , F_5 系統に至る間に発病度が世代当たり 10 程度ずつ低下した（第 1 表）。 F_3 系統と F_6 系統間にも有意差があり、選抜中期世代においても選抜効果が累積したことが確認された（第 1 表）。

第 1 表 メロンつる割病菌レース 1,2y 抵抗性品種育成過程における各世代の発病度

世代	品種名	供試個体数	発病度
P (♀)	メロン中間母本農 1 号	32	97.9 a ²
P (♂)	東京早生（丸葉）	31	85.6 a
F_1		32	93.8 a
F_2		32	91.2 a
F_3		32	35.8 b
F_4		24	25.7 bc
F_5		16	16.3 bc
F_6	どうだい 1 号	17	12.4 c

² 異文字間に有意差あり（5%水準，Tukey-Kramer）

第1図 メロン根端組織内でのメロンつる割病菌レース 1,2y 菌糸の蛍光顕微鏡写真

A: 根冠 (a) および分裂帯 (b) から組織内に侵入した菌糸 (h) ((‘メロン中間母本農1号’×‘東京早生 (丸葉)’の F_1 , 接種12日目), B: 導管内および導管周縁部分を伸長する菌糸 (h) (‘メロン中間母本農1号’, 接種12日目), C: 感染箇所 (a) から導管内および導管周縁部分を b 点まで伸長した菌糸 (h) (‘メロン中間母本農1号’, 接種12日目), D: 菌糸が蔓延した‘メロン中間母本農1号’の根端 (接種12日後), E: 菌糸が蔓延した‘東京早生 (丸葉)’の根端 (接種12日後), F: 菌糸の感染がみられない F_6 系統 (‘どうだい1号’)の根端 (接種12日後), G: 菌糸が著しく蔓延した‘金剛1号’の根端 (接種7日後)

F_6 系統である‘どうだい1号’の発病度は12.4であり、レース 1,2y に強い抵抗性を有するとされた‘東京早生’の発病度85.6より顕著に強い量的抵抗性を有することが確認された (第1表)。

なお、 F_3 系統と F_4 系統の間および F_4 系統と F_5 系統の間には10程度の発病度の差があるにもかかわらず、有意差がみられなかったのは、 F_4 系統と F_5 系統の供試個体数が少な

いためであると考えられた。

2. レース 1,2y 抵抗性の発現機作

実験1: 観察の結果、組織内に侵入した菌糸は導管内および導管に沿って基部側に伸長しているのが確認された (第1図A, B, C, D, E, G)。

‘どうだい1号’の両親、 F_1 およびその分離世代では、感染率、根部組織内に侵入した菌糸の長さ、および先に求め

第2図 メロンつる割病菌レース 1,2y 抵抗性品種育成過程における各世代 (A, B, C) およびメロン 5 品種 (D, E, F) の発病度、根端への菌糸の感染率および根端部分に侵入した菌糸の長さの関係

A, B, C) P (♀): ‘メロン中間母本農 1 号’, P (♂): ‘東京早生 (丸葉)’, F₆: ‘どうだい 1 号’

D, E, F) 1: ‘どうだい 1 号’, 2: ‘東京早生 (丸葉)’, 3: ‘メロン中間母本農 1 号’, 4: ‘バーネットヒルフェボリット’, 5: ‘金剛 1 号’

た発病度の3形質間に相互に有意な正の相関関係がみられ、供試した 8 品種・系統は、レース 1,2y による選抜が加えられていない親品種、F₁ および F₂ 集団のグループと、選抜が加えられた F₃ から F₆ 系統のグループの 2 グループに分離した (第2図 A, B, C)。

このことから、根端における感染率の低下および根部組織内に侵入した菌糸の伸長抑制は、レース 1,2y 抵抗性品種育成過程において認められた発病度の経代的な低下 (第1表) と密接な関係にあることが明らかになった。また、F₆ 系統 (‘どうだい 1 号’) は、根端での感染はわずかにみられるが感染率は低く (第2図 A, D)、根部組織内に侵入した菌糸の伸長も抑制されていた (第1図 F, 第2図 B, C)。

実験 2: 実験 1 において確認された結果、すなわち感染率、根部組織内に侵入した菌糸の伸長距離および発病度の 3 形質間に存在する相互に有意な正の相関関係は、メロンにおける広い遺伝的変異の中においても認められた (第2図 D, E, F)。供試品種の中で最もレース 1,2y 抵抗性が弱い ‘金剛 1 号’ は、根端付近から多くの菌糸が組織内に侵入しているのが観察された (第1図 G)。

考 察

‘中母農 1 号’ と ‘東京早生’ との交雑後代を用いて育成された ‘どうだい 1 号’ の選抜過程における抵抗性の世代間比較を行った結果、第1表の F₃ の発病度の大幅な低下に

示されるように、F₂ 世代における選抜で顕著な選抜効果が認められた。この顕著な選抜効果には、‘東京早生’ に由来する劣性抵抗性遺伝子 (中住・平井, 2004) が同型接合化したことが関与している可能性もあるが、‘東京早生’ の発病度が 85.6 と高い値を示したことから劣性抵抗性遺伝子の効果は相対的に小さいと推定される。したがって、F₂ 世代における顕著な選抜効果は主として相加効果を有する比較的少ない数の微働遺伝子の同型接合化であると考えられ、レース 1,2y 抵抗性の多くの部分は相加効果を有する抵抗性微働遺伝子によるものであるとする中住・平井 (2004) および Perchepped・Pitrat (2004) の結果と一致する。

遺伝的背景が異なる両親の交雑後代では微働遺伝子の集積による超越分離が起きやすいと言われている (東, 1995)。本試験の選抜初期世代で顕著な選抜効果が得られ、両親よりも強い抵抗性を有する後代系統が得られたことに関しては、系統分化過程がそれぞれ異なるネットメロンとマクワウリおよびシロウリ (Whitaker・Born, 1954) を材料として用いたことが関与していると推測される。

さらに、F₃ から F₅ 系統までの世代では緩やかな選抜効果の蓄積がみられ、F₃ 世代以降の選抜においても相加効果を有する抵抗性微働遺伝子のホモ接合化が進んだと考えられる。ただし、その選抜効果は F₂ 世代の選抜に比較して小さいことから、メロンの変種間における抵抗性遺伝子の数は全体として比較的少ないと考えられる。この結果は、抵抗

性の広義, 狭義の遺伝率がともに 0.8 以上であるとした中住・平井 (2004) の結果, および染色体倍加系統を用いた実験により, レース 1,2 の抵抗性遺伝子数は 4 ~ 14 であるとした Perchepped・Pitrat (2004) の結果と矛盾しない. 高い狭義の遺伝率と本実験での F_2 世代での選抜効率から見て, 今後レース 1,2y 抵抗性育種にあたって, 分離初期世代での選抜が有効であることを示唆している.

次に, 選抜による抵抗性の変化がどのような機作で生じたかについて検討した. ‘どうだい 1 号’ 育成過程における各世代の根端部分におけるレース 1,2y 菌糸の感染率と根端部分に侵入した菌糸長は F_2 から F_3 世代の間で顕著に低下した. これは, 相加効果を有するレース 1,2y 抵抗性微働遺伝子の集積および同型接合化によって, 根端部分における菌糸の感染に対する抵抗性および組織内に感染した菌糸の伸長に対する抵抗性が増大した結果であると推定された.

Elgersma ら (1972), Conway・MacHardy (1978) は, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* によるトマト萎凋病の真性抵抗性遺伝子の準同質遺伝子系統を用い, 真性抵抗性遺伝子を持つ系統は 1 次根にわずかに感染がみられるが, その後の菌糸の伸長が抑制されることを報告した. 本報の結果もそれらとほぼ同様の結果であることから, 萎凋性の土壌病害に対する真性抵抗性遺伝子と微働遺伝子の抵抗性には共通の機作が存在する可能性がある. しかし, これらの機作の詳細については感染生理学的な検証が必要であろう.

‘どうだい 1 号’ 育成過程における各系統についてみられた発病度と根端部分における感染率および侵入した菌糸長の相関関係はメロンにおける広い遺伝的変異の中においても認められ, これらはメロンにおける一般的な現象であると考えられる. ネットメロンとマクワウリを遺伝的背景に持つ ‘中母農 1 号’ と, シロウリの ‘東京早生’ の抵抗性微働遺伝子座の一部が相互に異なっている可能性があることは先に述べたが, これら両品種の抵抗性遺伝子の抵抗性機作は同様である可能性がある.

したがって, ‘どうだい 1 号’ よりレース 1,2y 抵抗性が強い品種を育成するためには, 根端部分への感染率が低く, 感染しても菌糸の組織内への進展を抑制できる特性を有する遺伝資源をより広範囲に検索し, それらの遺伝子を集積することが重要であると考えられる.

摘 要

メロンつる割病菌レース 1,2y 抵抗性台木品種 ‘どうだい 1 号’ の育成過程において親品種と F_6 世代までの分離系統についてレース 1,2y 抵抗性の世代間比較を行った. この結果, F_2 世代の選抜による抵抗性の顕著な増加と, F_3 から F_5 世代に至る間での抵抗性の漸増が認められた. これらの選抜効果は, ‘どうだい 1 号’ の両親である ‘メロン中間母本農 1 号’ と, シロウリの ‘東京早生 (丸葉)’ の持つ相加的抵抗性遺伝子の集積によると考えられ, その発現機作は, 根端部分におけるレース 1,2y 菌糸の感染率の低下と, 根端部

分に侵入した菌糸の伸長の抑制によることが明らかとなった. また, このことは異なる遺伝的背景を有するメロン品種においても同様であった.

謝 辞 本報告を作成するにあたり帯広畜産大学の三浦秀穂教授には原稿の校閲と示唆に富むアドバイスを頂いた. ここに記して心から感謝の意を表します.

引用文献

- Conway, W. S. and W. E. MacHardy. 1978. Distribution and growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 1 or 2 within tomato plants resistant or susceptible to wilt. *Phytopathology* 68: 938–942.
- Elgersma, D. M., W. E. MacHardy and C. H. Beckman. 1972. Growth and distribution of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in near-isogenic lines of tomato resistant or susceptible to wilt. *Phytopathology* 62: 1232–1237.
- 東 正昭. 1995. イネのいもち病圃場抵抗性の遺伝様式. 東北農試研報. 90: 19–75.
- Hood, M. E. and H. D. Shew. 1996. Applications of KOH-aniline blue fluorescence in the study of plant-fungal interactions. *Phytopathology* 86: 704–708.
- 飯田 格. 1984. 土病病害の実験. I 接種検定法 (接種法と調査法). p. 215–221. 新版土壌病害の手引編集委員会編著. 新版土壌病害の手引. 廣済堂. 東京.
- 石内傳治・岡本 毅・山田文典・小原隆由. 1996. 北海道及び高知県で新たに分離されたメロンつる割病菌に対する抵抗性素材の検索. 園学雑. 65 (別 1) : 190–191.
- 岩田康広・田村 修・角野晶大. 1994. 北海道で発生したメロンつる割病菌の新系統について. 北日本病虫研報. 45: 62–66.
- 駒田 旦. 1980. 土壌フザリウム病菌の生活史. p. 88–102. 作物のフザリウム病. 全国農村教育協会. 東京.
- 中住晴彦・平井 剛. 1999. メロンつる割病 (レース 1,2y) 抵抗性台木新品種候補「空知台 1 号」. 研究成果情報北海道農業 : 104–105.
- 中住晴彦・平井 剛. 2004. メロン (*Cucumis melo*) のつる割病菌 *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* レース 1,2y に対する抵抗性のダイアレル分析. 育学研. 6: 65–70.
- Perchepped, L. and M. Pitrat. 2004. Polygenic inheritance of partial resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* race 1.2 in melon. *Phytopathology* 94: 1331–1336.
- 高田勝也. 1983. 病害複合抵抗性メロン ‘安濃 1 号・同 2 号・同 3 号’ の育成と特性. 野菜試報. A11: 1–22.
- 田中民夫・田村 修. 1997. 北海道における *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* レース 1,2y によるメロンつる割病の発生. 北日本病虫研報. 48: 96–98.
- Whitaker, T. W. and G. W. Bohn. 1954. Mosaic reaction and geographic origin of accessions of *Cucumis melo* L. *Plant Dis. Repr.* 38: 838–840.