

キク矮化病抵抗性を有するスプレーギク新系統の作出

長谷川 徹¹⁾・遠山宏和¹⁾・鈴木良地²⁾・堀田真紀子³⁾・新井和俊¹⁾・伊藤健二¹⁾

摘要：キク矮化病はキク矮化ウイルス(*Chrysanthemum stunt viroid*, CSVd)によって引き起こされるスプレーギクの重要病害である。本研究ではキク矮化病に抵抗性を有するスプレーギク中間母本間で交配と選抜を行うことにより、さらに強い抵抗性を有するスプレーギク14系統を作出した。作出した系統は、花形やスプレーフォーメーションが良いなど比較的高い商品性も有しており、キク矮化病抵抗性の一重咲き品種を育成するための育種素材として有望と考えられる。

キーワード：スプレーギク、キク矮化病、CSVd、抵抗性、一重咲き

緒言

愛知県は全国第一位のスプレーギク生産県である。2015年における出荷本数は8550万本と全国の約34%を占めている¹⁾。近年、県内の産地ではキク矮化ウイルス(*Chrysanthemum stunt viroid*, CSVd)によって引き起こされるキク矮化病が発生し問題となっている。キク矮化病の発症株では茎の伸長不良、葉の小型化と退色等が発生し、商品価値が皆無となる。産地におけるキク矮化病発生リスクを低減するためには、発病株の早期除去や器具・土壌の消毒などの伝染防止対策と共に、抵抗性品種の利用が重要と考えられる。

キクにおける抵抗性品種探索の試みは、Omoriら²⁾、Nabeshimaら³⁾が報告しており、抵抗性のメカニズムは明らかになっていないものの、輪ギク品種「精の一世」、花卉がさじ状のスプレーギク品種「鞠風車」等が強い抵抗性を有することが判明している。しかしスプレーギクにおいて、需要の多い舌状花卉の一重咲き品種に強い抵抗性を持つものは見つかっていない。平野ら⁴⁾は335のキク品種・系統について、未分化分裂組織を高濃度にCSVdを保毒したキクの根に乗せて培養し、接種後のCSVd濃度の推移を調べる方法で抵抗性をA～Dの4グループに分類している。その結果、一重咲きスプレーギクに、接種後も常にCSVd濃度が上昇しない、強い抵抗性を示すグループDの品種・系統は見られなかったものの、一度上昇した濃度が徐々に低下する、弱い抵抗性を示すグループBの品種・系統が存在することを明らかにしている。また、Matsushitaら⁵⁾はデコラティブ咲き品種

「岡山平和」の強い抵抗性が後代に遺伝すること、Omoriら²⁾は品種「うたげ」の後代で親品種よりも強い抵抗性を示す系統が出現したことを明らかにしており、交雑育種による強抵抗性一重咲きスプレーギク品種育成の可能性が示されている。

そこで本研究では、グループBに属する弱い抵抗性を示す系統間で交配を行い、商品性評価と抵抗性検定を行いながら選抜することにより、優れた花色や花形を有するなど高い商品性を持ち、CSVdに対する強い抵抗性も備えた一重咲きスプレーギク系統の作出を試みた。なお、本研究は戦略的重要研究「キクわい化病抵抗性を有するスプレーギク新系統の作出」(県単独事業、2013～2015年度)により実施したものである。

材料及び方法

1 抵抗性検定

抵抗性検定には以下の手法を用いた。

接ぎ木RT-LAMP法：検定する系統から茎長約5 cmの穂を採取し、高濃度にCSVdを保毒した「神馬」を台木にして接ぎ木を行い、5週後に上位展開葉をサンプリングした。反復数を1～4とし、RT-LAMP法(福田ら⁶⁾)により、反応液の濁度が0.05に達するまでの時間が3000秒未満の検体を陽性、それ以上の検体を陰性と判定した。

定量PCR法：接ぎ木RT-LAMP法で陰性と判定された系統について、穂を台木から外して挿し芽を行い、発根苗とした。台木から外して6週後に、苗の上位展開葉をサンプリングした。反復数を1～3とした。Nabeshimaら³⁾

本研究は戦略的重要研究「キクわい化病抵抗性を有するスプレーギク新系統の作出」(2013～2015年度)により実施した。

¹⁾東三河農業研究所 ²⁾環境基盤研究部 ³⁾園芸研究部

(2016.10.12受理)

表1 交配に用いた系統

交配年	系統	花色	特徴	商品性 ¹⁾	キク矮化病抵抗性 ²⁾
2012年	中間母本A	淡ピンク	スプレーフォーメーションが良い、花弁がやや外反する	◎	II
	中間母本B	ピンク	スプレーフォーメーションが良い、花弁が水平まで開く	◎	I
	中間母本C	赤	スプレーフォーメーションが良い、花弁がやや外反する	◎	I
2013年	2013-1-035	オレンジ	スプレーフォーメーションが良い、花弁が外反する	△	III
	2013-2-116	ピンク	花形、スプレーフォーメーションが良い	○	II
	2013-2-148	ピンク	花形が良い、花首がやや短い	○	I
2014年	中間母本A	淡ピンク	スプレーフォーメーションが良い、花弁がやや外反する	◎	II
	2014-1-09	淡ピンク	スプレーフォーメーションが良い、茎がやや軟らかい	○	III
	2014-1-15	ピンク	花形、スプレーフォーメーションが良い、開花がやや遅い	○	III
	2014-3-42	淡ピンク	スプレーフォーメーションが良い、花弁がやや乱れる	○	III
	2014-3-70	オレンジ	スプレーフォーメーションが良い、花弁が水平まで開く	○	III

注 1) 花色、到花日数、花形等から図1の基準に基づき総合的に判断した。◎：優れる、○：普通、△：やや劣る
商品性が「スプレー愛知秋1号」と同程度の系統を◎とした。

2) 定量PCRでCSVd濃度が0.01以上の系統をI型、0.01未満の系統をII型、検出されない系統をIII型とした。

- 1 花色：白色、黄色、ピンク色等鮮やかな花弁色を有していること。
- 2 到花日数：電照打ち切りから開花までに要する日数が56日以内であること。
- 3 花形：花弁が平面状で、外側に反らず、斜め上方の角度を保つこと。
- 4 スプレーフォーメーション：頂花が側花よりも上、または側花と同じ高さにあること。側花同士が適度に離れていること。
- 5 その他：葉焼け、葉の斑点等の症状を発生しないこと。

図1 スプレーギクの商品性に関する主な評価項目と高評価の基準

写真：商品性の優れた品種の例（「スプレー愛知秋1号」）



の方法により定量PCRを行って検体のCSVd/Actinを計測した。CSVd/Actinが0.01以上の系統をI型、0.01未満の系統をII型、未検出の系統をIII型と分類した。

2 交配による新系統作出

事前の開花調査及び定量PCR法により、比較的優れた商品性または抵抗性を有することが判明した一重咲きスプレーギク10系統を交配親に用いた(表1)。商品性に関しては、図1に示した項目で評価した。中間母本A、B、Cは、平野ら⁴⁾の分類でグループBに属し、定量PCR法でII型あるいはI型に属することが判明したもので、有限会社精興園(現イノチオ精興園株式会社)から提供を受けた。2013-1-035始め3系統は2012年に中間母本A、B、Cを交配して得た系統(2012年交配系統)の中から選んだ。2014-1-09始め4系統は2013年に2013-1-035始め3系統を交配して得た系統(2013年交配系統)の中から選んだ。

交配組合せを表2に示した。交配親の発根苗をプランターまたは鉢に定植し、ガラス温室内で開花させた。交配は11月から3月、採種は1月から5月に行った。

種子はマムソイル(三河ミクロン株式会社、豊橋)を入れた200穴セルトレイに3月または5月に播き、実生の本葉が5枚以上展開した後にプランターに定植した。栽培は全て暗期中断4時間の電照下で行った。これらの実生を親株として用い、商品性評価や抵抗性検定用の穂を順次採取した。

3 新系統の商品性評価及び抵抗性検定による選抜

商品性評価及び抵抗性検定による選抜の工程を図2に示した。2012年交配系統は2013年10月31日に接ぎ木RT-LAMP、12月12日に定量PCR、12月25日に開花調査を行った。開花調査用の栽培は硬質フィルムハウス内の地床で

表2 年度別の交配組み合わせ

交配番号	交配親		採種数	播種数	実生数
	種子親	花粉親			
2012年交配					
2013-1	中間母本B	中間母本A	130	130	121
2013-2	中間母本C	中間母本A	624	300	253
	小計		754	430	374
2013年交配					
2014-1	2013-1-035	2013-2-116	100	100	33
2014-3	2013-2-116	2013-1-035	103	103	72
	その他		236	236	68
	小計		439	439	173
2014年交配					
2015-1	中間母本A	2013-2-116	131	100	92
2015-2	中間母本A	2014-1-15	330	100	96
2015-3	中間母本A	2014-3-42	296	100	90
2015-4	中間母本A	2014-3-70	298	100	93
2015-6	2014-1-09	2014-3-42	83	83	73
2015-8	2014-1-15	中間母本A	172	100	89
2015-9	2014-1-15	2014-3-42	142	100	90
2015-11	2014-3-42	中間母本A	18	18	18
2015-12	2014-3-42	2014-1-15	39	39	30
2015-14	2014-3-70	2014-1-15	53	53	46
	その他		288	258	229
	小計		1850	1051	946
	合計		3043	1920	1493

注) 後代で有望系統が出現した交配組み合わせのみ記載

行った。2013年交配系統は2014年10月20日に接ぎ木RT-LAMP、12月2日に開花調査、2015年1月14日に定量PCRを行った。開花調査用の栽培はガラス温室内のプランターで行った。

2012年及び2013年交配の選抜系統と2014年交配系統について、2015年11月開花作型で開花調査を行った。栽培は硬質フィルムハウス内の地床で行った。2012年、2013年交配系統、中間母本系統及び対照品種「スプレー愛知秋1号」は8月14日に挿し芽、8月27日に

	2012年交配系統	2013年交配系統	2014年交配系統
2012年度	交配		
2013年度	実生 374系統 接ぎ木RT-LAMP 34系統 定量PCR 24系統 開花調査 8系統	交配	
2014年度		実生 173系統 接ぎ木RT-LAMP 44系統 開花調査 14系統 定量PCR 12系統	交配
2015年度	開花調査 0系統	開花調査 1系統 接ぎ木RT-LAMP 1系統 定量PCR 1系統	実生 946系統 開花調査 25系統 接ぎ木RT-LAMP 21系統 定量PCR 13系統

図2 交配、商品性評価及び抵抗性検定による選抜の工程

注) 2012年交配系統は定量PCRで選抜されなかった系統も開花調査を行った。

定植し、暗期中断 4 時間の電照下で栽培した。9 月 18 日に電照を打ち切り、以後無加温で栽培した。2014 年交配系統は親株を 8 月 20 日に摘心した後、8 月 27 日に掘り上げて圃場に移植し、以後は 2012 年交配系統と同様に栽培した。2015 年 11 月 13 日に開花調査を行い、「スプレー愛知秋 1 号」と比較して商品性を評価した。商品性の優れた系統を白色、黄色、ピンク色系、オレンジ色系(赤色を含む)の花色別に各 6~8 系統を選抜すると共に、花色別に商品性の順位付けを行った。選抜した系統について 2015 年 2 月 17 日に接ぎ木 RT-LAMP、3 月 29 日に定量 PCR を行い、抵抗性を検定した。

結果及び考察

1 新系統の商品性評価及び抵抗性検定による選抜

年度別の交配組合せと採種数、播種数、実生数を表2に示した。3年間の交配で合計1493実生を得た。

交配年度別の商品性評価及び抵抗性検定の結果を図2に示した。2012年の交配では、抵抗性がⅠ型の中間母本Bと抵抗性がⅡ型の中間母本Aとを交配した組合せ(表2)の中から、抵抗性がより強いⅢ型の系統(2013-1-035、表1)が出現した。Omoriら²⁾は抵抗性品種の後代でより強い抵抗性を有する系統が出現したことを報告しており、本研究でも同様の結果を得ることができた。2013-1-035は花卉が外反し商品性がやや劣るため、最終的に育種素材としては選抜しなかった。しかし、2013年の交配において後代にⅢ型の強い抵抗性を有する系統が数多く得られた(表1、2)ことから、抵抗性の強い系統を作出するための交配親として非常に有用であったと考えられる。

2014年は、商品性が優れる中間母本Aと、2013-1-035の後代で商品性は普通程度の2014-1-09始め4系統を用いて交配を行った。その結果、2012年及び2013年交配系統よりも商品性の優れた系統が多く出現した。2012年交配の選抜系統、2013年交配の選抜系統及び2014年交配系統

の中から、白色、黄色、ピンク色系、オレンジ色系の各色別に商品性の高い6~8系統、合計26系統を選抜したところ、2014-3-43を除く25系統が2014年交配系統であった(表3)。

選抜系統の到花日数は50~56日で、高評価の基準となる56日以内(図1)ではあるものの、対照品種「スプレー愛知秋1号」の48日より遅かった。白色、黄色系統は茎が軟らかい、ボリュームが小さい等商品性が全体的にやや劣る傾向が見られた。一方、ピンク色系、オレンジ色系の系統は花形、スプレーフォーメーションが良い等、商品性が全体的に高い傾向があった。これらは交配の元になった中間母本A、B、Cがピンク色系やオレンジ色系の系統であり、後代に同系統花色の系統が多く出現したことに起因すると考えられる。商品性が優れると評価された系統は、花形、スプレーフォーメーションに関しては一般的な一重咲きスプレーギク品種に近いレベルにあり、開花の早い品種・系統と交配することで、比較的早期に品種化が可能なレベルの後代が出現するものと考えられる。

選抜した26系統について接ぎ木RT-LAMP法及び定量PCR法による抵抗性検定を行った結果、10系統がⅢ型、4系統がⅡ型の抵抗性を有していることが明らかになった。花色と抵抗性の強さとの関連は特に見られなかった。本研究でⅢ型の抵抗性を有すると検定された系統は、CSVd高濃度台木に接ぎ木して5週後のRT-LAMP法で陰性、さらに台木から外して6週後の定量PCR法でCSVd未検出と強い抵抗性が示されたものであり、検定条件が異なるために直接の比較はできないものの、「精の一世」や「鞠風車」と同等レベルの抵抗性を有していることが期待される。抵抗性がⅡ型の系統も交配親には十分に利用できることと考えられたため、Ⅲ型及びⅡ型の抵抗性を有する計14系統を育種素材として選抜した(表3)。

本研究の結果、キク矮化病に強い抵抗性を有し、比較的高い商品性も備えた一重咲きスプレーギク系統を得ることができた。これらの系統を育種素材として用いることで強い抵抗性と高い商品性を備えた一重咲きスプレ

表3 2015年11月開花作型における選抜系統の開花調査及び抵抗性検定結果

商品性 順位 ¹⁾	品種・系統	花色	到花 日数 ²⁾	特徴	商品 性 ³⁾	接ぎ木RT -LAMP ⁴⁾	定量 PCR ⁵⁾	キク矮化病 抵抗性 ⁶⁾
白色	1 2015-1-66	白	55	花形が良い、茎が軟らかい	○	-	nd	III
	2 2015-3-30	白	55	花形が良い、茎が軟らかい	○	-	nd	III
	3 2015-3-41	白	52	花数が多い、花弁が外反する	△	-	0.03	I
	4 2015-1-34	白	51	花数が多い、小輪	△	-	0.06	I
	5 2015-6-62	白	56	ボリュームがやや小さい	△	-	nd	III
	6 2015-4-37	白	56	ボリュームがやや小さい	△	-	0.03	I
黄色	1 2015-1-05	黄	50	花形、スプレーフォーメーションが良い	○	-	nd	III
	2 2015-1-80	黄	55	花形、スプレーフォーメーションが良い	○	-	0.02	I
	3 2015-11-01	黄	55	花形が良い、茎がやや軟らかい	○	-	nd	III
	4 2015-4-73	黄	51	花形が良い、ボリュームが小さい	○	-	0.0003	II
	5 2015-9-18	黄	55	花房の幅が広い	△	nt	nt	-
	6 2015-3-68	黄	56	花弁がさじ状	△	-	0.02	I
ピンク 色系	1 2015-3-81	ピンク	51	花形、スプレーフォーメーションが良い	◎	+	4.8	I
	2 2015-2-91	ピンク	54	花形、スプレーフォーメーションが良い	◎	-	nd	III
	3 2015-8-54	ピンク	54	花形が良い	◎	-	0.001	II
	4 2015-2-55	ピンク	52	スプレーフォーメーションが良い	◎	-	0.1	I
	5 2015-4-47	淡ピンク	53	スプレーフォーメーションが良い	◎	-	0.1	I
	6 2015-12-09	ピンク	51	花形が良い	◎	-	nd	III
	7 2015-8-43	ピンク	51	花形が良い、芯の中央に斑点	○	-	nd	III
	8 2015-2-22	淡ピンク	54	花形が良い、茎がやや軟らかい	○	+	nt	I
オレンジ 色系	1 2014-3-43	オレンジ	54	花形、スプレーフォーメーションが良い	◎	-	nd	III
	2 2015-4-68	オレンジ	50	花形、スプレーフォーメーションが良い	◎	-	0.0007	II
	3 2015-1-50	オレンジ	55	花形が良い、頂花が沈む	○	-	0.004	II
	4 2015-8-73	オレンジ	53	花形が良い、草丈が低い	○	nt	nt	-
	5 2015-14-11	朱	51	花形が良い、やや小輪	○	-	nd	III
	6 2015-2-36	オレンジ	55	スプレーフォーメーションが良い、やや乱弁	◎	-	1.3	I
	中間母本A	淡ピンク	52	スプレーフォーメーションが良い、花弁がやや外反する	◎	-	0.008	II
	中間母本B	ピンク	53	スプレーフォーメーションが良い、花弁が水平まで開く	◎	+	44.3	I
	中間母本C	赤	51	スプレーフォーメーションが良い、花弁がやや外反する	◎	+	8.2	I
	スプレー愛知秋1号	ピンク	48	花形、スプレーフォーメーションが良い	◎	-	0.004	II

注) 2013年交配系統、中間母本系統及び対照品種：挿し芽2015年8月14日、定植8月27日、電照打ち切り9月18日、無加温栽培。2014年交配系統：播種3月23日、摘心8月20日、定植8月27日、以後は2012年交配系統と同じ。

- 商品性の高さから判断した。
- 電照打ち切りから開花までの日数。
- 花色、到花日数、花形等から図1の基準に基づき総合的に判断した。◎：優れる、○：普通、△：やや劣る
商品性が「スプレー愛知秋1号」と同程度の系統を◎とした。
- 反復数1～4。+：陽性、-：陰性、nt：商品性が劣る、または親株の生育が劣り接ぎ木用の穂が採取不能であったため未測定
- 定量PCRにおけるCSVd/ActinでCSVd濃度を計測。反復数1～3。反復のうち最も高いCSVd/Actinの値を示した。nd：未検出、nt：未測定
- 定量PCRにおいてCSVd/Actinが0.01以上の系統をI型、0.01未満の系統をII型、未検出(nd)系統をIII型とした。
-：未測定

一ギク品種の効率的な開発が可能になるものと期待できる。ただ、CSVdでは塩基配列の異なる変異体の発生が報告されている⁷⁾。実用的な抵抗性品種の開発に当たっては、変異体の感染も考慮に入れた抵抗性検定方法の改良も平行して進める必要があると考えられる。

謝辞：本研究は、有限会社精興園(現イノチオ精興園株式会社)からの中間母本提供により実施することができたものである。また同社矢野志野布氏には商品性評価等に多くの貴重なご助言を頂いた。ここに記して深く御礼申し上げる。

引用文献

- 農林水産省大臣官房統計部. 平成27年産花きの作付(収穫)面積及び出荷量. 農林水産統計. (2016)
- Omori, H., Hosokawa, M., Shiba, H., Shitsukawa, N., Murai, K. and Yazawa, S. Screening of Chrysanthemum Plants with Strong Resistance to Chrysanthemum Stunt Viroid. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 78(3), 350-355(2009)
- Nabeshima, T., Hosokawa, M., Yano, S., Ohishi, K. and Doi, M. Screening of Chrysanthemum Cultivars with Resistance to Chrysanthemum Stunt Viroid. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 81(3), 285-294(2012)
- 平野哲司, 服部裕美, 福田至朗. キク矮化ウイルスの伝染方法の再検証とキク矮化病のまん延防止対策. 植物防疫. 67(6), 28-32(2013)
- Matsushita, Y., Aoki, K. and Sumitomo, K. Selection and inheritance of resistance to Chrysanthemum stunt viroid. Crop Protection 35, 1-4(2012)
- 福田至朗, 新美善久, 大石一史, 吉村幸江, 穴井尚子, 堀田真紀子, 深谷雅博, 加藤俊博, 大矢俊夫, 神戸三智雄. 2種のウイルスとキクスタントウイルスを検出するreverse transcription loop-mediated isothermal amplification(RT-LAMP)法の開発. 関西病虫研報. 47, 31-36(2005)
- 松下陽介. 園芸植物における日本国内でのウイルスの発生分布と変異体の感染性. 花き研究所研究報告. 11, 9-48(2011)