報 文

千葉県南房総地域における食用ナバナの根こぶ病菌の病原性分類と 栽培品種の抵抗性

押切浩江*1·水野真二·畠山勝徳*2·松元哲*2·三平東作

キーワード:ナバナ、根こぶ病、分類、抵抗性、品種

I 緒 言

千葉県の食用ナバナ(Brassica rapa var. nippo-oleifera) は生産額が全国1位の18億円(2008年農業産出額)であり、その約半分を生産する安房地域を中心に栽培が行われている。食用ナバナは蕾を食用とする軽量野菜で、女性や高齢者にも栽培しやすく、露地で栽培され、収穫後の菜の花畑は早春の県南地域の観光資源にもなっている。

根こぶ病は病原菌Plasmodiophora brassicaeによって引き起こされるアブラナ科植物に特異的な土壌伝染病で、感染した植物の根はこぶ状に肥大し、根の養水分吸収が悪くなり、地上部の生育が極端に悪化する.根こぶ病菌の休眠胞子は土壌中で長期間生存し、耕種的防除も薬剤による防除も難しい難防除病害である.平成20年に行った生産者を対象としたアンケートでは、安房地域の24%の食用ナバナ生産者が被害を受けており(JA安房、安房農業事務所調べ)、高齢化による栽培面積・生産者の減少と合わせて、生産量を大きく減らす要因と考えられている.

抵抗性品種の導入は根こぶ病の重要な防除手段の一つとなっているが、連作に伴い抵抗性を持つ市販品種においても罹病する事例が見受けられる.根こぶ病の発生には、温度、土壌水分、土壌pH、菌密度等様々な要因が挙げられるが、抵抗性品種が罹病する主因は根こぶ病菌の病原性の分化と考えられている(釘貫,2001).

根こぶ病菌の病原性の識別についてはWilliams法 (Williams, 1966) やECD (European Clubroot Differential) 法 (Buczacki et al., 1975) が知られている. しかし, Hatakeyamaら (2004) は、日本各地から収集した根こぶ病菌について、これらの方法により検証したところ、抵抗性品種が罹病する菌も罹病しない菌も同じ分類になってしまい、病原性の識別は困難であると報告しており、ハクサイ \mathbf{F}_1 品種を判別品種として、根こぶ病菌を4つのグループ

(G1, G2, G3, G4) に分類する方法を提案している.

本研究では、千葉県における食用ナバナの根こぶ病防除の一助とするため、Hatakeyamaらの方法に準じて南房総地域で発生している病原菌のグループ分類を試みた.また、4つのグループの菌について、日本の一部地域でのみ発生している強力なG1に属する菌を除いた3グループ(G2、G3、G4)に属する菌に対する、県内で栽培されているナバナ品種の発病程度を調査した.

本試験を実施するにあたり,安房農業事務所の宮原秀一氏, 入倉敏広氏には根こぶ病発病株の収集にご協力をいただい た.また,(独)農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶 業研究所の方々には有益なご助言と多大なるご協力をいた だいた.ここに記して深く感謝を申し上げる.

Ⅱ 材料及び方法

1. 千葉県南房総地域で発生した根こぶ病菌のグループ分類

(1) 供試根こぶ病菌

千葉県南房総地域の 5 か所のナバナ圃場より採取した根こぶ病発病株 6 株の罹病組織より休眠胞子を分離・調整し、菌 $1\sim6$ とした(第 1 表). 菌 4 と菌 5 は同一圃場から採取した.

(2) 供試ハクサイ品種

判別・確認品種(ハクサイ)は、抵抗性品種である「スーパーCR ひろ黄」(柿沼育種センター.以下、ひろ黄とする)と「隆徳」(渡辺採種場)および抵抗性を有しない「無双」(タキイ種苗)の3品種を用いた.

(3) 接種検定

接種検定は病土挿入接種法 (吉川, 1993) により行った. 発病株の根のコブから菌を精製し,血球計算盤で休眠胞子数を計数し, 5×10^6 胞子/g 乾土に調整した病土を作成した. 直径 9cm のジフィーポットに育苗培土を 6 割程度入れ,作成した病土を育苗培土に挿入した. 病土上に供試品種を 1 ポットあたり 10 粒播種し,23°C (明) -18°C (暗), 14 時間日長に設定した人工気象室内で 6 週間栽培し,発病程度を調査した. 播種後約 2 週間目に間引きをして 1 ポット 8 本にした.

1品種1菌株あたり1ポット8本植えの2反復で行った.

受理日 2012 年 8 月 8 日

本報の一部は園芸学会(2012年3月,大阪市)において 発表した.

^{*1}現安房農業事務所

^{*2 (}独) 農業·食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所

	舟1衣	1 条片用方称地			
菌株名	採取地	宿主。	品種	採取年月日	菌の精製日2)
菌1	富浦	花かんざし	抵抗性 ¹⁾	H23.1.27	H23.8.23
菌2	白浜	栄華	抵抗性	H23.2.3	H23.8.24
菌3	白浜	華の舞	抵抗性	H23.2.3	H23.8.24
菌4	館山	春華	抵抗性	H22.10-11	H23.8.25
菌5	館山	花飾り	罹病性	H23.5.19	H23.8.25
菌6	宣油	お飾り	羅病性	H21	H23 8 26

第1表 千葉県南房総地域の供試根こぶ病菌株

- 注1) 供試品種の抵抗性、罹病性は種苗会社の表示による.
 - 2) 菌の精製日は採取し冷凍保存した株から菌を精製した日.











第1図 根こぶ病の発病指数(左から 発病指数 1、1.5、2、2.5、3)

発病指数 0 : 全くコブがみられない 発病指数 1 : 側根にコブが着生

発病指数 1.5: 主根の側面にコブが着生または側根に激しくコブが着生

発病指数 2 : 主根の 50%未満にコブが着生

発病指数 2.5: 主根の 50%以上がコブとなっているが肥大は全体でなく

健全な根もある

発病指数 3 : 根全体が大きく肥大し激しく発病

第2表 ハクサイ品種を用いた根こぶ病菌の病原性のグループ分類

判別品種	菌グループ					
一	G1	G2	G3	G4		
ひろ黄	+	_	+	_		
隆徳	+	+	_	_		
無双	+	+	+	+		

注) -:抵抗性、+:罹病性

(4) 抵抗性評価

抵抗性評価は、根を水洗いし、第1図に示す発病指数の基準によって各個体の発病指数を調査し、それを平均した平均発病指数によって示した。平均発病指数が1.5未満を抵抗性(一)、2.0以上を罹病性(+)、1.5以上2.0未満を部分抵抗性(±)とした。なお、発病指数は枯死株及び小さすぎる株は除いて調査した。

(5) 根こぶ病菌のグループ分類

根こぶ病菌の分類は、Hatakeyama ら(2004)の方法に準じて、判別品種であるハクサイ \mathbf{F}_1 品種「ひろ黄」と「隆徳」を用いて行った。具体的には、両品種ともに罹病性を示す菌を \mathbf{G}_1 、「ひろ黄」は抵抗性で「隆徳」は罹病性となる

菌を G2, 「ひろ黄」は罹病性で「隆徳」は抵抗性となる菌を G3, 両品種ともに抵抗性となる菌を G4 として,グループの分類を行った(第 2 表).接種の成否は全ての菌に罹病性とされる品種の「無双」で確認した.

2. 栽培品種の抵抗性

(1) 供試根こぶ病菌

G2に属する菌として、試験1の菌1, 2, 3を、G3に属する菌として、(独) 野菜茶業研究所で維持しているNo.14菌を、G4に属する菌として、試験1の菌4, 6を供試した。また、試験1で4グループに明確に分類できなかった菌である、菌5を供試した。

(2) 供試ナバナ品種

市販ナバナ品種は、「花かんざし」、「華の舞」、「花まつり」、「花ぐるま」(丸種種苗)、「春雷」、「花飾り」、「栄華」、「花娘」(サカタのタネ)、「春華」(日東農産)、の9品種を用いた。なお、「花ぐるま」、「花飾り」以外は根こぶ病抵抗性品種として販売されている。

(3) 抵抗性検定

1の試験と同じ方法で行った。ただし、No.14 菌については 1 ポット 8 本植えの反復なしとした。また、同時にハクサイ品種「無双」を対照区として供試し、接種の成否を確認した。

Ⅲ 結 果

1. 千葉県南房総地域で発生した根こぶ病菌のグループ 分類

根こぶ病接種検定における発病指数の結果を第 3 表に示した.菌 1,2 及び菌 3 は、「ひろ黄」が抵抗性、「隆徳」と「無双」が罹病性を示したことから G2 と判定した.菌 4 と菌 6 は、「ひろ黄」、「隆徳」が抵抗性を示し「無双」のみが罹病したため G4 に属する菌と判定した.菌 5 は「ひろ黄」が抵抗性、「無双」が罹病性を示したが、「隆徳」が部分抵抗性であり、 $G1\sim G4$ に明確に分類できなかった.

第3表 千葉県南房総地域のナバナ圃場で発生した根こぶ病菌のグループ分類

判別品種	発病指数、抵抗性判定とグループ分類						
十月月11日1年	菌1	菌2	菌3	菌4	菌5	菌6	
ひろ黄	0.50 (-)	0.87 (-)	0.97 (-)	0.77 (-)	0.53 (-)	1.09 (-)	
隆徳	2.22 (+)	3.00 (+)	2.93 (+)	1.04 (-)	$1.62 \ (\pm)$	0.93 (-)	
無双	2.56 (+)	3.00 (+)	2.94 (+)	3.00 (+)	3.00 (+)	3.00 (+)	
病原性の分類	G2	G2	G2	G4	_	G4	

- 注1) 根こぶ病接種検定における発病指数は、0(無病徴)、1(側根に根こぶ)、2(主根の50%未満に根こぶ)、3(主根の50%以上に根こぶ)とし、平均値を求めた.
 - 2) 発病指数が1.5未満を抵抗性(一)、2.0以上を罹病性(+)、1.5以上2.0未満を部分抵抗性(±)とした.
 - 3) 検定株数は菌1、菌2、菌3で「無双」が9株、菌4で「無双」が7株、「ひろ黄」が13株、「隆徳」が14株、菌5で「無双」が10株、「隆徳」が13株、菌6で無双が7株、その他は15~16株.

第4表 各根こぶ病菌に対する市販品種の抵抗性

	各菌に対する発病度と抵抗性							
	病原性の分類	G2	G2	G2	G3	G4	G4	_
	供試菌	菌1	菌2	菌3	No.14菌	菌4	菌6	菌5
供試品種								
	春華	2.20 (+)	3.00 (+)	2.84 (+)	0.71(-)	0.13(-)	0.67 (-)	1.03 (-)
	春雷	$1.88 \ (\pm)$	3.00 (+)	2.97 (+)	_	0.67(-)	0.38 (-)	1.06 (-)
	花かんざし	2.44 (+)	3.00 (+)	2.75 (+)	0.75 (-)	0.44(-)	0.75 (-)	0.69 (-)
抵抗性	花娘	2.34 (+)	2.94 (+)	2.90 (+)	0.67 (-)	0.94(-)	0.75 (-)	$1.97\ (\pm)$
	栄華	_	2.90 (+)	_	0.33 (-)	_	_	_
	華の舞	2.13 (+)	3.00 (+)	2.56 (+)	0.50 (-)	0.43(-)	0.73 (-)	0.38 (-)
	花まつり	2.50 (+)	3.00 (+)	2.97 (+)	0.50 (-)	0.56(-)	0.50 (-)	0.40 (-)
罹病性	花ぐるま	2.41 (+)	_	2.90 (+)	$1.75~(\pm)$	0.88(-)	_	_
作的内门生	花飾り	_	3.00 (+)	_	3.00 (+)	_	3.00 (+)	3.00 (+)
対照区	無双	2.56 (+)	3.00 (+)	2.94 (+)	3.00 (+)	3.00 (+)	3.00 (+)	3.00 (+)

- 注1)根こぶ病接種検定における発病指数は、0 (無病徴)、1 (側根に根こぶ)、2 (主根の50%未満に根こぶ)、3 (主根の50%以上に根こぶ)とし、平均値を求めた.
 - 2) 発病指数が1.5未満を抵抗性 (-) 、2.0以上を罹病性 (+) 、1.5以上2.0未満を部分抵抗性 (±) とした.
 - 3) 供試品種の抵抗性、罹病性は種苗会社の表示による.
 - 4) 2反復区の検定株数は、菌1、菌2、菌3で「無双」が9株、菌3で「花かんざし」が10株(カビ発生)、菌4で「無双」が7株、「華の舞」が14株、菌5で「無双」が10株、菌6で無双が7株、その他は15~16株.
 - 5) 1反復区のNo.14菌接種の検定株数は、「華の舞」、「花娘」、「栄華」で6株、その他は7~8株.

2. 栽培品種の抵抗性

G4に属する菌4と菌6に対しては、供試した抵抗性品種「春華」、「春雷」、「花かんざし」、「花娘」、「華の舞」、「花まつり」は、いずれも抵抗性を示した。また、G3に属するNo.14菌に対しても、供試した抵抗性品種「春華」、「花かんざし」、「花娘」、「栄華」、「華の舞」、「花まつり」は抵抗性を示した(第4表)。これに対し、G2に属する菌には、「春雷」が菌1に部分抵抗性を示したが、それ以外の抵抗性品種は全て発病した(「栄華」については菌2のみ接種)。菌5 に対する抵抗性品種の反応は、「花娘」は部分抵抗性を示し、「春華」、「春雷」、「花かんざし」、「華の舞」、「花まつり」は抵抗性を示した。

抵抗性品種として販売されていない品種では、「花ぐるま」は G2 に属する菌 1, 菌 3 には罹病性、G4 に属する菌 4 には抵抗性を示し、G3 に属する No.14 菌には部分抵抗性を示した。これに対し、「花飾り」は今回供試した全てのグループの菌に罹病性を示した。また、対照区である「無双」については、供試した菌全てで罹病性を示した。

Ⅳ 考 察

ハクサイの根こぶ病菌の分類法 (Hatakeyamaら, 2004) に則り、千葉県南房総地域の5か所のナバナ圃場で発生した根こぶ病6菌の病原性を分類したところ、3菌株がG2、2 菌株がG4に分類される菌であった。千葉県南房総地域のナバナ圃場で発生している病原菌の分類が、ハクサイ圃場と同様に可能であることを確認できた。

一方、菌5はHatakeyamaら(2004)の方法では明確にグループ分類できなかった.このような例として、Hatakeyamaら(2004)の報告の中にも、供試した19の菌のうち、1つ分類できない菌があった.對馬(1999)は、このような菌がみられる原因として、根こぶ病菌が培養できず、根こぶから回収した休眠胞子を接種源とするため、採取した菌には複数のクローンが混在している可能性があることを考察している.本試験の菌5における結果についても、同様のことが推察された.

県内で栽培されているナバナ品種に対して、根こぶ病原菌のグループごとに発病程度を調査したところ、抵抗性品種として販売されている供試品種はG3、G4に属する菌には抵抗性を示さなかった。本試験で供試した菌株のうちG2に属するものは、いずれも根こぶ病抵抗性品種から回収されたものである。このことから、千葉県南房総地域においては、抵抗性品種が罹病する圃場ではG2に分類される菌株が存在しているものと推察された。

一方、菌4は抵抗性品種「春華」から分離された菌であるが、G4に属する菌と判定された. 本菌を採取した圃場での「春華」の発病は、30 株中1株であるため、罹病性種子が混入していた可能性も考えられた.

また、根こぶ病抵抗性として表示販売されていない品種「花ぐるま」は、G4に属する菌4に抵抗性を示すことから、G2、G3に属する菌が確認されていない圃場においては、抵抗性品種と同等に扱うことができると考えられた。

以上のことから、千葉県南房総地域のナバナ生産では、G3、G4に属する菌が発生した場合は、市販の抵抗性品種で対応が可能と考えられたが、抵抗性品種が罹病する圃場で栽培する品種には、G2に属する菌への抵抗性の付与が必要である.

B. rapaの根こぶ病抵抗性は単一の優性遺伝子座支配でなく、複数の遺伝子座に支配されており、根こぶ病抵抗性遺伝子座、Crr1とCrr2(Suwabe et al, 2003)、をホモに固定し育成された「はくさい中間母本農9号」はG4、G2、G1 に属する菌に抵抗性を持つことが明らかになっている(松元ら、2010).

「はくさい中間母本農9 号」と、Crr1、Crr2を効率的に選抜できるDNAマーカー(松元ら、2010)を併せて活用することにより、ナバナにおいても強度根こぶ病抵抗性品種を効率的に育成することが可能となる。 筆者らはこの方法で、食用ナバナでG4、G2、G1 に属する菌に抵抗性を持つ品種を育成中である(松元、2012).

一方, 「はくさい中間母本農9 号」はG3に属する菌に対しては罹病する場合がある(松元ら,2010). 今後品種の育成を進めるとともに, 県内での根こぶ病菌のサンプル数を増やし, G3に属する菌の有無の確認を行い, 併せて育成品種がG3に属する菌にも対応できるよう, 品種の育成方針を検討する必要がある.

根こぶ病の防除では、菌密度から発病を推定し(村上, 2003)、それをもとに作付の可否や防除手段等を検討する試みがなされており、生産現場では転炉スラグ等の資材の活用で土壌 pH を高め、根こぶ病を防除する方法(村上ら、2004)も広がりつつある. 對馬(1999)が指摘しているように、根こぶ病菌は培養できないため、研究上の問題点も多く、決定的な防除法は確立されていない. 難防除病害である根こぶ病を防除するためには、様々な要因や手段を検討し、効果的な対策を講じていく必要があると考えられる.

Ⅴ 摘 要

千葉県南房総地域のナバナ圃場で発生した根こぶ病株6株の菌の病原性を,ハクサイで報告されている4つのグループ(G1, G2, G3, G4)に分類する方法で分類した.また,3つのグループ(G2, G3, G4)に属する菌に対する,県内で栽培されているナバナ品種の抵抗性を調査した.

- 1. Hatakeyamaら (2004) の方法により, ハクサイ同様 にナバナの根こぶ病の菌を分類することが可能であった.
- 2. 千葉県のナバナ圃場で採取した菌株は、概ね G4, G2 に位置付けられる菌であった.
- 3. 県内で栽培されている抵抗性品種はG4菌とG3菌には抵抗性で、G2菌には罹病性であった.

VI 引用文献

- Buczacki, S. T., H. Toxopeus, P. Mattusch, T. D. Johnston, G. R. Dixon and L. A. Hobolth (1975)

 Study of physiologic specialization in
 Plasmodiophora brassicae: proposals for rationalization through an international approachi. Trans Br
 Mycol Soc. 65: 295—303.
- Hatakeyama, K., M. Fujimura, M. Ishida, T. Suzuki (2004) New Classification Method for *Plasmodiophora brassicae* Field Isolates in Japan Based on Resistance of F1 Cultivars of Chinese Cabbage (*Brssica rapa L.*) to Clubroot. *Breeding Science*. 54: 197—201.

- 釘貫靖久(2001)*Brassica*属野菜の根こぶ病抵抗性育種. 野菜茶試研報. 16:19-67.
- 松元哲・畠山勝徳・吹野伸子・鈴木徹・佐藤隆徳・石田正彦・ 吉秋斎・小原隆由・小島昭夫・坂田好輝 (2010) 根こ ぶ病強度抵抗性のマーカー選抜が可能な「はくさい中間 母本農9号」. 2010年野菜茶業研究成果情報
- 松元哲(2012) ハクサイ類の根こぶ病抵抗性の遺伝的研究 と抵抗性品種の開発. 植物防疫. 66:43-46
- 村上圭一・篠田英史・中村文子・後藤逸男(2004)アブラナ科野菜根こぶ病の発病に及ぼす土壌の種類とpHの影響. 日本土壌肥料学雑誌. 75:339-345.
- 村上弘治(2003) アブラナ科野菜根こぶ病における病原菌 密度と発病に関する研究. 日本土壌肥料学雑誌. 74: 603-604.
- Suwabe, K., H. Tsukazaki, H. Iketani, K. Hatakeyama, M. Fujimura, T. Nunome, H. Fukuoka, S. Matsumoto and M. Hirai (2003) Identification of two loci for resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) in *Brassica rapa L. Theor Appl Genet*. 107: 997-1002.
- 對馬誠也(1999)アブラナ科野菜根こぶ病休眠胞子の発芽 と感染性. Microbes and Environments. 14:173 - 178.
- Williams, P., H (1966) A system for the determination of races of *Plasmodiophora brassicae* that infect cabbage and rutabaga. *Phytopathology*. 56:624—626.
- 吉川宏昭(1993) アブラナ科野菜の根こぶ病抵抗性育種に 関する研究, 野菜茶試研報, A7:1-165.

Pathogenic Classification of *Plasmodiophora brassicae* on the Clubroot-resistant Cultivar 'Nabana' in the Minamiboso Area, Chiba Prefecture

Hiroe OSHIKIRI, Sinji MIZUNO, Katsunori HATAKEYAMA, Satoru MATSUMOTO and Tosaku MIHIRA

Key words: classification, cultivar, Nabana, Plasmodiophora brassicae, resistance

Summary

We determined the pathogenicity of the causative bacteria of six strains of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) in fields of Nabana (*Brassica rapa var. nippo-oleifera*) in the Minamiboso area of Chiba Prefecture by classifying the bacteria into four groups (G1, G2, G3, and G4). In addition, we investigated the resistance of Nabana cultivars grown in the prefecture to bacteria belonging to three groups (G2, G3, and G4).

- 1. As is the case in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.), it was possible to classify the pathogen according to the method of Hatakeyama et al. (Breeding Science 2004;54:197–201).
- 2. Almost all of the bacterial strains extracted from the study site belonged to G4 and G2.
- 3. The clubroot-resistant cultivars grown in Chiba Prefecture were resistant to G4 and G3 bacteria and susceptible to G2 bacteria.