

平成21年 6月18日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19580043

研究課題名(和文) メロンうどんこ病抵抗性遺伝子座の詳細解析

研究課題名(英文) Detailed analysis of the powdery mildew resistance locus in melon

研究代表者

吹野 伸子(FUKINO NOBUKO)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・野菜茶業研究所 野菜育種研究チーム・主任研究員

研究者番号：70355626

研究成果の概要：

メロンうどんこ病高度抵抗性系統 AR 5 の持つ第 XII 連鎖群上のうどんこ病抵抗性遺伝子が2つの SSR マーカーに挟まれた約 6cM の領域に座乗することを明らかにした。また、メロン主要産地から収集・単孢子分離したうどんこ病菌 46 菌系の病原性を調査した結果、ほぼすべての菌系はレース 1 より多くの判別品種・系統を侵した。第 XII 連鎖群上の抵抗性遺伝子のみを持つ系統を侵す菌系も出現したが、第 II 連鎖群上の抵抗性遺伝子も併せ持つことによりすべての菌系に対して完全な抵抗性を示し、抵抗性遺伝子を集積することにより広範なレースに対して抵抗性を発揮できることが確認された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：園芸学・造園学

キーワード：野菜

1. 研究開始当初の背景

(1)うどんこ病はメロンの重要病害である。最近では菌のレース分化とそれによる抵抗性品種の罹病化が大きな問題となっており、菌のレースの多様化に対応しうる高度な抵抗性メロンの育成は緊急の課題である。高度で安定した抵抗性発現のためには、レースと各抵抗性遺伝子との関係を明らかにしたうえで、マーカー選抜により抵抗性遺伝子を集積することが必要であると考えられる。

(2)応募者らはうどんこ病菌の広範なレースに対して抵抗性を有する AR 5 (アメリカキ

ヤンタロープ) の持つ抵抗性遺伝子を解析するために、AR 5 と罹病性の‘春系3号’(アールスフェボリット)との交雑後代に由来する組換え型自殖系統を解析材料として、SSR マーカーを主体とする連鎖地図を作製してうどんこ病抵抗性に関する2つの QTL を見出した。このうち第 II 連鎖群上の QTL (以後第1座と呼ぶ)については、すでに連鎖群上の位置を同定し、マーカー選抜に利用している。もう一方の座(以後第2座と呼ぶ)については第 XII 連鎖群の SSR マーカー CMBR111 付近にあることを見出しているが、

環境要因の影響を受けやすいために連鎖群上の詳細な位置の同定には到っていない。

2. 研究の目的

本研究では、連鎖群上の第2座の位置の同定と連鎖するマーカーの開発、ならびにAR5が有する2つの抵抗性遺伝子の種々のレースに対する抵抗性反応を解明することを目的とする。また、その過程において、我が国で主に発生しているうどんこ病菌の病原性を調査する。

3. 研究の方法

(1)データベースおよび論文等で公開されたメロンとキュウリのSSRマーカー485個、並びに中国農業科学院より提供を受けたキュウリEST由来SSRマーカー781個を用いて連鎖地図作成用集団の両親系統(AR5、'春系3号')間における多型のスクリーニングを行った。

(2)組換え型自殖系統の中からうどんこ病抵抗性QTLの第1座両側のマーカーが罹病性親型でありかつ第2座周辺のマーカー型が抵抗性親型である3系統(No.31、40、67)を選抜し、罹病性親の'春系3号'と交雑してF₂およびF₃を育成する。

(3)育成したF₂およびF₃を供試してうどんこ病抵抗性検定を行うとともに第2座周辺のマーカー型を調査し、第2座の連鎖群上の位置を決定する。第2座は環境の影響を受け発現が不安定である可能性もあるので、F₂の反復試験で判定が困難な場合はF₃検定により精密な検定を目指す。

(4)我が国で発生しているうどんこ病菌の病原性を調査する目的で、北海道、茨城、静岡、熊本の産地からうどんこ病菌を収集して単孢子分離を行う。メロンうどんこ病は春よりも秋に激しく発病することが知られているため、茨城、静岡からは春と秋の2回収集を行った。従来報告されているレース判別系統、その他の抵抗性系統、AR5の第1座と第2座の抵抗性遺伝子をそれぞれ有する系統、キュウリ、スイカ、並びにカボチャを用いて接種試験を行い、菌系の病原性を調査する。

4. 研究成果

研究の主な成果

(1)スクリーニングの結果、両親間で多型を示す217個マーカーを見出した。そのうち55マーカーを用いて93組換え型自殖系統(RIL)のジェノタイプングを行い、連鎖地図に追加した。現在までに、236マーカーが座乗する全長1,243cMの連鎖地図が構築された。

(2)F₂集団のマーカー遺伝子型およびうどんこ病抵抗性の結果から抵抗性遺伝子はCMBR111~TJ29~CMBR150の間にあると推測された(表1)。F₂個体では表現型によ

表1 第XII連鎖群上の抵抗性遺伝子を持つ系統と罹病性系統との交雑F₂個体のマーカー遺伝子型およびうどんこ病抵抗性

マーカー遺伝子型 ^{a)}				うどんこ病抵抗性			合計 個体数
CMBR150	CMBR111	TJ029	CMN01-38	抵抗性	中間型	罹病性	
A	A	A	A	36	1	1	38
A	A	A	H	4	1	0	4
A	H	H	H	2	3	0	2
H	A	A	A	3	0	1	4
H	A	A	H	0	1	0	1
H	H	H	A	1	1	0	2
H	H	H	H	5	74	5	84
H	H	H	B	0	2	1	3
H	H	B	B	0	0	1	1
H	B	B	B	1	2	7	10
B	H	H	H	0	2	1	3
B	B	B	B	0	1	3	4
B	B	B	B	1	6	35	41

a) A:抵抗性親型、H:ヘテロ型、B:罹病性親型
組換え型

る抵抗性の判別が困難であるため、第2座周辺の4マーカー間で組換えが観察された個体の自殖により次代F₃種子を得た。得られたF₃系統のマーカー遺伝子型と表現型を調査した結果、2つのSSRマーカーTJ29とCMBR150との間で組換えを起こした個体において抵抗性と罹病性の表現型が出現し、抵抗性遺伝子はこの2つのマーカー間に位置していることが明らかとなった(表2)。

表2 第XII連鎖群上の抵抗性遺伝子を持つ系統と罹病性系統との交雑F₃個体のマーカー遺伝子型およびうどんこ病抵抗性

F ₃ 系統No.	CMBR111	TJ29	CMBR150	表現型	
7	B	B	Pm	A	抵抗性
43	B	B	pm	A	罹病性
46	B	B	Pm	A	抵抗性
54	B	B	pm	A	罹病性
59	A	A	pm	B	罹病性
66	A	A	pm	B	罹病性
94	B	B	pm	A	罹病性
99	B	B	pm	A	罹病性
104	A	A	pm	B	罹病性
108	A	A	pm	B	罹病性
113	B	B	Pm	A	抵抗性
118	B	B	pm	A	罹病性

A:抵抗性親、B:罹病性親、Pm:うどんこ病抵抗性遺伝子

(3)メロン19品種・系統にキュウリ、スイカ、カボチャを加えた計24品種・系統を検定用系統とし、主要産地から収集し単孢子分離したうどんこ病菌46菌系(表3)の接種試験を

表3 採取した菌系の概要

菌系群	採取場所	採取日	作物	品種	供試菌数
I1	茨城研下妻市	2007.6.27	メロン	タカミ	3
I2	茨城研下妻市	2007.10.3	メロン	アールス雅	2
S1	静岡県磐田市	2007.4.27	メロン	アールスフェボリット春系F ₁	16
S2	静岡県磐田市	2007.11.8	メロン	県温冬系2号	9
H2	北海道蘭越町	2007.9.12	メロン	R113	5
H2WM	北海道富良野市	2007.9.27	スイカ	ひとりじめ BonBon	1
K1	熊本県菊池郡	2007.春	メロン	-	10

行った。同一場所から単離した菌系において病原性に大きな差異は見られなかったため、採取時期および採取地により46菌系を7菌系群に分け、菌系群別の結果を表4に示した。ほぼすべての菌系はレース1より多くの判別品種・系統を侵し、北海道のスイカより採取した菌系はレース2Fr、静岡県、茨城県、熊本県および北海道のメロンから採取した菌系は大部分がレース6に近い病原性を持つと

考えられた。また、これらの菌系はうどんこ病強度抵抗性キュウリ‘PI197088-1’を除くキュウリ、スイカ、カボチャに感染可能であり、産地によってはこれまでうどんこ病が問題となっていなかったスイカを侵す菌系も出現していた（表4）。

RILのうち1つの抵抗性遺伝子のみを持つ系統は多くの菌系に対して中程度の抵抗性を示したが、2つの抵抗性遺伝子を併せ持つAR 5はすべての菌系に対して完全抵抗性であった。

表4 メロン、キュウリ、スイカ、カボチャ 24 品種・系統のうどんこ病菌 7 菌系群に対する抵抗性反応

品種・系統	菌系群						
	S1	S2	I1	I2	K1	H2	H2WM
Védrantais	S	S	nt	S-M	S	S	S
PMR 45	R	M-R	M-R	R	M-R	R	S
WMR 29	M-R	M-R	M-R	M-R	M-R	R	R
Edisto 47	R	R	nt	M-R	M-R	R	R
Nantais oblong	S	S	nt	S-M	S-R	S	S
PI 124112	R	R	M	R	R	R	R
PI 414723	R	S-R	M	M-R	M-R	R	R
PMR 5	M-R	M-R	R	R	M-R	R	R
MR1	M-R	M-R	nt	R	M-R	R	R
Georgia 47	S-R	S-R	M	M-R	S-R	M-R	M
久留米2号	S-R	S-R	S-M	S-M	S-R	S	R
平塚1号	M-R	R	nt	M-R	M-R	R	R
Perlita	R	R	R	R	R	R	R
RioGold	M-R	R	R	R	R	R	R
C68	M-R	M-R	nt	R	M-R	R	R
RIL6(PmII) ^{a)}	M-R	M-R	S-M	M-R	M-R	R	M
RIL31(PmXII) ^{b)}	M-R	S-R	M	R	M-R	R	M
AR 5(PmII+PmXII) ^{c)}	R	R	R	R	R	R	R
春系3号	S	S	S-M	S-M	S	S	S
キュウリ(相模半白)	S-M	S-M	nt	S	S	S	S
キュウリ(山東)	M	S-M	nt	M	S-M	S-M	S
キュウリ(PI 197088-1)	R	R	nt	R	R	R	R
スイカ(祭ばやし777)	R	R	nt	S-M	S	M	S
カボチャ(えびす)	S-M	S-M	nt	S-M	S	S-M	S

a)AR 5と春系3号との交雑後代由来RILのうち、第II連鎖群上の抵抗性遺伝子のみを持つ系統
b)AR 5と春系3号との交雑後代由来RILのうち、第XII連鎖群上の抵抗性遺伝子のみを持つ系統
S = Susceptible, R = Resistant, M = Moderately resistant, nt = not tested

以上により、うどんこ病強度抵抗性メロンAR 5の持つうどんこ病抵抗性遺伝子の連鎖群上の座乗位置および我が国主要産地で発生しているうどんこ病菌の病原性が明らかになった。本研究で見出したマーカーを利用して抵抗性遺伝子を集積することにより、我が国で発生しているうどんこ病菌の主要な菌系に対して抵抗性を有する品種を育成することができるかと期待される。

成果の国内外における位置づけとインパクト

メロンうどんこ病菌のレースに関する報告は数多いが、近年我が国の主要産地で発生しているうどんこ病菌の病原性を広範に調査した例はない。近年、ウリ科においては抵抗性品種の罹病化が問題となってきたため、新たな抵抗性品種を育成する必要がある。本研究で明らかになった我が国主要産地におけるうどんこ病菌の菌系の病原性に関する知見は抵抗性品種を育種する際の有用な情報となる。また、第XII連鎖群上のメロンうどんこ病抵抗性遺伝子座についてはこれまで詳細な位置の報告はされておらず、本研究で見出した近傍マーカーは育種選抜に利用可能なマーカーとして注目されている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Hiroshi Ezura, Nobuko Fukino、Research tools for functional genomics in melon (*Cucumis melo* L.): Current status and prospects, Plant Biotechnology, 26 (in press)、査読有

② Nobuko Fukino, Takayoshi Ohara, Antonio J. Monforte, Mitsuhiro Sugiyama, Yoshiteru Sakata, Miyuki Kuniyama, Satoru Matsumoto, Identification of QTLs for resistance to powdery mildew and SSR markers diagnostic for powdery mildew resistance genes in melon (*Cucumis melo* L.), Theoretical and Applied Genetics, 118, 165-175, 2008、査読有

[学会発表] (計 4 件)

①吹野伸子、坂田好輝、松元哲、メロン第XII連鎖群上のうどんこ病抵抗性遺伝子のマッピング、平成21年度日本植物病理学会大会、2009.3.27、山形大学

②Nobuko Fukino、Genome research on melon and cucumber in NIVTS, Japan, The 2008 Cucurbits Genomics Workshop、2008.11.6、中国深川市

③吹野伸子、メロン、キュウリのDNAマーカー研究、園芸学会平成20年度秋季大会小集会、2008.9.26、野菜茶業研究所

④Nobuko Fukino、Towards comparative mapping between melon (*Cucumis melo* L.) and cucumber (*C. sativus* L.) using SSRs as anchors, Plant & Animal Genome XVI, 2008.1.14、アメリカ合衆国サンディエゴ

[その他]

①吹野伸子、國久美由紀、松元哲、小原隆由、杉山充啓、坂田好輝、メロンのうどんこ病及びワタアブラムシ抵抗性に関するDNAマーカーの作出、SSRマーカーによるメロン高密度連鎖地図の作成および有用形質に連鎖するマーカーの開発、研究成果シリーズ第460集「DNAマーカーによる効率的な新品種育成システムの開発」編集・発行：農林水産省農林水産技術会議事務局、2008

②吹野伸子、ウリ科のマーカー・ゲノムリソース整備の現状と展望、平成20年度課題別研究会資料「野菜におけるDNAマーカー利用育種の現状と展望」(野菜茶業研究所)、22-28、2008

6. 研究組織

(1)研究代表者

吹野 伸子(FUKINO NOBUKO)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究
機構 野菜茶業研究所 野菜育種研究チ
ーム・主任研究員
研究者番号：70355626

(2)研究分担者

坂田 好輝(SAKATA YOSHITERU)
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究
機構・野菜茶業研究所 野菜育種研究チ
ーム・チーム長
研究者番号：20450322

(3)連携研究者