

Ken-ichi SAITO and Kazuyoshi TAKEDA : Genetic Analysis of Resistance to Alternaria Blotch (*Alternaria mali* Roberts) in Apple. (Studies on the Breeding of the Apple. VIII) (English summary on p.208)

リンゴ斑点落葉病抵抗性の遺伝 リンゴの交雑育種に関する研究 (第8報)

斎藤 健一¹⁾・武田 和義²⁾

(¹⁾ 弘前大学農学部, 弘前市・²⁾ 岡山大学農業生物研究所, 倉敷市)

リンゴ斑点落葉病抵抗性品種育成の効率を高めるために必要な情報を得る目的で, 抵抗性を異にする8品種間の交雑27組合せ5,733個体(実験1), 抵抗性遺伝子型未知の34品種と実験1で遺伝子型の明らかにされた2つの検定品種との交雑68組合せ7,725個体(実験2)ならびに芽条突然変異体と検定品種との交雑8組合せ1,284個体および自家和合性品種の自殖後代199個体(実験3)を供試して抵抗性の遺伝分析を行った。いずれの実験においても抵抗性には一对の主働遺伝子が関与すると見られ, その遺伝子を *Alt* で示すと抵抗性品種の遺伝子型は *alt alt*, 罹病性品種の遺伝子型は *Alt alt* であった。*Alt* の遺伝子頻度は0.107と推定され, 供試品種の中に *Alt Alt* の遺伝子型は見出されなかった。

KEY WORDS : *Malus pumila*, *Alternaria mali*, Alternaria blotch, disease resistance, seedling test, lethal gene, gene analysis.

緒 言

リンゴ斑点落葉病 (*Alternaria blotch*) は我国では1956年に岩手県において発生が確認され(井藤ら1959), 当初は早期異常落葉(井藤ら1959), 斑点性落葉病(沢村1962)などと呼ばれていたが, 病原菌が *Alternaria mali* Roberts と同定されてからは斑点落葉病と呼ばれている(沢村・柳瀬1963)。本病は, 葉身, 葉柄のみならず, 枝梢, 果実にも褐色または黒褐色の斑点を形成し, 夏季の異常落葉, 樹勢の低下, 果実の生育不良, 花芽形成の低下などを引き起し, 果実の生産量ならびに商品価値を低下させる(星野1965)。このように本病は腐爛病や黒星病と共にリンゴの主要病害の一つであり, これらの病害を防除するために年間10回以上も薬剤が散布されている現状からみて, 抵抗性品種育成による生産コストの低減と環境保全が急務である。

ROBERTS (1914, 1924) 以来, 本病菌の病原性, 生態, 防除, 薬剤耐性の分化, 毒素 (Toxin) などについて多くの報告がある(永井ら1960, 木村ら1962, 沢村・柳瀬1963, 津山ら1971, 沢村1972, 林ら1973, 大沼ら1973, OKUNO *et al.* 1974, UENO *et al.* 1975, 関口1976, KOHMOOTO *et al.* 1977, 鈴木・田中1978, その他)。抵抗性の品種間差異についても井藤・平良木(1959)以来, 多くの報告があり(瀬川ら1960, 木村ら1965, 工藤ら1968, 斎藤ら1975, その他), 印度およびデリシャス系品種の罹病度が著しく, 紅玉, 旭などの抵抗性が強いとされているが, 抵抗性に関する遺伝・育種学的研究は少なく, 品種育成事業における交雑実生の調査から, 印度, デリシャス系品種を交雑親とする組合せでは罹病個体が多く, 罹病性は遺伝形質とみられること(木村ら1965), 正逆交雑には罹病性の差がみられないこと(工藤ら1968), 罹病性は数個の劣性同義遺伝子によって支配されていること(土屋ら1967)などが報告されているにすぎない。一方, 病原性の変異についての報告(沢村1962, その他)は抵抗性品種育成が容易ではないことを示唆してい

る。また、品種の菌に対する反応と Toxin に対する反応は異なる場合もあることが明らかにされている（斎藤ら 1983）。

著者らはリンゴ斑点落葉病に関する育種学的研究によって①抵抗性個体の早期選抜には噴霧接種による幼苗検定、成木の圃場抵抗性検定には切枝検定、また、高度な抵抗性遺伝子源の探索には有傷接種による切離葉検定がそれぞれ適確な検定方法であること（斎藤ら 1975）、②果実と葉身における抵抗性を支配する要因は同じでないこと（斎藤ら 1976）、③細胞質は抵抗性に関与しないこと（斎藤ら 1974）などを明らかにしてきた。また、1975 年以来継続してきた幼苗の葉身における抵抗性の遺伝機構の解析（斎藤ら 1976、斎藤・武田 1979）から、土屋ら（1967）とは異なる遺伝子仮説を持つに至ったので取りまとめ報告する。

材料および方法

実験 1. 1975 年と 1976 年には、抵抗性品種の紅玉 (Jonathan)、祝 (American Summer Pearmain)、ふじ、Golden Delicious と罹病性品種の印度、王鈴、Delicious、Redgold、計 8 品種の品種間交雑による 27 組合せ（一部正逆交雑を含む）の実生 5,733 個体を幼苗検定に供試した (Table 1)。

実験 2. 1976～1980 年には抵抗性品種 Jonathan および罹病性品種 Delicious をそれぞれ共通の花粉親品種として 34 品種と交雑した 68 組合せ、7,725 個体 (Table 3) を供試した。なお、それぞれの品種に Delicious と Jonathan を交配した集団は、後述する播種箱の左右半分に対してして養成し、実験誤差を小さくするように努めた。

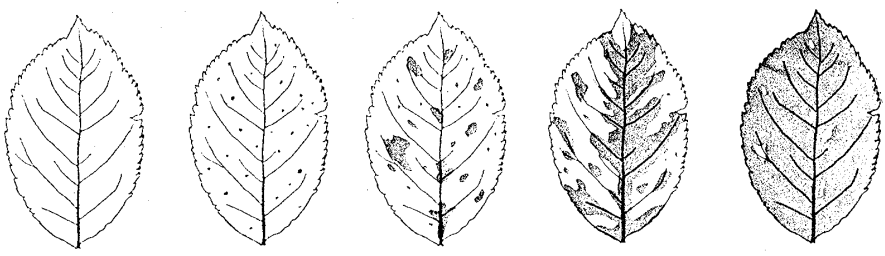
実験 3. 若干の芽条突然変異品種、すなわち国光 (Ralls Janet) に由来する濃紅条国光、Jonathan に由来する Jonared、Delicious に由来する Richared Delicious、Shotwell Delicious および Starking Delicious と実験 1、2 で遺伝子型の明らかにされた検定品種との交雑組合せを作り、実験 1 および 2 の結果と対照しながらそれぞれの芽条変異体の遺伝子型を推定した。なお、リンゴは一般に自家不和合であるが、恵には自家和合性がある（斎藤ら 1978）のでこれを自殖させ、自殖後代における抵抗性の遺伝様式を解析した。

いずれの実験においても、開花 1～2 日前の風船状花期 (balloon stage) に除雄し、前年に採取した貯蔵花粉を綿棒で柱頭に受粉し、直ちに紙袋をかけて自然交雑を防ぐよう留意した。これらの交雑種子は通常の低温処理によって後熟を進め、交雑した年の 12 月から翌年の 4 月に亘り、プラスチック製播種箱 (48×33×7cm) に 90 粒ずつ播種し、育苗した。なお、立枯病予防のため育苗土に殺菌剤 (タチガレン) を混合した。

供試菌系は既報（斎藤ら 1974 など）と同一の AKI-3 とし、V-8 ジュース寒天培地で平面培養した胞子を蒸留水 0.1ml 当り約 8×10^4 個に調整した胞子懸濁液を接種源とした。4～6 葉期の幼苗に播種箱当り約 15ml の接種源を噴霧接種し、25°C、湿度 100% の条件で約 48 時間保った後、個体別に抵抗性程度を判定した。

抵抗性程度の判定基準は既報（斎藤ら 1974、1975）と同様に、幼苗の先端葉から 2～3 番目の最新完全展開葉の罹病程度を病斑指数 0（無病斑）～4（全葉褐変）の 5 段階 (Fig.1) で判定し、その指数を個体の抵抗性程度とした。なお、遺伝分析に際しては病斑指数 0 と 1 を抵抗性 (R)、病斑指数 2～4 を罹病性 (S) として類別した。Fig.1 および瀬川ら (1960) によって明らかなように、病斑には進展型と非進展型があり、病斑指数 1 までの非進展型は実用的に抵抗性とみることができる。

また、本葉展開前に淡緑の状態で致死する個体が分離したので、その分離比を記録した。



Score	0	1	2	3	4
Description	No symptom	Stationary small lesions	Susceptible large lesions	Susceptible larger lesions	Almost complete necrosis
Damaged area (%)	0	0-5	20-50	50-90	90-100
Classification	Resistant	Resistant	Susceptible	Susceptible	Susceptible

Fig. 1. Score of reaction to *Alternaria* blotch in apple seedling leaf.

なお、リンゴには2, 3, 4倍体があるが、本研究の供試材料はいずれも2倍体である。

結 果

実験 1. 供試組合せを罹病性品種間交雑組合せ群 ($S \times S$ 群), 抵抗性品種間交雑組合せ群 ($R \times R$ 群) および抵抗性と罹病性の品種間交雑組合せ群 ($R \times S$ 群) の3群に群別し, 各群における罹病程度 (病斑指数) の頻度分布を Fig. 2 に示した。

1975 年と 1976 年の分布型は基本的に一致していたので, Fig. 2 には両年の合計値を示した。 $S \times S$ 群では R (Fig. 1) の割合が 24.0% で約 1/4, $R \times S$ (または $S \times R$) 群では R の割合が 51.1% で約 1/2 とみられた。一方, $R \times R$ 群では集団の 98.4% が R と判定され, S は 1,352 個体中 22 個体にすぎなかった。

これらの実験結果は, リンゴ斑点落葉病抵抗性が1個の劣性遺伝子に支配され, 供試された罹病性品種はこの主働遺伝子に関してヘテロ型であるという仮説によって良く説明される。この仮説に基づいて分離比の適合度ならびに異質性を検定した結果を Table 1 と 2 に示した。

抵抗性を劣性ホモ型と仮定すると $R \times R$ 群では S は分離しないはずであるが, 前述のように合計 1,352 個体中 22 個体 (1.6%) が罹病性と判定された。ただし, American Summer Pearmain

と Jonathan との組合せでは S が 13 個体 (11.6%) と多かったものの, 他の5組合せでは 0~4 個体にすぎず, また, これら S の病斑指数はいずれも 2 (やや弱) であった。

$S \times S$ 群では R と S の分離比が, 1 組合せを除いて, 期待値の 1 : 3 に適合した。全体 (961 個体) でも良く適合し, 異質性も有意でなかった。

$R \times S$ 群 (または $S \times R$ 群) では 1, 2 の組合せで適合が低かったが, 全体 (3,420 個体) では期待値の 1 : 1 に良く適合した。異質性は 5% 水準で有意と認められたが, こ

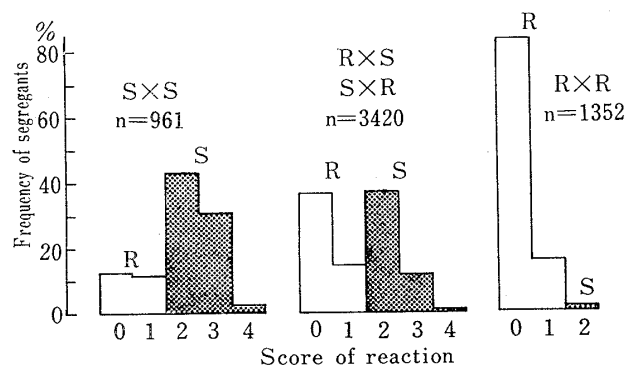


Fig. 2. Segregation mode for *Alternaria* blotch resistance in progenies from susceptible (S) and resistant (R) varietal crosses. Score 0 and 1: Resistant. Score 2, 3 and 4: Susceptible.

Table 1. Segregation for resistance to *Alternaria* blotch in progenies from varietal crosses of apple (Exp. 1)

Parents	Susceptible varieties				Resistant varieties			
	Delicious (LL)	Indo (LL)	Orei (Ll)	Redgold (LL)	Amer. S. P. (Ll)	Fuji (Ll)	Golden Deli. (Ll)	Jonathan (Ll)
Delicious (LL)		96 : 328 (0.4)	15 : 71 (0)	23 : 39 (0)	44 : 42 (0)	226 : 218 (0)	241 : 222 (0)	185 : 186 (0)
Indo (LL)	1.26		58 : 188 (0)	17 : 50 (0)	53 : 42 (0)	187 : 137 (0.2)	178 : 169 (0)	196 : 176 (0.2)
Orei (Ll)	2.62	0.27		21 : 55 (0)	46 : 47 (26.9)	47 : 57 (30.1)	76 : 123 (26.5)	153 : 140 (24.1)
Redgold (LL)	4.84*	0.01	0.28		—	36 : 38 (0)	36 : 43 (0)	43 : 33 (0)
American Summer Pearmain (Ll)	0.05	1.27	0.01	—		52 : 4 (19.2)	85 : 0 (24.8)	99 : 13 (27.6)
Fuji (Ll)	0.14	7.72**	0.96	0.05	—		331 : 4 (25.1)	356 : 1 (20.4)
Golden Delicious (Ll)	0.78	0.23	11.10***	0.62	—	—		407 : 0 (20.3)
Jonathan (Ll)	0.01	1.08	0.58	1.32	—	—	—	

Notes. LL and Ll means genotype for lethal gene *l*, respectively. Numerals above the diagonal show number of resistant and susceptible segregants. Numerals below the diagonal indicate χ^2 value for the goodness of fit; expected segregation mode for susceptible $\times$ susceptible, susceptible $\times$ resistant, and resistant $\times$ resistant is 1 : 3, 1 : 1, and 1 : 0, respectively. *, ** and *** : Significant at the 5%, 1% and 0.1% levels, respectively. Numerals in the parentheses show the percentage of lethal seedlings.

Table 2. Summarized data of segregation mode for *Alternaria* blotch resistance (Exp. 1)

Cross combination	Number of segregants			χ^2 value for	
	Total	Resist.	Suscep.	Goodness of fit	Heterogeniety
Suscep. $\times$ Suscep.	961	230 (240.25)	731 (720.75)	0.58 (1 : 3)	8.69 (df=5)
Suscep. $\times$ Resist. (Resist. $\times$ Suscep.)	3,420	1,747 (1,710)	1,673 (1,710)	1.60 (1 : 1)	24.31*(df=14)
Resist. $\times$ Resist.	1,352	1,330 (1,352)	22 (0)	— (1 : 0)	—

Notes. Numerals in the parentheses indicate the expected number of segregants.

* : Significant at the 5% level.

れは Table 1 に示されるように、王鈴 $\times$ Golden Delicious で S が過多、一方、ふじ $\times$ 印度で R が過多だったことによる。

実験 1 の結果から、若干の例外はあるものの全般的に観察値は期待値と良く一致し、前述の遺伝子仮説が妥当であると推論された。そこで抵抗性遺伝子を菌の学名 *Alternaria mali* にちなんで *Alt* とすると抵抗性品種の遺伝子型は *alt alt*、罹病性品種の遺伝子型は *Alt alt* となる。この仮説がより広範な品種を対象とした場合にも適合するかどうかを確かめ、また、抵抗性の遺伝子型が未知な品種や系統の遺伝子型を知るために、次に述べる実験 2 を計画した。

なお、Golden Delicious と Jonathan は本葉展開前に淡緑の状態で致死する劣性遺伝子 *l* に関してヘテロ型であり (KLEIN *et al.* 1961, 吉田ら 1964), Table 1 に示される王鈴, American

Summer Pearmain およびふじとの雑種個体の約 1/4 (19.2~30.1%, 平均 24.5%) は淡緑で本葉展開前に致死したので, これらの品種の遺伝子型も *Ll* と推定されるが, これらの致死個体を分離する組合せにおいても R と S の分離には乱れが認められず, 従って, *Alt* と *l* は遺伝的に独立とみられた。

Table 3. Segregation for resistance to *Alternaria* blotch in progenies crossed with 'Delicious' or 'Jonathan' (Exp. 2)

Female	Male							
	Delicious (<i>LL</i>)				Jonathan (<i>Ll</i>)			
	Lethal %	Resist.	Suscep.	χ^2	Lethal %	Resist.	Suscep.	χ^2
Susceptible Varieties				(1:3)				(1:1)
Calville Blanc (<i>Ll</i>)	0	27	60	1.69	19.2	29	16	3.76
Early Red Bird (<i>Ll</i>)	0	8	14	1.52	29.5	17	23	0.90
Grenadier (<i>L?</i>)	—	29	70	0.97	—	27	19	1.39
Lodi (<i>LL</i>)	0	54	155	0.08	0	98	75	3.06
White Winter Pearmain (<i>LL</i>)	0	23	52	1.28	0	34	36	0.06
Resistant Varieties				(1:1)				(1:0)
Akane (<i>Ll</i>)	0	55	47	0.63	28.5	64	1	—
Alaska (<i>LL</i>)	0	65	69	0.12	0	112	2	—
Aori 1 (<i>Ll</i>)	0	61	49	1.31	21.1	75	0	—
Aori 36 (<i>Ll</i>)	0	140	124	0.97	28.2	170	3	—
Beauty of Bath (<i>LL</i>)	0	53	42	1.27	0	53	1	—
Black Gilliflower (<i>LL</i>)	0	42	46	0.18	0	56	0	—
Cogswell (<i>LL</i>)	0	37	40	0.12	0	131	0	—
Crimson Gold (<i>LL</i>)	0	16	19	0.26	0	97	1	—
Dunning (<i>LL</i>)	0	70	56	1.56	0	94	0	—
Early Harvest (<i>LL</i>)	0	62	52	0.88	0	101	2	—
Etters Gold (<i>LL</i>)	0	106	95	0.60	0	186	0	—
Fameuse (<i>Ll</i>)	0	68	56	1.16	23.2	82	0	—
Granny Smith (<i>LL</i>)	0	20	27	1.04	0	82	10	—
Jowin (<i>LL</i>)	0	86	91	0.14	0	215	0	—
Megumi (<i>Ll</i>)	0	69	63	0.27	26.3	98	0	—
Monroe (<i>Ll</i>)	0	128	130	0.02	26.9	151	0	—
Mother (<i>Ll</i>)	0	48	44	0.17	21.6	93	0	—
Ortley (<i>Ll</i>)	0	56	64	0.53	27.4	76	0	—
Pink Pearl (<i>LL</i>)	0	59	44	2.18	0	93	13	—
Ralls Janet (<i>Ll</i>)	0	66	62	0.13	26.6	91	0	—
Red Astrachan (<i>LL</i>)	0	56	47	0.79	0	82	2	—
Redhook (<i>LL</i>)	0	60	55	0.22	0	114	0	—
Ruby (<i>LL</i>)	4.3	132	97	5.35*	0	228	0	—
Stark Earliest (<i>LL</i>)	0	97	97	0	0	219	0	—
Tallman's Sweeting (<i>Ll</i>)	0	44	31	2.25	21.6	73	0	—
Wagener (<i>LL</i>)	0	39	28	1.81	0	102	0	—
White Pippin (<i>LL</i>)	0	40	50	1.11	0	98	0	—
Yellow Belflower (<i>Ll</i>)	0	45	55	1.00	25.4	97	0	—
Yellow Transparent (<i>LL</i>)	0	60	39	4.46*	0	90	2	—

Notes. *LL* and *Ll* means genotype for lethal gene *l*, respectively.

* : Significant at the 5% level.

Table 4. Summarized data of segregation mode for *Alternaria* blotch resistance (Exp. 2)

Cross combination	Number of segregants			χ^2 value for	
	Total	Resist.	Suscep.	Goodness of fit	Heterogeneity
Suscep. × Delicious	492	141(123)	351(369)	3.51 (1:3)	2.03 (df=4)
Suscep. × Jonathan	374	205(187)	169(187)	3.47 (1:1)	5.69 (df=4)
Resist. × Delicious	3,599	1,880(1,799.5)	1,719(1,799.5)	7.20**(1:1)	23.33 (df=28)
Resist. × Jonathan	3,260	3,223(3,260)	37(0)	— (1:0)	—

Notes. Numerals in the parentheses indicate the expected number of segregants.

** : Significant at the 1% level.

実験 2. 前述の実験 1 で抵抗性遺伝子型の明らかにされた罹病性品種 Delicious と抵抗性品種 Jonathan を共通の花粉親とする検定交雑を行った。Delicious および Jonathan の遺伝子型はそれぞれ *Alt alt* および *alt alt* と考えられるから、Delicious との交雑において R:S が 1:1, Jonathan との交雑において R 固定となればその品種の遺伝子型は *alt alt*, Delicious および Jonathan との交雑において R:S がそれぞれ 1:3 および 1:1 になればその品種の遺伝子型は *Alt alt*, また, Delicious および Jonathan との交雑がいずれも S 固定となればその品種の遺伝子型は *Alt Alt* としてそれぞれの供試品種の抵抗性遺伝子型を判定した。

供試組合せを罹病性品種 × Delicious, 罹病性品種 × Jonathan, 抵抗性品種 × Delicious および 抵抗性品種 × Jonathan に群別し, R と S の分離様式を Table 3 と 4 に示した。実験は 1976 年から 1980 年の 5 ケ年にわたったが, 年次による特別の差異は認められなかった。

罹病性の 5 品種と Delicious (*Alt alt*) との組合せでは, いずれも R と S の分離が 1:3 の期待値に適合し, 5 組合せ 492 個体の分離比ならびに異質性も有意でなかった。更にこの 5 品種と Jonathan (*alt alt*) との組合せではいずれも 1:1 の期待値に適合し, 5 組合せ 374 個体の分離比ならびに異質性も有意でなかった。従ってこれら 5 品種の遺伝子型を *Alt alt* と判定する。

抵抗性の 29 品種と Delicious (*Alt alt*) との組合せでは Ruby および Yellow Transparent との組合せを除いて, いずれも 1:1 の期待値に適合する分離比が得られたが, 全体では R が過多であった。これは 29 組合せ中 19 組合せで多少とも R が過多だった片寄りが集積された結果と見ることができる (Table 3)。これらの品種の遺伝子型は一応 *alt alt* と推定されるが Jonathan (*alt alt*) との組合せでは 29 組合せ中 10 組合せで S が分離した。Granny Smith および Pink Pearl との組合せでは実験 1 の American Summer Pearmain の場合と同様に S の割合が 11~12% と高かったが, 他の 8 組合せでは S が 1~3 個体にすぎず, 残りの 19 組合せでは S が分離しなかった。

なお, Table 3 に *Ll* と印した品種は Jonathan との交雑で, 淡緑の致死個体を約 1/4 (19.2~29.5%, 平均 25.0%) の割合で分離したが, Table 1 の場合と同様, それによって抵抗性の分離の乱れは認められず, *Alt* と *l* は連鎖していないとみられた。また, 実験 1, 2 を通じて若干の組合せで期待外の致死個体が数本認められたが, これらは *l* 遺伝子によるものではないと考えられる。

実験 3. 芽条突然変異体と実験 1 および 2 で遺伝子型の明らかにされた品種との交雑実験の結果, ならびに恵の自殖後代の実験結果を実験 1 および 2 の結果と対比して Table 5 に示す。

濃紅条国光は Delicious および Jonathan との交雑後代において原品種の Ralls Janet と同一の分離様式を示しており, その抵抗性遺伝子型は原品種と同じく *alt alt* と推定される。また, Jonathan との組合せでは約 12% と期待値の 25% より少ないものの致死個体が分離し, 致死遺伝子型に関しても原品種と同一の *Ll* とみられる。

Table 5. Segregation for resistance to *Alternaria* blotch in progenies crossed with testers and some mutant varieties, and in progenies from selfing of 'Megumi' (Exp. 3)

Cross combination	Lethal %	Resist.	Suscep.	χ^2	Source
Nokojo-Kokko (<i>Ll</i>) × Delicious (<i>LL</i>)	—	86	70	1.64 (1 : 1)	
Ralls Janet (<i>Ll</i>) × Delicious (<i>LL</i>)	0	66	62	0.13 (1 : 1)	Exp. 2
Nokojo-Kokko (<i>Ll</i>) × Jonathan (<i>Ll</i>)	11.9	114	2	— (1 : 0)	
Ralls Janet (<i>Ll</i>) × Jonathan (<i>Ll</i>)	23.6	91	0	— (1 : 0)	Exp. 2
Aori 36 (<i>LL</i>) × Richared Deli. (<i>LL</i>)	0	110	89	2.22 (1 : 1)	
Aori 36 (<i>LL</i>) × Delicious (<i>LL</i>)	0	140	124	0.97 (1 : 1)	Exp. 2
Jonared (<i>L?</i>) × Richared Deli. (<i>LL</i>)	—	64	64	0 (1 : 1)	
Jonared (<i>L?</i>) × Delicious (<i>LL</i>)	—	70	50	3.33 (1 : 1)	
Jonathan (<i>Ll</i>) × Delicious. (<i>LL</i>)	0	185	186	0.01 (1 : 1)	Exp. 1
Jonathan (<i>Ll</i>) × Shotwell Deli. (<i>LL</i>)	0	74	66	0.46 (1 : 1)	
Jonathan (<i>Ll</i>) × Delicious (<i>LL</i>)	0	185	186	0.01 (1 : 1)	Exp. 1
Megumi (<i>Ll</i>) × Richared Deli. (<i>LL</i>)	0	197	167	2.47 (1 : 1)	
Megumi (<i>Ll</i>) × Starking Deli. (<i>LL</i>)	0	37	24	2.77 (1 : 1)	
Megumi (<i>Ll</i>) × Delicious (<i>LL</i>)	0	69	63	0.28 (1 : 1)	Exp. 2
Megumi (<i>Ll</i>) × Megumi (<i>Ll</i>)	19.9	199	0	— (1 : 0)	
Megumi (<i>Ll</i>) × Jonathan (<i>Ll</i>)	26.3	98	0	— (1 : 0)	Exp. 2

Notes. Nokojo-Kokko : Mutant of Ralls Janet (Kokko).

Jonared : Mutant of Jonathan.

Richared Deli., Shotwell Deli. and Starking Deli. : Mutant of Delicious.

LL and *Ll* : Genotype of lethal gene *l*.

Jonared は Delicious との交雑後代において原品種の Jonathan と同一の分離様式を示しており、その抵抗性遺伝子型は原品種と同じく *alt alt* と推定されるが、Jonathan とは交雑不和合なので *l* の遺伝子型は不明である。

Richared Delicious は青り 36 号、原品種および恵との交雑後代において原品種の Delicious と同一の分離様式を示しており、その抵抗性遺伝子型は原品種と同じく *Alt alt* と推定される。Shotwell Delicious は Jonathan、また、Starking Delicious は恵との交雑後代において原品種の Delicious と同一の分離様式を示しており、同じく *Alt alt* と推定される。また、Jonathan (*Ll*) および恵 (*Ll*) との組合せで致死個体が分離しなかったため、これらの Delicious 変異体の致死遺伝子型は原品種と同じく *LL* と認められる。

一方、恵の自殖後代には *S* が見出されず、また、集団の約 20% の個体は淡緑で本葉展開前に致死した。従って、恵の抵抗性遺伝子型は *alt alt*、致死遺伝子型は *Ll* であることが確認されたといえる。

考 察

リンゴは一般に自家不和合性が強く、また、交雑和合性の程度も組合せによって異なる。更に、後代検定には高接ぎなどの世代短縮技術を応用しても数年を要し、その間の材料の維持、大きな圃場面積の確保など、種子作物の場合とは異なる様々な障害があって精密な遺伝分析は容易でない。

リンゴ斑点落葉病とともに重要病害の 1 つであるリンゴ黒星病菌 (*Venturia inaequalis* Cke.

Wint.) に対する抵抗性の遺伝についての報告は比較的多く, SHAY *et al.* (1973) の総説によると, *Malus* 属のいくつかの species ならびに *M. pumila* (リンゴ) に属する品種・系統などの抵抗性は一般に優性であり, 関与する遺伝子の数と作用に基づきその遺伝機構を①1対の主働遺伝子, ②2対以上の主働遺伝子, ③主働遺伝子と等価同義遺伝子の3種に大別できること, また, 主働遺伝子としては6つの対立遺伝子 (*Vf*, *Vm*, *Vr*, *Vb*, *Vbj* および *Va*) が確認されており, その遺伝機構は単純でない。さらに, セイヨウナシの火傷病に関与する遺伝子は2対, 抵抗性が優性であるとの推論 (ALSTON 1973) に対し, THOMPSON *et al.* (1975) は罹病性が1対の優性遺伝子に支配され, 抵抗性は劣性ホモ型 (*se se*) であると反論している。

さらに, 罹病程度は各種の環境要因によって変動する。例えば, リンゴ斑点落葉病菌による罹病程度は葉齢によって変動し, 一般に新葉ほど罹病度が高い (沢村・柳瀬 1963, 津山ら 1971, 斎藤ら 1975, 関口 1976)。リンゴ黒星病の罹病度は宿主の栽培条件によって変動し, 短日ならびに低照度条件における罹病率は長日または高照度条件における罹病率に比較して有意に低かった (LAMB and HAMILTON 1969)。また, 接種条件 (温度, 湿度, 処理期間, 孢子懸濁液の濃度, 接種量など) の違いによって罹病度が変動することは一般に良く知られている。

これらの限られた報告でも明らかなように, リンゴ, ナシなどの果樹の耐病性についての遺伝研究は困難であるばかりでなく, その遺伝機構は単純でない場合が多く, 研究者や供試材料によって結論は必ずしも一致しない。従って, 再現性のある精密な分析をするうえで, 材料 (宿主) の生育条件と接種条件の制御, 菌系の取りあつかいなどに細心の注意をはらわなければならないことが理解されよう。また, ALDWINKLE *et al.* (1976) が指摘しているように, 世代促進技術の開発, 利用さらには宿主特異的毒素 (phytotoxins) による耐病性の検定 (沢村 1966, STROBEL 1982) によって遺伝研究および育種の効率を高めることも有益であろう。

リンゴ斑点落葉病抵抗性の遺伝分析に関しては, 土屋ら (1967) の報告がある。その報告では106の交雑組合せ, 約3,000個体を供試した切枝検定による結果に基づき, 抵抗性は3対の等価同義遺伝子によって支配され, 優性遺伝子が3個以上関与する場合に強い抵抗性 (病斑指数が0で病斑の認められない状態) を示すという遺伝仮説を発表している。しかしながら, その仮説の適合度検定は不適当な自由度に基づいて行われており, 正しい自由度で検定すると21組合せ群のうち10組合せ群で χ^2 値が有意となることから, その仮説は適当でないと判断される。しかしながら, 土屋らの総括によれば抵抗性個体の割合は $R \times R$ 46組合せで93% (1,198/1,282), $R \times S$ 54組合せで53% (819/1,532), $S \times S$ 6組合せで34% (55/162) であり, 本研究の結果 (それぞれ98%, 51% および 24%) と近似した値と見ることができる。

本研究においては, 一部に交雑組合せの欠落があり, また, 致死遺伝子の分離などによって組合せあたりの個体数は平均144と少なく, 後代検定も未了であるが, リンゴ斑点落葉病抵抗性に関する一応の知見が得られたと言えよう。

実験1においては8品種間の総当り交雑 (1組合せを欠く) によって抵抗性が劣性1遺伝子 (*alt*) に支配されると推定され, この仮説は実験2においても矛盾を生じなかったが, 実験1の American Summer Pearmain と Jonathan との組合せでは期待外の *S* が13個体 (11.6%) 現れ (Table 1), 実験2においても Granny Smith および Pink Pearl と Jonathan の組合せで期待外の *S* が11~12% 現れた (Table 3)。これらの *S* の病斑指数は2 (やや弱) なので, 本来は抵抗性である個体が何らかの要因によってやや弱の病徴を示した可能性も否定できないが, 他のほとんどの組合せでは1因子性の分離比に適合しているので, これら3組合せでは *Alt/alt* の他に, その組合せで特異的な相互作用を持つ遺伝子が関与している可能性がある。

Table 6. Gene frequency of *Alt* and expected frequency of genotypes

Genotype	<i>Alt Alt</i>	<i>Alt alt</i>	<i>alt alt</i>	Total
Frequency	p^2 0.0115	$2p(1-p)$ 0.1912	$(1-p)^2$ 0.7973	1.00 1.00
No. of varieties				
Expected	0.48	8.03	33.49	42
Observed	0	9	33	42

$$p=9/84=0.1071$$

このように、2, 3の組合せで変異遺伝子の存在が予想されるものの、本研究の範囲ではリンゴ斑点落葉病抵抗性は1対の主働遺伝子 *Alt*, *alt* に支配され、抵抗性が劣性で見なされる。また、供試された罹病性品種の遺伝子型はすべて *Alt alt* であり、*Alt Alt* の品種は見出されなかった。

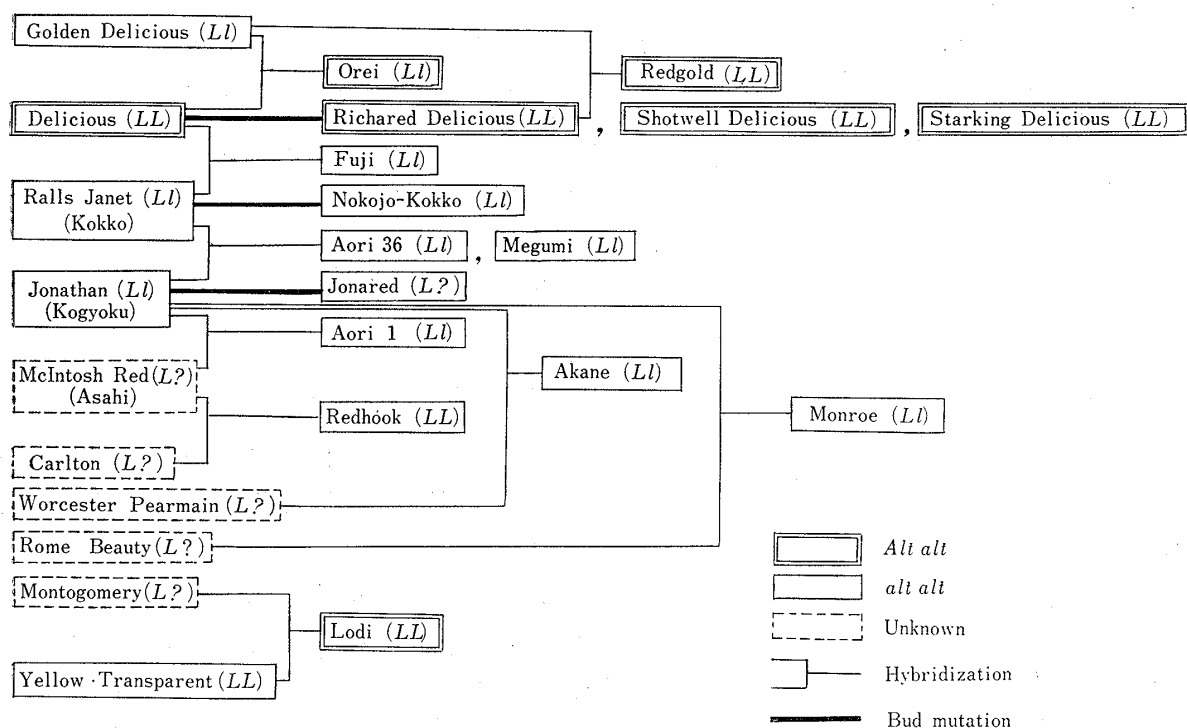
この結果は、ニホンナシの黒斑病抵抗性（小崎 1973）ならびにセイヨウナシの火傷病抵抗性（THOMPSON *et al.* 1975）がそれぞれ1対の主働遺伝子に支配され、抵抗性が劣性で、供試品種の範囲には優性ホモ型の品種が見出されなかったという報告と一致する。優性ホモ型の品種が見出されなかった理由として小崎（1973）はホモ型の罹病性個体が自然感染によって淘汰されたと推論している。

リンゴ斑点落葉病の場合も供試材料の中にホモ型の罹病性品種は見出されなかったが、その理由は *Alt* の遺伝子頻度と供試品種の数によっても説明できる。すなわち、本研究に供試された42品種（芽条突然変異体5品種を除く）のうち9品種が *Alt alt* と判定されたので、*Alt* の遺伝子頻度は $9/84=0.1071$ であり、ハーディ・ワインベルグの法則が成り立つと仮定すると *Alt* ホモ型の頻度は0.0115となる（Table 6）。

すなわち、供試品種の範囲で *Alt* ホモ型の品種が見出されなかったのは *Alt* の遺伝子頻度が低く、*Alt* ホモ型の品種を見出すには供試品種数が不足であったことが理解される。*Alt* と *alt* のどちらが変異遺伝子であるかは不明であるが、罹病性の *Alt* 遺伝子の頻度が11%もあることは、リンゴ斑点落葉病が自然淘汰の淘汰圧としてはあまり強くないことを示唆するものであり、前述のナシの場合のように、罹病性ホモの品種が見出されない理由を自然淘汰に帰するのは無理がある。

また、前述のように、芽条変異体を除く41品種（Grenadier の遺伝子型は不明）中18品種は子葉が淡緑になって本葉展開前に枯死する致死遺伝子 *l* に関してヘテロ型であった。従って、*l* の遺伝子頻度は $18/82=0.2195$ と計算される。

この淡緑致死遺伝子に関する既往の報告を見ると、WILLIAMS (1958) は英国の John Innes 園芸試験場のコレクションの35%（品種数は不明）が致死遺伝子を持つとしており、KLEIN *et al.* (1961) は遺伝子型の判明した20品種中13品種、吉田ら (1964) は22品種中13品種、また WAY *et al.* (1976) は204の2倍体品種中97品種が致死遺伝子に関してヘテロ型であったとしている。これらの致死遺伝子がすべて同一の遺伝子であるか否かは不明であるが、これらの報告にもとづいて致死遺伝子の頻度を試算してみると18~33%の範囲にあり、本実験で推定された22%は平均的な値であることがわかる。*l* が致死遺伝子であるにもかかわらず、その頻度が22%もあることは注目に値する。供試品種が少ないので断定はできないものの、*l* 遺伝子のヘテロ効果、*l* 遺伝子と他の生存上有利な遺伝子との連鎖などによって *Ll* 遺伝子型が何らかの有利性を持つか、自家不和合性との関係などで異類交配 (disassortative mating) が優性である可能性が考えられる。KLEIN *et al.* (1961) は、*l* 遺伝子の頻度が高い理由を何らかの望ましい園芸的形質と *l* 遺



LL and Ll: genotype of lethal gene *l*

Fig. 3. Pedigree and genotype for Alternaria blotch resistance and lethal gene of apple varieties.

伝子が密接に連鎖していることによると説明している。

リンゴの在来品種の多くは偶発実生あるいは芽条突然変異と考えられるが、本研究に供された品種の一部の系譜は Fig. 3 のようにたどることができる。この系譜からみて、Lodi の *Alt* は Montgomery に由来するものとみられ、また、Delicious に由来する *Alt* 遺伝子はふじ以外のすべての交雑後代に受けつがれている。このように *Alt* の伝達率は高いので、リンゴ斑点落葉病罹病性を支配する *Alt* 遺伝子は交雑育種の過程で、ほとんど淘汰の対象になっていなかったとみられ、前述の *Alt* 遺伝子頻度にもとづく推論が支持される。

一方、致死遺伝子 *l* については、 $LL \times Ll$ では後代の 1/2、 $Ll \times Ll$ では致死個体を除く後代の 1/3 が *LL* になるはずであるにもかかわらず、Golden Delicious, Jonathan および Ralls Janet に由来する *l* は Redgold 以外のすべての交雑後代に受けつがれている。これは、前述のように *Ll* 遺伝子型が *LL* よりも何らかの有利性を持っている可能性を示唆するものであろう。

なお、それぞれの品種に含まれる *Alt* および *l* 遺伝子の相同性は厳密には検定されていないが、*Alt* に関しては、①いずれの組合せにおいても分離様式は基本的に 1 因子性と認められること、② Fig. 3 に示される系譜図において *Alt* の伝達が矛盾なくたどれること、③同一菌系による検定であること。また、*l* に関しては、①いずれの場合も分離様式は 1 因子性であること、② Fig. 2 に示される系譜図において *l* の伝達が矛盾なくたどれること。などによって本研究の範囲ではそれぞれ同一の遺伝子と考えている。

また、本研究の幼苗検定で評価された抵抗性と成木の抵抗性の関係も明らかにされなければならないが、供試品種の範囲では経験的に知られている各品種の抵抗性と *Alt* の遺伝子型が一致していた。

本研究で明らかにされたリンゴ斑点落葉病抵抗性の遺伝に関する知見は抵抗性の早期検定を組入れた交雑育種計画、特に交雑母本の選定、組合せ当りの育成個体数決定などに寄与するところが少なくないと考えられる。一方、菌系の分化の有無とそれに対応した抵抗性遺伝子の有無を明らかにする

ことが今後の耐病性育種をすすめるうえで重要な課題である。

謝 辞

本研究を遂行するに当り、終始適切なご批判とご助言をいただいた弘前大学名誉教授中山林三郎博士、実験に便宜をはかれた農学部附属藤崎農場の関係者、実験に協力された育種学教室の卒業生、特に菊地利行、矢萩弘樹、三浦一昭、田沢拓己、南島誠、今智之の諸君に厚く感謝の意を表す。

引用文献

- ALDWINCKLE, H. S., H. L. GUSTAFSON and R. C. LAMB 1976. Early determination of genotypes for apple scab resistance by forced flowering of test cross progenies. *Euphytica* **25** : 185~191.
- ALSTON, F. H. 1973. East Malling Research Station Mimeo (unnumbered) (cited from J. Heredity **66** : 259~264).
- 林 重昭・落合政文・神林哲男 1973. リンゴ斑点落葉病菌に関する研究, 第2報 第2次伝染源および分生孢子飛散について. 福島県園試研究報告 **4** : 33~50.
- 星野好博 1965. リンゴ斑点落葉病とその防除法. 農及園 **40** : 53~57.
- 井藤正一・平良木武 1959. リンゴの早期異常落葉病について. 北日本病虫研年報 **10** : 91.
- 木村甚弥・工藤祐基・瀬川一衛・大友義視・中田良一 1962. 斑点性落葉病に関する研究, 第1報 斑点性落葉病の越冬について. 東北農業研究 **4** : 105~107.
- ・———・大友義視・中田良一 1965. ———, 第5報 罹病性の品種間差異. 北日本病虫研年報 **16** : 47~48.
- KLEIN, L. G., R. D. WAY and R. C. LAMB 1961. The inheritance of a lethal factor in apples. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* **77** : 50~53.
- KOHMOTO, K., T. TANIGUCHI and S. NISHIMURA 1977. Correlation between the susceptibility of apple cultivars to *Alternaria mali* and their sensitivity to AM-toxin I. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* **43** : 65~68.
- 小崎 格 1973. ナン黒斑病抵抗性に関する育種学的研究. I. ナン黒斑病抵抗性の遺伝. 園試報A **12** : 17~27.
- 工藤祐基・大友義視・福島千万男・瀬川一衛・中田良一・松中謙次郎・山田 隆 1968. リンゴ斑点落葉病に関する研究. 青森りんご試報 **12** : 25~122.
- LAMB, R. C. and J. M. HAMILTON 1969. Environmental and genetic factors influencing the expression of resistance to scab (*Venturia inaequalis* Cke. Wint.) in apple progenies. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **94** : 554~557.
- 永井政治・井藤正一・大矢富二郎・瀬川貞夫・平良木武・高橋 壮 1960. リンゴの異常落葉に関する研究. 北日本病虫研年報 **11** : 60~66.
- OKUNO, T., Y. ISHITA, K. SAWAI and T. MATSUMOTO 1974. Characterization of alternariolide, a host-specific toxin produced by *Alternaria mali* Roberts. *Chemistry Letters* 1974 : 635~638.
- 大沼幸男・真田輝夫・江口 潤 1973. リンゴ斑点落葉病における薬剤耐性菌について北日本病虫研年報 **24** : 70.
- ROBERTS, J. W. 1914. Experiments with apple leaf-spot fungi. *J. Agr. Res.* **2** : 57~66.
- 1924. Morphological characters of *Alternaria mali* Roberts. *J. Agr. Res.* **27** : 699~708.
- 斎藤健一・中山林三郎・武田和義 1974. リンゴ斑点落葉病抵抗性の幼苗検定. 農及園 **49** : 923~924.
- ・———・——— 1975. リンゴの交雑育種に関する基礎的研究, 第4報 リンゴ斑点落葉病抵抗性の検定方法. 弘大農報 **24** : 41~48.
- ・———・——— 1976. リンゴ斑点落葉病抵抗性に関する研究, III. 抵抗性の遺伝分析. 育種 **26** 別冊 **1** : 23~29.
- ・武田和義・中山林三郎 1979. リンゴの交雑育種に関する基礎的研究, 第5報 リンゴ斑点落葉病に対する果実ならびに葉身における抵抗性の相互関係. 弘大農報 **26** : 42~49.
- ・———・——— 1978. ———, 第6報「恵」の自家結実性について. 弘大農報 **29** : 41~49.
- ・——— 1979. リンゴ斑点落葉病抵抗性に関する研究, V. 抵抗性の遺伝分析—2. 育種 **29** 別冊 **1** : 56~57.
- ・新関 稔・奥野智旦・肥田野豊 1983. リンゴ斑点落葉病抵抗性に関する研究, VII. Toxin による抵抗性の検定. 育種 **33** 別冊 **2** : 166~167.
- 沢村健三 1962. リンゴの斑点性病害に関する研究, 第1報 斑点性落葉病(仮称)の病源について. 東北農試研報 **23** : 163~175.

- ・柳瀬春夫 1963. ———, 第2報 *Alternaria* sp. による斑点病の病原菌および病名について. 園試報告 C 1: 77~94.
- 1966. ———, 第6報 斑点落葉病菌 (*Alternaria mali* Rob.) の代謝毒素. 園試報告 C 4: 43~59.
- 1972. リンゴ斑点落葉病に関する研究. 弘大農報 18: 152~235.
- 瀬川貞夫・井藤正一・平良木武 1960. りんご異常落葉の病徴と発生分布について. 東北農業研究 2: 165~166.
- 関口昭良 1976. リンゴ斑点落葉病に関する研究. 長野県園試報 12: 1~64.
- SHAY, J. R., L. F. HOUGH, E. B. WILLIAMS, D. F. DAYTON, C. H. BAILEY, J. B. MOWRY, J. JANICK and F. H. EMERSON 1973. Apples. NELSON, R. R. (editor): Breeding for disease resistance. (1st Edition). Pennsylvania State Univ. Press, University Park and London. p. 363~374.
- STROBEL, G. A. 1982. Phytotoxins. Ann. Rev. Biochem. 51: 309~333.
- 鈴木宣建・田中弥平 1978. 青森県津軽地方における斑点落葉病ポリオキシン耐性菌について, 東北農業研究 21: 217~218.
- THOMPSON, J. M., R. H. ZIMMERMAN and T. VAN DER ZWET 1975. Inheritance of fire blight resistance in *Pyrus*. J. Heredity 66: 259~264.
- 土屋七郎・吉田義雄・羽生田忠敬 1967. リンゴの耐病性に関する研究, 第1報 リンゴ交配実生の斑点落葉病抵抗性について. 園試報 C 5: 9~19.
- 津山博之・児玉吉勝・中沢憲夫 1971. リンゴ斑点落葉病菌の感染過程と発病の品種間差異. 岩手大農報 10: 217~231.
- UENO, T., T. NAKASHIMA, Y. HAYASHI and H. FUKAMI 1975. Structures of AM-toxin I and II, host specific phytotoxic metabolites produced by *Alternaria mali*. Agr. Biol. Chem. 39: 1115~1122.
- WAY, R. D., R. C. LAMB, C. PRATT and J. N. CUMMINS 1976. Pale green lethal gene in apple clones. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 101: 679~684.
- WILLIAMS, W. 1958. Pale green lethal in apple varieties. John Innes Hort. Inst. 48th Ann. Rep. 1957: 6~7.
- 吉田義雄・土屋七郎・羽生田忠敬 1964. リンゴ交配実生における白子の発生について. 園芸学会雑誌 33: 93~95.

Summary

Inheritance of resistance to *Alternaria* blotch caused by *Alternaria mali* Roberts in apple was studied. F₁ seedlings were inoculated at their four to six-leaf stage with spore suspension of an *Alternaria* strain AKI-3, and according to the criteria for the reaction, they were classified into R (resistant) and S (susceptible) groups (Figs. 1 and 2).

A total of 27 F₁ cross combinations among eight varieties of known disease reaction were investigated in the first experiment. As the result, segregation ratios of 1 R : 3 S and 1 R : 1 S were found in the parental crosses of S × S and S × R or its reciprocals, respectively, while few susceptible plants were seen in the crosses between resistant varieties.

This will be plausibly explained on the assumption that the resistance to *Alternaria* blotch is controlled by a single recessive gene, and the genic constitution of the susceptible varieties used in this experiment are all heterozygous for the gene pair. So, a gene symbol *Alt alt* is allotted for susceptible vs. resistant condition for this disease.

In ten cross combinations, about a quarter of the seedlings were found to develop pale-green colored cotyledon and young leaves and died within a month, probably because both of their parental varieties were heterozygous for a lethal gene *l*. The gene *l* seemed to be inherited independently of the resistant gene *alt* because any distorted segregation for resistance vs. susceptibility to *Alternaria* blotch was not recognized.

The second experiment was then planned to determine genic constitution of varieties for these gene pairs, *Alt alt* and *L l*. Because the first study had indicated that 'Delicious' and 'Jonathan' had the genic constitution of *Alt alt*, *L L* and *alt alt*, *L l*,

respectively, these two varieties were crossed to 34 varieties to be tested. As shown in Tables 3 and 4, five susceptible varieties were recognized to be heterozygous for *Alt alt*, while the remaining 29 resistant varieties had the recessive gene *alt* in homozygous condition. On the other hand, 13 of the 34 varieties were found to be heterozygous for *L l*.

Because 'Megumi' was particularly self-compatible (SAITO *et al.* 1978), self-pollinated progeny of 'Megumi' was examined for its genotype. This showed the genotype to be *alt alt*, *L l* corroborating of the result of test crossing in the second experiment. Next, several spontaneous mutants for fruit characters were investigated in comparison with those of original cultivars, and their genotypes for *Alt* and *l* genes were recognized to be the same as their originals (Table 5).

From the first and second experiments, gene frequency of *Alt* and *l* was estimated to be 0.11 (9/84, Table 6) and 0.22 (18/82), respectively. Because the frequency of susceptible gene *Alt* is not very low, it may be supposed that natural and/or artificial selection for the Alternaria blotch resistance has not been very rigorous. A high frequency of lethal gene *l* suggests a possibility that disassortative mating (*L L* × *L l*) has been predominant over assortative one (*L l* × *L l*) in nature, or the genotype *L l* has some advantage over *L L*.

K. SAITO

Faculty of Agriculture, Hirosaki University, Hirosaki 036

K. TAKEDA

Institute for Agricultural and Biological Sciences, Okayama University, Kurashiki 710