

# アブラナ科野菜の根こぶ病抵抗性育種

(株)アサヒ農園・農場 <sup>くぎ</sup>釘 <sup>ぬき</sup>貫 <sup>やす</sup>靖 <sup>ひさ</sup>久

## はじめに

根こぶ病 (*Plasmodiophora brassicae* Wor.) はアブラナ科野菜の重要病害で、病気が発生すると病原菌は休眠胞子の状態で長く土壤中で生存し続けるため、輪作による被害軽減効果が小さく、耕種の防除が困難である。また、農薬の過剰施用が社会問題化していることなどから、薬剤防除にも限界があり、減農薬防除体系の確立が強く望まれている。このような情勢を受け、1973年から野菜試験場において根こぶ病抵抗性育種が始まった。本研究において、検定精度の高い早期簡易検定法(病土挿入法)を開発し、日本での根こぶ病菌のレース分布を調査し、抵抗性素材の検索を行い、抵抗性の遺伝様式を解明するなど多くの成果をあげた(吉川, 1993; 釘貫, 2001)。これら基礎研究を基に、多くの根こぶ病抵抗性(CR)品種が育成された。しかし、CR品種の栽培が普及するとともにCR品種が罹病化する事例が知られるようになり、現在ほぼ全国に罹病化地域が広まっている。CR品種の罹病化問題を克服するために、罹病化地域の根こぶ病菌を接種源として新たなCR品種が育成されたが、これら第2世代のCR品種もすでに一部の地域で罹病化することが確認されている(釘貫, 2001)。現在、罹病化に対応した新しい根こぶ病抵抗性育種法の開発が強く求められている。

本報では、根こぶ病抵抗性育種の経過と現在の問題点を整理し、CR品種の罹病化問題に言及するとともに、新しいタイプのCR品種育成の可能性を探る。

## I CR品種罹病化以前の抵抗性育種

### 1 病原力・病原性

野菜試験場において、1970年代に全国から根こぶ病罹病組織を収集し、これらの中で病原力の強弱、また WILLIAMS (1966) および ECD (European Clubroot Differential) 法 (BUZACKI et al., 1975) を用いてレースの分化が認められたが、最も病原力が強い菌(平塚菌)での選抜が他の菌に対する抵抗性にも有効であったこと

から、多くの研究機関および種苗会社で病原力の強い菌が選抜時に用いられた。なお、後述する Ano-01 菌は、平塚菌に由来する。

### 2 簡易検定法の確立

病土挿入検定法(吉川, 1993)の開発により、幼苗で精度の高い検定結果が得られ、一度に多数の株の検定が可能となり、抵抗性育種が効率的に行えるようになった。病土挿入法での検定結果(発病程度)を図-1に示す。

### 3 抵抗性素材の検索

*Brassica rapa* では、ハクサイやツケナで強度抵抗性品種を見いだせなかったが、ヨーロッパの飼料用カブの中に抵抗性素材を見いだした。

*B. oleracea* では、ヨーロッパのキャベツやケールに抵抗性素材を見いだした。

*Raphanus sativus* では、日本の秋ダイコンの多くが抵抗性であった。このため、ダイコンについては抵抗性育種が行われていない。しかしながら、韓国や中国のダイコンには罹病性系統が多かった。

### 4 抵抗性の遺伝様式

平塚菌に対して、ヨーロッパの飼料用カブは主として単因子優性、CR キャベツ 'Böhmerwaldkohl 72755' および 'Böhmerwaldkohl 72756' は量的遺伝を示した。また、CR 遺伝子が結球性などの形質と連鎖が弱いことを明らかにした。

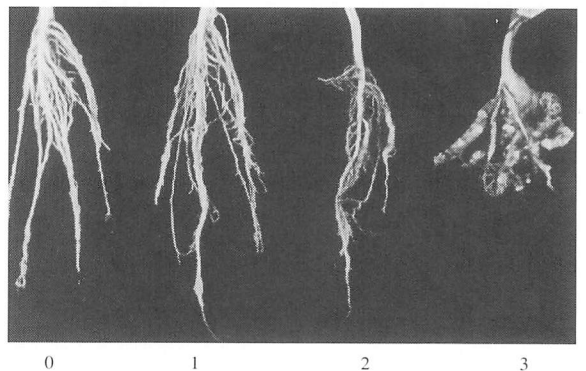


図-1 病土挿入法による根こぶ病検定結果  
数字は発病指数。

Breeding of Clubroot Resistance in Cruciferous Vegetables.  
By Yasuhisa KUGINUKI

(キーワード: 抵抗性育種, 抵抗性品種, 根こぶ病, アブラナ科, ハクサイ, キャベツ)

## 5 中間母本系統の育成

前述の育種素材を用いて、CR ‘はくさい中間母本農1号’～‘はくさい中間母本農5号’、CR ‘かんらん中間母本農1号’、‘かんらん中間母本農2号’、CR ‘かぶ中間母本農1号’などが育成された。

## 6 抵抗性品種の育成

中間母本の育成とほぼ同時期に、‘空海65’、‘隆徳’などのCR品種が育成され、現在では、ハクサイ、ツケナ、カブ、キャベツ、ブロッコリーなどで100以上の根こぶ病抵抗性(CR)品種が市販されている。

## II 抵抗性品種の罹病化と根こぶ病菌の病原性

当初、ハクサイのCR品種はほぼ完全な抵抗性を示したが、現在ではほとんどの抵抗性品種で根こぶ病の発病が認められている(表-1)。このような現象を抵抗性品種の罹病化と呼んでいる。罹病化はキャベツの抵抗性品種でも認められる。

抵抗性品種が罹病化する原因の一つとして、病原菌の

病原性が分化し抵抗性品種が罹病化する事例が知られており(江塚, 1985)、根こぶ病菌においても病原性分化が罹病化の原因である可能性が高いと考え、野菜・茶業試験場で1990年代に根こぶ病菌を再度集め、これらの病原性について検討した(釘貫, 2001)。その結果を以下に要約する。

根こぶ病菌の病原性の分化を確認した報告は複数あり、一般的にWILLIAMS(1966)およびECD法(BUCZACKI et al., 1975)を利用して、レース判別が行われている。しかしながら、ECDおよびWilliamsレース検定法における判別品種は、Date-01菌に対して‘ECD 02’の発病株率が46%、Yuki-01菌に対して‘ECD 03’の発病株率が59%、Rokunohe-01菌に対して‘Jersey Queen’の発病株率が50%、Ano-01菌に対して‘Wilhelmsburger’の発病株率が52%など中間値を示し、抵抗性反応を明確にできない場合が多く、レース判定が困難であった(表-1)。これは、病原菌の病原性が遺伝的に均一でないこと、およびレース判別品種を集団採種により維持・増殖しているために判別品種のCR遺伝子

表-1 採取地の異なる根こぶ病菌のハクサイ類に対する病原性<sup>a</sup>

菌名 品種・系統名	Date-01		Rokunohe-01		Yuki-01		Ano-01	
	発病株率(%)	発病指数 <sup>b</sup>	発病株率(%)	発病指数	発病株率(%)	発病指数	発病株率(%)	発病指数
(飼料用カブ)								
‘Siloga’	15	0.2	0	0.0	20	0.2	27	0.5
‘Gelria R’	22	0.3	9	0.2	37	0.8	17	0.2
‘77 b’	35	0.7	0	0.0	11	0.2	0	0.0
(ハクサイ)								
‘無双’	100	2.9	100	2.9	100	3.0	100	2.7
‘中間母本農1号’	100	2.4	60	1.7	100	3.0	10	0.3
‘中間母本農4号’	100	2.1	70	2.0	77	1.7	0	0.0
‘うたげ70°c’	100	2.8	100	2.7	18	0.4	5	0.1
‘隆徳’ <sup>c</sup>	100	2.7	22	0.5	100	3.0	32	0.4
‘W-807’ <sup>c</sup>	100	2.0	100	2.7	100	2.8	100	2.3
(ナバナ)								
‘京の春’ <sup>c</sup>	— <sup>d</sup>	—	0	0.0	100	2.9	0	0.0
(ECD法の判別品種)								
‘ECD 01’	100	2.3	11	0.1	42	0.7	0	0.0
‘ECD 02’	46	0.6	0	0.0	0	0.0	9	0.1
‘ECD 03’	57	0.9	14	0.1	59	1.0	20	0.3
‘ECD 04’	23	0.3	0	0.0	21	0.3	0	0.0
‘ECD 05’	100	2.8	100	2.2	100	2.7	100	3.0
(Williams法の判別品種)								
‘Badeger Shipper’	100	2.2	0	0.0	100	1.9	67	0.7
‘Jersey Queen’	94	2.2	50	0.7	78	1.5	87	1.7
‘Laurentian’	100	2.6	23	0.5	100	2.2	93	2.0
‘Wilhelmsburger’	88	2.2	5	0.1	77	1.0	52	0.6

<sup>a</sup> 病土挿入法による検定試験を3反復で実施。罹病根の採取地は以下のとおり、Date-01：北海道伊達市、Rokunohe-01：青森県六戸市、Yuki-01：茨城県結城市、Ano-01：三重県安濃町。<sup>b</sup> 発病指数。0：健全、1：軽、2：中、3：甚。図-1参照。<sup>c</sup> 市販の根こぶ病抵抗性F<sub>1</sub>品種。<sup>d</sup> —：未調査。

が遺伝的に固定されていないことが原因であると考えられた。これに対して、CR 遺伝子が比較的均一であると推定される F<sub>1</sub> 品種の中に、抵抗性反応が明確な品種があった。これら市販 CR ハクサイ品種の抵抗性反応から、4 菌は以下のように分類し得ると考えた (KUGINUKI et al., 1999)。

- ① ‘隆徳’および‘うたげ70’を罹病化する Date-01 菌
- ② ‘うたげ70’を罹病化する Rokunohe-01 菌
- ③ ‘隆徳’を罹病化する Yuki-01 菌
- ④ ‘隆徳’および‘うたげ70’が抵抗性を示す Ano-01 菌

### III B. rapa における根こぶ病抵抗性遺伝子

‘はくさい中間母本農1号’、‘同農4号’は、これらの選抜の際に用いた Ano-01 菌に対して抵抗性を示したが、Date-01 菌、Rokunohe-01 菌および Yuki-01 菌に対して罹病性となった (表-1)。Date-01 菌では供試したすべての CR ハクサイ品種・系統が罹病化したが、これら CR 品種の育種素材である飼料用カブはなお抵抗性を示した。これから、これら CR カブは中間母本が持つ CR 遺伝子と働きが異なる CR 遺伝子を持つのではないかと推定された。

‘W-807’は病原性の異なる4菌に対する抵抗性反応に大きな差がなく、ともに中間値を示した (表-1)。このことから、‘W-807’は、他の CR 品種とは異なる圃場抵抗的な CR 遺伝子を有するのではないかと推定された。

以上の結果から、ハクサイ類 (*B. rapa*) には、作用が異なる複数の CR 遺伝子が存在すると推定される。

### IV DNA マーカーの検索

前述したように、根こぶ病菌の病原性分化が CR 品種の罹病化の一因であると推定される。また、異なる病原性を持つ各菌に対する抵抗性反応の異なる複数の CR 遺伝子の存在が示唆されている。しかしながら、現在、これら複数の CR 遺伝子を識別し、育種に利用することはできない。そこで、異なる病原性を持つ各菌に対する CR 遺伝子と連鎖した DNA マーカーを検索し、これらマーカーを用いた選抜法を開発する研究が進められている (釘貫・南, 2000)。

本研究を行うために、根こぶ病菌の病原性および判別品種の CR 遺伝子を遺伝的に均一にする必要があり、以下のようなことが検討されている。

#### 1 根こぶ病菌の病原性の均一化

同一圃場内に異なる病原性を持つ菌が混在することが知られているが (JONES et al., 1982), 根こぶ病菌は人工

培地での維持・増殖ができないために、病原性を均一にすることが困難である。現在、1 個の休眠胞子を根に感染させ、これから根こぶ病菌株 (単体休眠胞子由来菌株) を作ることで、病原性を均一にする試みがなされている (KAGEYAMA et al., 1995)。しかし、休眠胞子が多核となる場合が知られており、病原性の均一性を確認する方法が現時点では確立されていない。

#### 2 判別品種の CR 遺伝子の均一化

アブラナ科野菜では、小孢子 (未成熟花粉) 由来の Doubled Haploid (DH) 系統の作出に成功し (釘貫・塚崎, 2000), 純系を判別品種として利用することが可能となった。現在、純系を用いたレース判別法の開発が進められている。

#### 3 DNA マーカーの検索

DNA マーカーは、複数の CR 遺伝子を集積するような育種場面で非常に有用な手法である。*B. oleracea* で CR 遺伝子をマッピングした報告が複数あり、また *B. napus* から *B. oleracea* へ導入した CR 遺伝子をマッピングした報告もある。しかしながら、*B. rapa* での CR 遺伝子のマッピングの報告はほとんどない。そこで、Ano-01 菌に対する CR 遺伝子と連鎖する RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) マーカーを検索し (KUGINUKI et al., 1997), その STS (Sequence Tagged Sites) 化を行った (KIKUCHI et al., 1999, 図-2)。Ano-01 菌と病原性が異なる根こぶ病菌に対する CR 遺伝子と連鎖した DNA マーカーの検索により、CR カブが持つ複数の有用な CR 遺伝子を認識でき、*Brassica* 属作物にこれら複数の CR 遺伝子を集積することで、新たな CR 品種を育成することが可能になると考える。

### V 今後の根こぶ病抵抗性育種研究

#### 1 根こぶ病抵抗性の QTL 解析

野菜茶業研究所では、ハクサイ類 (*B. rapa*) で DH 集団および F<sub>2</sub> 集団を用い、RFLP, SSR, RAPD などからなる連鎖地図の作成を試みている。この地図を用いれば、病原性の異なる各菌に対する根こぶ病抵抗性遺伝子をマッピングすることが可能となる。これにより、複数の CR 遺伝子と連鎖する DNA マーカーを検索し、作用性の異なる複数の CR 遺伝子の識別が可能となろう。

DNA マーカーにより、現在識別できない複数の遺伝子座を認識できるようになれば、抵抗性反応の異なる複数の CR 遺伝子の集積が可能となる。このような選抜・検定法の確立が試みられている。CR 遺伝子の集積により、多様な病原性に対応した罹病化しにくい新しいタイプの CR 品種 (レース複合抵抗性品種など) の育成が可

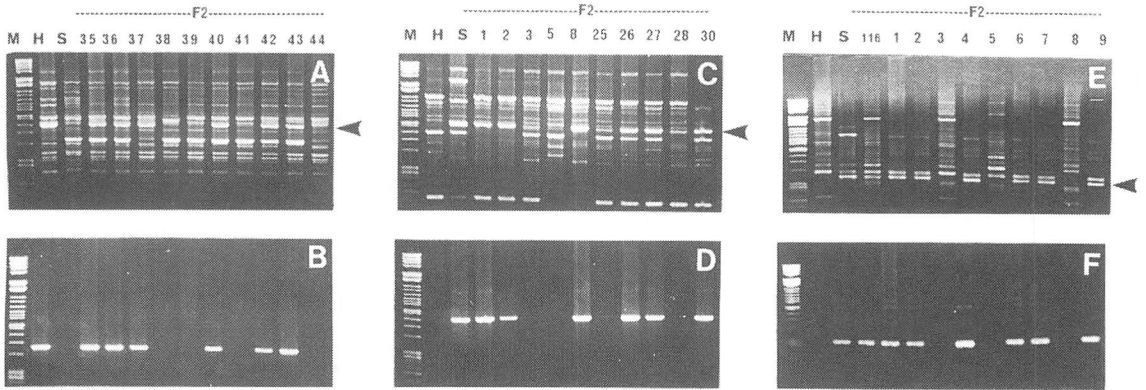


図-2 RAPD マーカーと STS マーカーのバンドパターン

上段 (A, C, E) が RAPD でのバンドパターン. 矢印が根こぶ病抵抗性と連鎖しているバンド. 下段 (B, D, F) は, 上段のバンドを STS 化したプライマーを使って得たバンドパターン. H: 'Homei P 02', S: 'Siloga S 2', F<sub>2</sub>: H と S を両親とする F<sub>2</sub> 分離集団. 上段と下段は同一個体. M: は分子量マーカー.

能となるものと考える。

## 2 Differential display 法による CR 遺伝子の検索

アブラナ科植物で根こぶ病感染時に特異的に発現する遺伝子を検索する。例えば, ある菌に対して抵抗性を示すが別の菌に対しては罹病性である純系を作り出し, 抵抗性反応時だけに特異的に発現する mRNA を検索する。現在, 実験系が開発されつつある。

## 3 ダイコンの CR 遺伝子の導入

ダイコンの CR 品種の抵抗性は, 非常に安定しており, これを *Brassica* 属へ導入する試みが行われている。雑種後代での採種効率が著しく低いことが障壁となっている。

## 4 *Arabidopsis thaliana* の情報を利用

アブラナ科のアラビドプシスでは全塩基配列が発表され, CR 遺伝子座がマッピングされている。また病害抵抗性遺伝子は類似した構造を持つことが知られており, 近い将来にアラビドプシスで CR 遺伝子が単離されるかもしれない。この CR 遺伝子を利用すれば, *Brassica* 属で CR 遺伝子が検索できるかもしれない。

## VI 根こぶ病防除に関連した研究

### 1 おとり植物

CR 葉ダイコンを栽培すると, 作付けしない区に比べ土壌中の休眠孢子密度が 70~90% 低下することが明らかにされた。CR 葉ダイコンでハクサイと同様に根毛感染するものの根こぶを形成しないことから, 葉ダイコンがおとり植物として機能していることが示唆され, 実用化を目指した試験が実施されている (對馬, 2000)。

### 2 抑止的土壌

東北農業研究センター (福島市) では, 普通黒ボク土 (HA-soil) と淡色黒ボク土 (LA-soil) を用いた接種試験の結果, 同一の接種菌密度では淡色黒ボク土は普通黒ボク土に比べ常に根こぶ病の発病程度が低く, 普通黒ボク土に比べ抑止的土壌であることが明らかにされた (MURAKAMI et al., 2002)。

### 3 エンドファイト

植物根内での相互作用に注目し, ハクサイ根内に共生するエンドファイト (*Heteroconium chaetospora*) を供試し, ハクサイで根こぶ病菌の接種試験を行い, 効果的に病害を抑制できることが確認された。さらに, エンドファイトの根内への定着が病害抑制の鍵であることを明らかにし, 製品化への試みがなされている (NARISAWA and HASHIBA, 1998)。

### 4 病徴発現の抑制

*Phoma glomerata* がアブラナ科野菜根こぶ病に対する生物防除活性を示すことを見だし, エポキシドン (epoxydon) が, この生物防除活性の効果要因本体であることを明らかにした。本物質は当該濃度では糸状菌や細菌に対する抗菌性を示さず, メカニズムは抗菌性以外にあると考えられた。

根こぶ形成時にアブラナ科植物の組織内に多量のオーキシシンが生成され, こぶ肥大に重要な役割を果たしている。そこで, 市販の反オーキシシン物質を用いてエポキシドンと同様な活性を示すかを調査し, 反オーキシシン物質のうち 6 種類でエポキシドンと同様な根こぶ形成阻害活性が認められた (ARIE et al., 1996)。

## おわりに

根こぶ病は、単一の技術だけで簡単に防除できる病害ではない。新たな抵抗性品種の育成だけでなく、胞子の発芽促進（無効発芽）、おとり植物、エンドファイトなどを含めた、実際栽培場面で適応し得る総合防除体系の確立が重要であると考え。今後、さらに多くの研究成果が蓄積され、有効な防除方法が確立されることを期待する。

## 引用文献

- 1) ARIE, T. et al. (1996) : Plant Pathology 47: 743~748.
- 2) BUCZACKI, S. T. et al. (1975) : Trans. Br. Mycol. Soc., 65: 295~303.
- 3) 江塚昭典 (1985) : 植物防疫 39: 520~524.

- 4) JONES, D. R. et al. (1982) : Plant Pathology 31: 239~246.
- 5) KAGEYAMA, K. et al. (1995) : Ann. Phytopathol. Soc. Jpn., 61: 415~418.
- 6) KIKUCHI, M. et al. (1999) Breeding Science, 49: 83~88.
- 7) KUGINUKI, Y. et al. (1997) Euphytica, 98: 149~154
- 8) ——— et al. (1999) : Eur. J. Plant Pathol., 105: 327~332.
- 9) 釘貫靖久・南 基泰 (2000) : 農及園 75(12) : 1269~1273.
- 10) ———・塚崎 光 (2000) : バイオサイエンスとインダストリー 58(6) : 405~408.
- 11) ——— (2001) : 野菜茶試研報 16: 19~67.
- 12) MURAKAMI, H. et al. (2002) : Soil Sci. Pl. Nutr. 48(3) : 421~427.
- 13) NARISAWA, K. and T. HASHIBA (1998) : Plant Pathology 47, 206~210.
- 14) 對馬誠也 (2000) : 日本農業学会誌 25(8) : 296~299.
- 15) 吉川宏昭 (1993) : 野菜茶試研報 A7: 1~165.
- 16) WILLIAMS, P. H. (1966) : Phytopathol. 56: 624~626.

(11 ページからの続き)

生育期：定植時：全面土壌混和及び株元土壌混和 生育期：株元土壌混和、さつき：ツツジグンバイ：生育期：株元散布、コガネムシ類：定植時及び生育期：定植時：全面土壌混和及び株元土壌混和 生育期：株元土壌混和：1回  
《アドバンテージ粒剤：21047：石原バイオ》2003/4/8  
カルボスルファン 5%

水稻(箱育苗)：ツマグロヨコバイ・ヒメトビウンカ・イネヒメハモグリバエ・イネハモグリバエ・イネゾウムシ・イネミズゾウムシ・イネドロオイムシ：移植前3日~移植当日：育苗箱の苗の上から均一に散布する。きゅうり・すいか・なす・ピーマン・メロン：ミナミキイロアザミウマ：育苗期後半：株元処理：1回、きゅうり・すいか・なす・ピーマン・メロン：定植時：植穴処理：1回、さとうきび：コガネムシ類幼虫・ハリガネムシ・メイチュウ類：植付時または培土時：植付時：植溝処理土壌混和、培土時：株元処理土壌混和：1回、だいごん：キスジノミハムシ：は種時：播溝処理土壌混和：1回、かんしょ：コガネムシ類幼虫・アリモドキゾウムシ・イモゾウムシ：植付時：植溝処理土壌混和：1回、いちご(仮植床)：コガネムシ類幼虫：植付時：土壌混和：1回、いちご(仮植床)：ネグサレセンチュウ：植付時、いちご(本圃)：ネグサレセンチュウ：植付時：土壌混和、ねぎ：ネギハモグリバエ・ネギアザミウマ：育苗期及び定植時：育苗期：株元散布 定植時：作条処理土壌混和、とうがん：ミナミキイロアザミウマ：定植時：植穴処理、きく：ネグサレセンチュウ：土壌混和、ミナミキイロアザミウマ：植付時：植穴処理：3回

## ●トルフェンピラド水和剤

《ハチハチフロアブル：21055：日本農業、21056：大塚化学》2003/4/11

トルフェンピラド

なし：アブラムシ類・ニセナシサビダニ：14日前：2回、かんきつ：アブラムシ類・ミカンサビダニ：前日：2回

## ●メトキシフェノジド水和剤

《ランナーフロアブル：21057：ダウケミカル》2003/4/11

メトキシフェノジド 9%

だいず：ハスモンヨトウ：7日前：2回、稲：ニカメイチュウ・コブノメイガ：14日前：3回、稲：コブノメイガ：14日前：無人ヘリコプターによる散布：3回

## 「殺菌剤」

## ●ジラム・チウラム・フェナリモル水和剤

《スペックス水和剤：21064：バイエルクロップサイエンス》2003/4/22

ジラム 50%  
チウラム 30%  
フェナリモル 1.8%

りんご：黒星病・斑点落葉病・赤星病・黒点病・うどんこ病：45日前：3回、なし：黒斑病・黒星病・赤星病・輪紋病・うどんこ病：45日前：3回、もも：黒星病・灰星病・せん孔細菌病：14日前：3回、かき：うどんこ病・落葉病・炭疽病：60日前：2回

## ●チアジニル粒剤

《ブイゲット箱粒剤：21048：日本農業》2003/4/11

チアジニル 12%

稲(箱育苗)：いもち病：は種時覆土前~移植当日：育苗箱中の苗(初)の上から均一に散布する

《ブイゲット粒剤：21049：日本農業》2003/4/11

チアジニル 6%

稲：いもち病：葉いもちの初発20~7日前(収穫45日前まで)：湛水散布：2回

## ●フェナリモル水和剤

《ルビゲン水和剤：21063：バイエルクロップサイエンス》2003/4/22

フェナリモル 12%

なし・りんご：うどんこ病・黒星病・赤星病：21日前：3回、かき：うどんこ病：21日前：3回、もも(前日)・おうとう(3日前)：灰星病：3回、いちご・メロン・ピーマン：前日：4回、きゅうり・なす：前日：3回、すいか・かぼちゃ：3日前：4回、さやえんどう：前日：5回、トマト：葉かび病、なす：すすかび病：前日：3回、小麦：うどんこ病：14日前：2回、たばこ：うどんこ病：2回、ばら：うどんこ病：6回

## 「殺虫殺菌剤」

## ●イミダクロプリド・チアジニル粒剤

《ブイゲットアドマイヤー粒剤：21053：日本農業、21054：バイエルクロップサイエンス》2003/4/11

イミダクロプリド 2%  
チアジニル 12%

(30 ページに続く)