

福岡県京築地域のアブラナ科野菜から 分離された根こぶ病菌の病原性

柴戸靖志¹⁾・林田達也・浜地勇次²⁾・尾形武文
(豊前分場)

福岡県京築地域では、根こぶ病がアブラナ科野菜に大きな被害を与えている。行橋市文久では1970年頃からハクサイに、築上郡築城町では1996年春からナバナ (*Brassica napus* L.) に根こぶ病が発生し、汚染地域の拡大が生産の面で問題となっている。

そこで、行橋市文久の罹病ハクサイと築上郡築城町の罹病ナバナからそれぞれ分離した2菌株について、その病原性を明らかにするため、WILLIAMS法およびECD法によりレースを推定した。また、品種、菌密度および接種時期を変えて、これらの2菌株の病原性を比較した。その結果は次のとおりである。

- 1 文久菌株は、WILLIAMS法によるレース検定ではレース3であり、ECD法によるレース検定ではレース記号20/15/28であった。
- 2 築城菌株は、WILLIAMS法によるレース検定ではレース1であり、ECD法によるレース検定ではレース記号20/31/28であった。
- 3 ナバナに対する築城菌株の病原性は文久菌株に比べて強く、感受性品種‘宮内菜’や‘CLUBROOT RESISTANCE RAPE’を激しく発病させた。また、菌密度や接種時期を変えても、同じ傾向を示した。

[キーワード：アブラナ科野菜、根こぶ病、病原性、*Brassica napus* L., レース]

Pathogenicity of *Plasmodiophora brassicae* Isolated from the Clubroot Disease Infected Cruciferous Vegetable in Keichiku Region, Fukuoka Prefecture. SHIBATO Yasushi, Tatsuya HAYASHIDA, Yuji HAMACHI and Takefumi OGATA (Fukuoka Agric. Res. Cent., Chikushino, Fukuoka 818 - 8549 Japan) *Bull.Fukuoka Agric. Res. Cent.* 20 : 53 - 57 (2001)

In the Keichiku region of Fukuoka Prefecture, Clubroot Disease has caused considerable damages to cruciferous vegetables. In Bunkyu of Yukuhashi City, Clubroot Disease began to occur in Chinese cabbages from around the year 1970, and in Tsuiki town of Chikujyo County, the same problem occurred in Nabana (*Brassica napus* L.) from spring, 1996. The afflicted field tended to extend, giving rise to serious concerns for production of these cruciferous vegetables.

Then, the races were estimated on 2 strains which had been isolated from the contracted Chinese cabbage of Bunkyu of Yukuhashi City and the contracted Nabana of Tsuiki town of Chikujyo County, using the WILLIAMS and ECD methods in each, in order to clarify their pathogenicities. By changing the varieties, fungus density and the inoculation time, the pathogenicity of these 2 strains were compared. The results are as follows.

- 1 In the race test by the WILLIAMS method, the Bunkyu strain was race 3, and in the race test by the ECD method, it was race 20/15/28.
- 2 In the race test by the WILLIAMS method, the Tsuiki strain was race 1, and in the race test by the ECD method, it was race 20/31/28.
- 3 The pathogenicity of Tsuiki strain for Nabana was stronger than the Bunkyu strain; and sensitivity varieties such as 'MIYAUCHINA' and 'CLUBROOT RESISTANCE RAPE' have shown intense symptoms of the disease. And, an equal tendency was observed, even when fungus density and inoculation time were changed.

[keywords : cruciferous vegetable, pathogenicity, *Plasmodiophora brassicae*, race]

緒 言

近年、福岡県のアブラナ科野菜では、根こぶ病が津屋崎町や糸島郡などで発生し、その被害が拡大している。

京築地域においても、行橋市文久で1970年頃からハクサイに発生しており、1998年にはナバナ (*Brassica napus* L.) にも被害が拡大している。また、築上郡築城町でも1996年春からナバナに根こぶ病が発生し、問題となっている。

根こぶ病はアブラナ科野菜を全般的に侵す病害で、土壌のpH矯正や農薬などの利用で発生を抑制できるが、抵抗性品種の導入による総合的な防除対策がより効果的である。しかし、根こぶ病菌はレースの分化が激しく¹⁰⁾、レースによっては抵抗性品種でも発病した事例が報告されている²¹⁾。従って、発生地ごとに菌のレースやその病原性を確認することは、今後根こぶ病抵抗性品種の導入や育種を行う上で重要である。

根こぶ病菌の病原性の報告は全国的には数多くなされている。山口県で2つの異なるレースが確認され¹⁴⁾、福岡県でも津屋崎町や築城町から分離された根こぶ病菌の

第1表 WILLIAMS法による根こぶ病 2菌株のレース検定

菌株	判別品種					参考品種	レースの判定
	Jersey Queen	Badger Shipper	Laurentian	Wilhelmsburger	宮内菜		
文久 発病指数	92	10	97	20	100		
判定 ^z	+	-	+	-			3
築城 発病指数	92	17	94	36	100		
判定 ^z	+	-	+	+			1

z - : 発病指数 0~25未満 (抵抗性), + : 発病指数 25~100 (感受性)

第2表 ECD法による根こぶ病 2菌株のレース検定

菌株	判別品種															参考品種	レースの判定
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	宮内菜	
文久 発病指数	4	0	42	4	99	84	99	97	100	20	10	21	92	100	52	100	
判定 ^z	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+		20/15/28
築城 発病指数	0	4	40	0	98	99	99	100	99	36	17	17	92	97	37	100	
判定 ^z	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+		20/31/28

zは第1表と同じ。

第3表 抵抗性が異なる品種に対する根こぶ病 2菌株の病原性

菌株	品種別発病評点		
	宮内菜	Dc129	MARIAN
文久	1.7	1.6	0.3
築城	2.4	2.3	0.4
検定 (T値)	9 **	0 **	28 ns

1) 数値は6接種時期, 3菌密度での平均値。

2) 検定はWilcoxonの符号順位検定法を用い, 接種時期ごとに各菌密度における発病評点を対応させた。

**は1%水準で有意差あり, nsは有意差なし。

第4表 菌密度の違いによる根こぶ病 2菌株の病原性

菌株	品種	菌密度別発病評点		
		1×10^2	1×10^3	1×10^7
文久	宮内菜	0.8	2.1	2.4
	Dc129	0.5	1.9	2.4
築城	宮内菜	1.8	2.6	2.7
	Dc129	1.9	2.5	2.6
検定 (T値)		5 **	0 **	0 **

1) 数値は6接種時期における平均値。

2) 検定はWilcoxonの符号順位検定法を用い, 接種時期ごとに各品種における発病評点を対応させた。

**は1%水準で有意差あり。

病原性が報告されている^{16),17)}。しかし, 京築地域において, ハクサイから地域特産野菜のナバナに被害が拡大している行橋市文久や, ナバナで問題となっている築城町の根こぶ病については, 病原菌のレースや *B.napus* L. に対する病原性については明らかにされていない。

そこで, 行橋市文久と築城町からそれぞれ分離した2つの菌株について, 全国的に広く利用されているWILLIAMS法と, 国際的な基準を設定するために提唱されたECD法によりレースを推定した。また, 品種, 菌密度および接種時期を変えて, これら2菌株の病原性の差異について検討した。

材料及び方法

試験1 ハクサイおよびナバナから分離した根こぶ病菌のレース検定

菌株は福岡県行橋市文久ではハクサイ, 福岡県築上郡築城町ではナバナから採取し, -40°C で凍結保存した根こぶ病罹病組織から, 吉川ら²⁰⁾の方法によって分離した休眠孢子 (以下, それぞれ文久菌株, 築城菌株とする。)を用いた。これらの菌株を, 病土挿入接種法²⁰⁾で1997年9月5日に接種した。乾土1gあたりに休眠孢子を 1×10^7 個混和した接種用培地を充填したポットに播種した。その後, 明期 25°C , 暗期 20°C の16時間日長³⁾に設定した人工気象器で栽培した。培地のpHは5.8に調整した。

接種40日後に各個体の発病程度をSEAMANら¹¹⁾の評点基準に基づき調査し, 発病指数を求めた。発病指数

は, 評点0 (無), 1 (軽), 2 (中), 3 (甚)に分類された個体数に各々0, 10, 60, 100の重みづけをし, 次式によって算出した。

$$\text{発病指数} = \frac{\sum (\text{各発病評点毎の個体数} \times \text{重み})}{\text{供試個体数}}$$

品種ごとの抵抗性の判定は, TANAKAら¹⁴⁾の方法に基づき, 発病指数が0~25未満を抵抗性, 25~100を感受性とした。WILLIAMS法²⁰⁾とECD法¹⁾による判別品種の判定結果から, 菌のレースを推定した。また, 京築地域における普及品種の一つで, 築城菌に対して感受性を示すナバナ '宮内菜' を参考品種として用いた¹³⁾。試験規模は, 各判別品種および参考品種につき10個体の3ポットを供試した。

試験2 ハクサイおよびナバナから分離した根こぶ病菌の病原性検定

菌株は試験1と同じ方法で分離した文久菌株と築城菌株を用いた。検定にはナバナ '宮内菜', 洋種ナタネ 'CLUBROOT RESISTANT RAPE (JOHNSTONのレース検定法⁵⁾の判別品種Dc129, 以下, Dc129とする。)' およびルタバガ 'MARIAN (レースによっては感受性を示す抵抗性品種⁴⁾)' の抵抗性程度の異なる3品種を用いた (3品種全て *B.napus* L. に属す)。病土挿入接種法で1997年9月5日, 9月20日, 10月5日, 1998年3月11日, 4月6日, 5月1日に接種した。菌密度は乾土1gあたりに休眠孢子を 1×10^8 , 1×10^5 および 1×10^7 個混和して3水準とし, 雨よけしたハウス内で栽培し

第5表 接種時期の違いによる根こぶ病 2 菌株の病原性

菌株	品種	接 種 時 期 別 発 病 評 点					
		9月5日	9月20日	10月5日	3月11日	4月6日	5月1日
文久	宮内菜	2.9	2.0	0.9	0.4	2.2	2.2
	Dc129	2.6	1.9	0.9	0.4	2.0	1.8
築城	宮内菜	2.4	2.6	2.1	1.1	3.0	3.0
	Dc129	3.0	2.6	1.9	0.7	2.8	2.9
検定 (T 値)		-	-	0 **	-	0 **	-

1) 数値は 3 菌密度における平均値。

2) 検定は Wilcoxon の符号順位検定法を用い、菌密度ごとの各品種における発病評点を対応させた。

** は 1% 水準で有意差あり、- は検定できない。

第6表 接種後2週間の平均気温

接種日	接種後2週間の日平均気温 (°C)		
	最低	最高	平均値
9月5日	21.5	26.0	23.6
9月20日	17.7	21.4	19.7
10月5日	15.4	20.0	17.7
3月11日	6.1	12.3	8.6
4月6日	13.5	20.6	16.0
5月1日	16.2	23.9	18.9

た。調査方法および試験規模は試験1と同様にし、発病評点により病原性を比較した。

結 果

試験1 ハクサイおよびナバナから分離した根こぶ病菌のレース検定

文久菌株を用いた WILLIAMS 法では、判別品種の 'Badger Shipper', 'Wilhelmsburger' が発病指数 20 以下と抵抗性を示した。これに対し、その他の判別品種は 90 以上と '宮内菜' と同程度に、感受性を示した。一方、ECD 法では、判別品種 01, 02, 04, 10~12 の計 6 品種は発病指数が 0~21 と抵抗性を示した。これに対し、その他の判別品種は 42~100 と感受性を示した。これらの結果から、文久菌株は WILLIAMS 法のレース 3, ECD 法のレース記号 20/15/28 と推定された (第1表, 第2表)。

築城菌株を用いた WILLIAMS 法では、'Badger Shipper' は発病指数が 17 と抵抗性を示した。これに対し、'Wilhelmsburger' は発病指数が 36 と低い感受性を、その他の判別品種は 92~94 と高い感受性を示した。一方、ECD 法では、判別品種 01, 02, 04, 11, 12 の計 5 品種が発病指数 0~17 と抵抗性を示した。これに対し、その他の判別品種は 36~100 と感受性を示した。これらの結果から、築城菌株は WILLIAMS 法のレース 1, ECD 法のレース記号 20/31/28 と推定された (第1表, 第2表)。

参考品種の '宮内菜' は、文久菌株、築城菌株ともに WILLIAMS 法および ECD 法で発病指数 100 と激しく発病し、高い感受性を示した (第1表, 第2表)。

試験2 ハクサイおよびナバナから分離した根こぶ病菌の病原性検定

根こぶ病菌 2 菌株 (文久菌株, 築城菌株) の病原性について、抵抗性が異なる 3 品種 ('宮内菜', 'Dc129' お

よび 'MARIAN') に対する病原力 (発病評点) により検討した。各品種に対する 2 菌株の病原性は、'宮内菜' では築城菌株が発病評点 2.4 に対して文久菌株は 1.7 と低かった。また、'Dc129' においても同様な結果を示した。このように、'宮内菜' と 'Dc129' に対する文久菌株の病原性は築城菌株に比べて低かった。一方、'MARIAN' においては、病原性に差は認められなかった。

次に、菌密度の違いによる '宮内菜' と 'Dc129' の発病評点を調査したところ、2 菌株ともに菌密度が高くなるほど発病評点が高い傾向にあり、その傾向は文久菌株で強く認められた (第4表)。また、各菌密度における病原性は、'宮内菜' と 'Dc129' とともに 3 つの菌密度全てにおいて、文久菌株が築城菌株に比べて低かった。

接種時期の温度の違いによる '宮内菜' と 'Dc129' の発病評点を調査したところ、感染期間の気温が下がる秋では、9月5日、9月20日、10月5日と、接種時期が遅くなるにつれて発病評点が低い傾向にあった。逆に感染期間の気温が上昇する春では、接種時期が3月11日に比べて4月6日と5月1日は発病評点が高かった。各接種時期における 2 菌株の病原性は、文久菌株が築城菌株に比べて低い傾向にあった (第5表, 第6表)。

考 察

根こぶ病菌株のレース検定については、吉川らが関東を中心に 57 カ所から分離した菌株を WILLIAMS 法により検定し、レース 1 とレース 3 がそれぞれ 30% の占有率を示したことを報告している²³⁾。本報における築城菌株と文久菌株のレースは、それぞれレース 1, レース 3 と関東を中心にした地域のレースと同一であった。しかし、田中らが築城町で分離した菌株の報告¹⁶⁾とは異なる結果であった。この点については、罹病組織を採取した圃場や部位でレースの混在が報告されていること^{6),7)}、今回の検定サンプル数が 2 地点の 2 菌株のみであることから、今後さらにレース検定を積み重ねて、京築地域における各レースの分布状況を把握する必要があるものと考えられた。

一方、ECD 法では、吉川らが 57 罹病組織を 46 レース記号に分類し、ほとんど異なったものに区分されたことを報告している²⁵⁾。本報でも供試した 2 菌株は異なるレース記号に分類された。ただし、ECD 法は、判別品種として用いられる ECD01~05 が *B. campestris* L., ECD06~10 は *B. napus* L. および ECD11~15 は *B.*

oleracea L.と3種から構成され、それぞれに分けて判定する。種ごとのレース記号をみると、文久菌株と築城菌株は、*B. campestris* L.の判別品種ECD01~05ではレース記号20、*B. oleracea* L.の判別品種ECD11~15ではレース記号28と同じで、*B. napus* L.の判別品種ECD06~10ではそれぞれレース記号15と31で異なる。したがって、この2菌株は、*B. campestris* L.と*B. oleracea* L.に対しては同じレースで、*B. napus* L.に対しては異なるレースと考えられる。判別品種を用いた検定では、供試品種数の制約を受け、菌の遺伝的な差異を言及することは難しい。ところが、近年アイソザイムと可溶性タンパク質の電気泳動パターン¹⁸⁾の差異およびRAPDパターン¹⁹⁾の差異により、根こぶ病菌の遺伝的な違いを明らかにすることが可能となった。今後これらの解析によって、より詳細な本菌の分布(レース、抵抗性の品種間差異、遺伝的差異)を把握することが、根こぶ病の防除対策を講じる上で重要である。

国内で採取された菌株の病原性の差は、ハクサイ^{8),12)}やキャベツ⁹⁾の品種間差異を用いて報告されているが、*B. napus* L.での報告はない。本報ではナバナ‘宮内菜’、西洋ナタネ‘Dc129’で2菌株の病原性の差を明らかにできた。一方、ルタバガ‘MARIAN’では2菌株ともに抵抗性を示し、病原性の差は認められなかった。これは、‘MARIAN’が菌のレースによって感受性を示す品種であるため、この2菌株が‘MARIAN’を侵す菌ではなかったと考えられる。

一方、接種条件については、ハクサイで田中らが菌密度に水準を設け、乾土1g当たりの休眠孢子が $1 \times 10^1 \sim 10^7$ 個の範囲で、病原性に差が認められると報告している¹⁵⁾。本報でもナバナや西洋ナタネで 1×10^3 、 1×10^6 および 1×10^7 個の3水準で同様に差が認められた。また、本病は酸性土壌で平均気温18~23℃で発病し易いとされている⁹⁾。本報でも接種後2週間の平均気温が18℃よりやや低かった10月5日と4月6日で病原性の差が顕著であった。これは、温度によって菌の感染力に差が生じたため、築城菌は文久菌に比べて低温での活性が下がりにくい菌であると考えられる。

以上のように、文久菌株と築城菌株はレースが異なり、また、文久菌株の病原性は築城菌株に比べて低いことが明らかになった。

今後は、京築地域以外においても根こぶ病の汚染地域が県内で拡大していることから、各発生地から分離した菌株ごとに病原性(レースおよび抵抗性の品種間差異)を明らかにするとともに、ナバナにおいて各発生地域の優先レースに抵抗性を示す品種の育成が急務であると考えられる。

引用文献

- 1) BUCZACKI, S. T., H. TOXOPEUS, P. MATTUSCH, T. D. JOHNSTON, G. R. DIXON and L. A. HOBOLTH (1975) Study of physiologic specialization in *Plasmiodiophora brassicae*: Proposals for attempted rationalization through an international approach. Trans. Brit. mycol. Soc. **65**: 295 - 303.
- 2) COLHOUN, J. (1953) A STUDY OF EPIDEMIOLOGY OF CLUB - ROOT DISEASE OF BRASSICAE. Ann. appl. Biol. **40**: 262 - 283.
- 3) DIXON, G. R. (1976) Methods Used in Western Europe and the U.S.A. for Testing *Brassica* Seedling Resistance to Club Root (*Plasmiodiophora brassicae*). Pl. Path. **25**: 129 - 134.
- 4) GUSTAFSSON, M. and A - F. FALT (1986) Genetic studies on resistance to clubroot in *Brassica napus*. Ann. appl. Biol. **108**: 409 - 415.
- 5) JOHNSTON, T. D. (1970) A New Factor for Resistance to Club Root in *Brassica napus* L. Pl. Path. **19**: 156 - 158.
- 6) JONES, D. R., INGRAM, D. S. and DIXON, G. R. (1982) Factors affecting tests for differential pathogenicity in populations of *Plasmiodiophora brassicae*. Pl. Path. **31**: 229 - 238.
- 7) KAGEYAMA, K., Y. KAMIMURA and M. HYAKUMACHI (1995) A Simple Inoculation Method with a Single Resting Spore of *Plasmiodiophora brassicae* Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. **61**: 415 - 418.
- 8) 釘貫靖久・村田智行・山本英樹・後藤成紀・飛驒健一 (1993) ハクサイ根こぶ病抵抗性品種の罹病化に関する研究(第5報)病原性の菌株間差異. 園学雑 **62**(別1): 174 - 175.
- 9) 釘貫靖久・小林逸郎・飛驒健一 (1995) キャベツ類に対する根こぶ病菌の病原性の菌株間差異及び抵抗性の品種・系統間差異. 園学雑 **64**(別1): 218 - 219.
- 10) LAMMERRINK, J. (1965) SIX PATHOGENIC RACES OF *Plasmiodiophora brassicae* Wor. IN NEW ZEALAND. N. Z. J. agric. Res. **8**: 156 - 164.
- 11) SEAMAN, W. L., J. C. Walker and R. H. Larson (1963) A New Race of *Plasmiodiophora brassicae* Affecting Badger Shipper Cabbage. Phytopathology **53**: 1426 - 1429.
- 12) 芹沢啓明・レイモンドアキノ・塚田元尚・小口伴二 (1994) ハクサイ市販品種における根こぶ病抵抗性の品種間差異. 園学雑 **63**(別1): 212 - 213.
- 13) 柴戸靖志・林田達也・浜地勇次 (1999) ナバナ (*Brassica napus* L.), 洋種ナタネおよびルタバガにおける根こぶ病抵抗性の品種間差異. 園学雑 **68**(別1): 210.
- 14) TANAKA, S., Y. Sakamoto, K. Kajiyama, K. Fujieda, K. Katamoto and Y. Nishi (1991) Pathogenicity of Three Isolates of Clubroot Fungus Attacking Clubroot - Resistant Cultivars of Chinese Cabbage. Bull. Fac. Agric. Yamaguchi Univ. **39**: 113 - 122.

- 15) 田中秀平・吉原茂昭・伊藤真一・亀谷満朗 (1997) アブラナ科野菜根こぶ病菌菌系の病原力のハクサイ根こぶ病の発生生態および薬剤防除効果に対する影響. 日植病報 **63** : 183 - 187.
- 16) 田中秀平・藤山昌三・茂森沢子・中山暁子・伊藤真一・亀谷満朗 (1998) 日本の各地から採集したアブラナ科野菜根こぶ病菌菌株の病原性 (1) 採集菌株のレースとアブラナ科野菜の根こぶ病抵抗性品種に対する病原性. 九病虫研会報 **44** : 15 - 19.
- 17) 田中秀平・土屋彰吾・伊藤真一・亀谷満朗 (1997) 福岡県に分布するアブラナ科野菜根こぶ病菌 1 菌系の病原性の特徴. 九病虫研会報 **43** : 35 - 38.
- 18) YANO, S., S. Tanaka, S. Ito and M. Kameya - Iwaki (1996) Variations of Isozyme and Soluble Proteins among Field Populations of *Plasmodiophora brassicae*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. **62** : 365 - 371.
- 19) YANO, S., S. Tanaka, S. Ito and M. Kameya - Iwaki (1997) Variations of Radom Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Patterns among Field Populations of *Plasmodiophora brassicae*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. **63** : 179 - 182.
- 20) 吉川宏昭・芦澤正和・飛驒健一 (1981) アブラナ科野菜の根こぶ病抵抗性育種に関する研究. III. 根こぶ病抵抗性の早期検定法. 野菜試報 **A8** : 1 - 21.
- 21) 吉川宏昭・由比進 (1989) 根こぶ病抵抗性ハクサイ品種の罹病化に関する緊急調査報告. 野菜・茶試, pp.1 - 46.
- 22) 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・茶業試験場研究報告 **A7** : 61 - 68.
- 23) WILLIAMS, P. H. (1966) A system for the determination of races of *Plasmodiophora brassicae* that infect cabbage and rutabaga. Phytopathology **56** : 624 - 626.