

特集：テンサイ黒根病

人工接種によるテンサイ黒根病抵抗性検定手法

北海道農業研究センター おか ざき かず ゆき
岡 崎 和 之

はじめに

砂糖の原料作物であるテンサイは、アカザ科に属する二年生植物であり、ヨーロッパ、アメリカ、アジアを中心に世界で 550 万 ha 程度の作付面積がある。日本においては北海道でのみ栽培されているが、その作付面積は 68,000 ha に及び、コムギ、パレイショ、豆類と並び北海道の輪作体系上欠かすことのできない作物である。

テンサイの主要病害の一つである黒根病は、北海道の畑土壤に広く分布する糸状菌 *Aphanomyces cochlioides* DRECHSLER により引き起こされる土壤病害である (宇井・中村, 1963)。本病の発生は水田転換畑などの排水不良な畑や連作畑などで多く、また夏期の気象が高温・多雨な年に大発生する。黒根病は 6 月下旬から 7 月上旬頃に初発が認められ、以降 7 月中旬から 8 月にかけて発病が進展し、根部に黒色の根腐病斑や粗皮病斑を形成する。黒根病の発生は、深刻な糖収量の低下を招くとともに、製糖原料の貯蔵腐敗の原因となるなど、テンサイ産業に甚大な被害をもたらすため、防除対策の構築が重要である。

現在のところ、黒根病に対する防除薬剤としては、フルアジナム水和剤が登録されている。本薬剤の苗床灌注は、腐敗根率を低減させ、黒根病の防除法として有効であるが、小発生条件では薬剤費に見合う効果が得られない場合もある。一方、黒根病に対する抵抗性には、系統間差があることが以前から知られている。抵抗性品種の作付けは、黒根病の被害軽減に最も効果が高く、安定しているため (北海道, 2004)、黒根病抵抗性を有する品種の早期育成が求められている。

黒根病に対する抵抗性は、複数の遺伝子により制御されていると考えられている (MUKHOPADHYAY, 1987)。このため、黒根病の抵抗性育種では、系統の抵抗性を正しく評価し、選抜することを数年にわたって繰り返す必要がある。北海道農業研究センターでは黒根病が恒常的に発生する圃場において、自然発病による品種・系統の抵抗性の評価および選抜を行ってきた。しかし、黒根病の発

生には温度や土壤湿度が深く関与することが知られており (築尾ら, 1986)、年により黒根病の発病が進展せず、抵抗性の系統間差が不明瞭となるなど検定に支障をきたすことがある。また圃場内における発病のパラツキが大きいため、均一な発病条件下で試験区の設定ができない場合もある。このため、栽培環境の影響を受けずに安定的に黒根病を発病させる人工接種法の開発が不可欠であった。筆者は、圃場栽培に比べて栽培環境の制御が容易なポット栽培を用い、遊走子を接種源とした人工接種法を開発したので、本稿で紹介する。

I 人工接種法

テンサイ黒根病の人工接種法については、*A. cochlioides* の卵胞子を接種源とすることで病徴が再現できることが報告されている (内野ら, 1996)。また、渡辺ら (2000) は、育苗した苗に卵胞子を接種し、圃場に移植することで、黒根病の発病が促進され、接種の時期としては、移植期が適していることを報告している。*A. cochlioides* の感染形態は、卵胞子が発芽して生じる遊走子であり、これら遊走子が土壌水中を移動してテンサイの細根に侵入して感染が起こる。しかし、卵胞子から遊走子形成に至る過程には様々な要因が関与していると考えられ、卵胞子接種では接種圧の制御が困難である。そこで、*A. cochlioides* の感染形態である遊走子が接種源として適当であると考えた。

図-1 に遊走子を接種源としたテンサイ黒根病の人工接種法を記載した。接種は、播種後 30 日間育成した苗を接種濃度が 1 個体当たり 3.0×10^4 個の遊走子となるよう調整した遊走子懸濁液に 1 週間浸漬することにより行う。接種源である遊走子懸濁液の作成は、PARKE and GRAU (1992) の簡易形成法に従った。すなわち、PDA (Potato Dextrose Agar) 培地で培養した菌叢の外縁部分を、コルクボーラー (直径 8 mm) を用いて培地ごと切り取り、この菌体ディスク 6~7 片を滅菌水 20 ml が入ったシャーレに移し、24℃・暗黒条件下で静置して遊走子を形成させる。使用する菌株にもよるが、シャーレ (直径 90 mm) 1 枚の菌叢から 100 個体の接種に必要な遊走子懸濁液が得られる。温室レベルの試験では、この手法で十分であるが、より大規模な試験をする場合、液

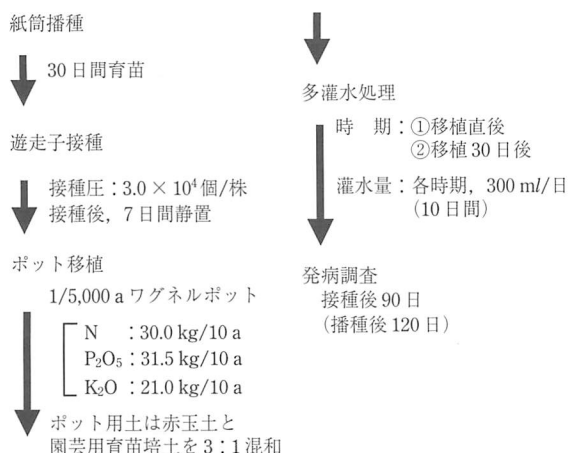


図-1 テンサイ黒根病の人工接種法の概要

体培養を用いた方法など、他の方法を模索する必要がある。接種後の苗は、1/5,000 a ワグネルポットに移植し、温室など育成環境の制御が可能な場所で栽培する。ポット用土は保水性を高めるため、粉碎した赤玉土に育苗培土「ポットエース」を3:1で混和したものを用い、基肥としてN:30.0, P_2O_5 :31.5, K_2O :21.0 kg/10 aを施肥する。

先に記述したとおり、黒根病の発生には温度や土壌湿度が大きく関与するため、黒根病が発生しやすい栽培環境を再現することが重要である。黒根病の発病は、土壌湿度が高い条件で多いことがよく知られている。そこで発病を促すことを目的に、移植直後および移植30日後から多灌水処理を行い、過湿条件を作り出すことにした。この多灌水処理を行わない場合、黒根病はほとんど発病しなかったため、この処理は必須であると考えられる。しかし、過度の灌水処理は生理的な腐敗を招き、黒根病抵抗性の検定を困難にするおそれがある。多灌水処理による湿害の影響を調査した結果では、湿害の影響は軽微であり、抵抗性を評価するうえで問題がないことが明らかとなっている。黒根病の発病と温度について、築尾ら(1986)は、黒根病の発生には20℃以上の地温が必要であり、地温が14℃と低い場合はほとんど発生しないことを報告している。筆者は、圃場試験と同時期の5月から8月にかけて、ガラス室で人工接種試験を行っているが、その場合、室内の温度管理は最低気温の制御のみとし、移植後30日目までを15℃以上、それ以降を20℃以上に設定している。この温度制御を実施しない場合、低温により黒根病の発病が進展せず、結果として抵抗性の系統間差が不明瞭になる場合が認められている。

以上の条件下で育成すると、移植60日後を過ぎたこ

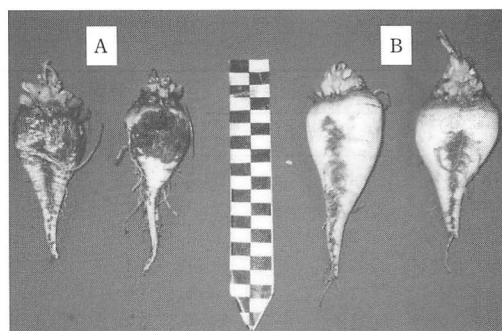


図-2 人工接種による根部の病徴

接種90日後の根部。A:接種個体, B:無接種個体。

ろから黒根病の発病に伴う葉の黄化症状が観察できる。この黄化症状は、内部腐敗を伴う高い発病の個体で特に激しく観察される。このため抵抗性が弱い系統の黄化具合を見ることができ、黒根病の発病を確認し、調査時期を判断することができる。通常、接種90日後の根部には明瞭な黒根病の病徴が認められ、抵抗性の検定が可能となる(図-2)。

II 人工接種法の育種への応用

1 人工接種による発病の系統間差

系統の抵抗性評価は、抵抗性育種の基本である。開発した人工接種法は、黒根病の病徴を再現することが可能だが、実際の育種に応用するには、圃場試験と同一の系統間差で抵抗性を評価できることを確認する必要がある。そこで、黒根病抵抗性の異なる系統を供試材料として、人工接種試験と圃場試験の二つの手法による黒根病の発病程度を比較した結果を表-1に示す。人工接種試験における黒根病の発病程度は、抵抗性検定の“やや弱”の基準品種「カプトマル」では内部腐敗を伴う激しい病徴が見られるなど、圃場試験に比べて高く、人工接種法による発病指数(0~5の6段階評価, 0:無病徴, 5:枯死)の平均は2.2と圃場試験の1.3に比べて高い。このため、人工接種試験における「カプトマル」から「北海90号」までの発病指数の幅は3.2と圃場試験の1.5に比べて広く、“中”の基準品種である「モノホマレ」と“やや強”の基準品種「スタウト」との差が、圃場試験では不明瞭なのに対し、人工接種試験では明らかに認められる。人工接種試験と圃場試験における発病指数の相関を図-3に示した。両試験の発病指数の間には高い正の相関関係が認められ、人工接種法により黒根病を圃場と同一の系統間差で検定できることが明らかとなった。

表-1 人工接種法および圃場試験における黒根病抵抗性の評価

系統名	人工接種試験		圃場試験	
	発病指数		発病指数	
NK-184	4.9	a	4.2	a
カブトマル	3.5	b	1.7	b
北海 88 号	2.5	c	1.3	c
モノホマレ	2.7	c	1.1	c
スタウト	1.5	d	1.0	c
ユキヒノデ	1.4	de	0.7	d
北海 91 号	0.9	e	0.5	d
北海 90 号	0.3	f	0.2	e
平均	2.2		1.3	
L.S.D. (5%)	0.5		0.3	
L.S.D. (1%)	0.7		0.5	

表中英文字は Duncan (5%) を示す。

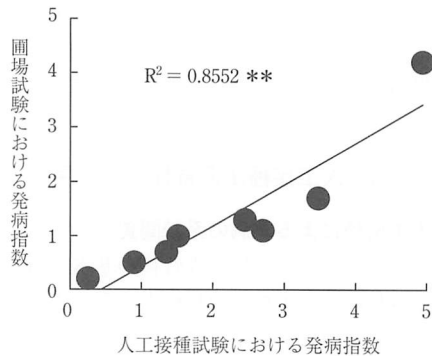


図-3 人工接種試験と圃場試験における黒根病発病指数の相関関係
個々のプロットは、供試系統の平均発病指数を示す。
**は 1%水準で有意差があることを示す。

2 人工接種による個体選抜

個体選抜は抵抗性系統を作り出すうえで必須な行程である。病害抵抗性の個体選抜において最も重要なことは、他の病害の影響を極力排除し、かつ対象とする病気の発病程度が高い条件下で選抜が行われることである。圃場試験では、個体周囲の環境、すなわち土壤水分や菌密度などにより発病程度が影響を受ける可能性があるが、人工接種試験では、これらの要因を排除し、個体の抵抗性を正確に評価することができると考えられる。

表-2 は、黒根病抵抗性の異なる「NK-303」と「NK-210BR」を交配した F₃ 集団を選抜原集団とした個体選抜試験の結果である。人工接種試験では、黒根病抵抗性が弱い「NK-210BR」において内部腐敗を伴う高い発病が見られ、両親系統である「NK-210BR」と「NK-

表-2 人工接種試験および圃場試験における黒根病の発病程度

系統名	発病指数	
	人工接種	圃場試験
NK-303	1.3	0.7
NK-210BR	3.3	1.0
F ₃ 集団	1.9	0.9

F₃ 集団は「F₃ (NK-303 × NK-210BR)」である。

表-3 黒根病抵抗性選抜後代の発病程度

系統名	発病指数	
	人工接種	圃場試験
NK-210BR	2.3	2.3
NK-303	1.2	1.4
F ₃ 集団	1.3	1.1
F ₄ 集団-P	0.6	0.6
F ₄ 集団-I	0.8	1.0

F₄ 集団-P：人工接種による選抜後代。
F₄ 集団-I：圃場試験による選抜後代。

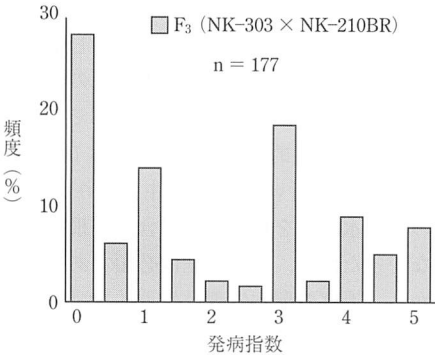


図-4 人工接種試験における発病指数の頻度分布

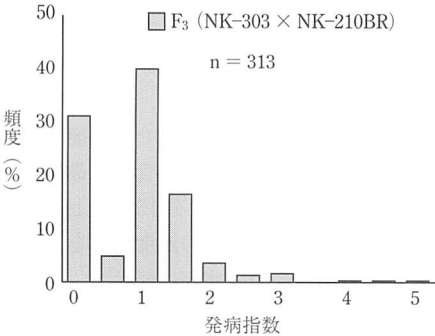


図-5 圃場試験における発病指数の頻度分布

303」の抵抗性の差が明瞭に認められる。一方、圃場試験においては、発病の進展が緩慢であったため、「NK-210BR」の発病指数は低く、両親系統の抵抗性の差は不明瞭であった。選抜原集団の発病指数の頻度分布（図-4, 5）は、人工接種試験においては、内部腐敗に至った発病指数3以上の個体が40%以上存在するなど、発病指数0～5まで幅広く分布している。一方、圃場試験では、発病指数0～1.5の範囲に分布が集中し、発病指数3以上の個体はほとんどなく、人工接種試験に比べて発病の幅は狭い。このように、人工接種試験は、圃場試験に比べて発病程度が高く、発病指数の分離が見られることから、個体選抜に適していると考えられる。また、選抜後代の結果（表-3）では、人工接種による選抜後代の発病指数は、選抜原集団に比べて低く、選抜効果が認められた。

以上の試験結果から、人工接種法による系統の抵抗性評価および個体選抜が可能であることがわかる。人工接種法は、試験期間が4か月であり、圃場試験の6か月に比べて2か月ほど短く、年2～3回の試験が可能である。また、圃場試験に比べて試験精度が高いため、検定に要する個体数は少なく、抵抗性検定であれば1区10個体の2反復で十分なデータが得られる。このように、人工接種法は黒根病抵抗性品種育成への利用価値が高く、さらには現在未解明である黒根病の抵抗性機作の解明への

応用が期待できる。

おわりに

近年、海外においてもテンサイ黒根病による被害が問題視され、抵抗性育種への取り組みが積極的に行われているが、いまだ品種育成には至っていない。北海道農業研究センターは、海外に比べて早くから黒根病抵抗性育種に取り組んだことで、黒根病に対して強い抵抗性を示す系統を育成し、実用形質を備えた黒根病抵抗性系統「北海90号」を育成している。また、黒根病抵抗性のDNAマーカーを開発するなど、北海道農業研究センターはこの分野で優位に立っている。今後、抵抗性系統、DNAマーカー、そして人工接種法の三つの技術により、黒根病抵抗性品種の育成が飛躍的に推進されると期待される。

引用文献

- 1) 北海道（2004）：北海道農業試験会議。
- 2) MUKHOPADHYAY, A. N. (1987) : CRC hand book on disease of sugar beet volume 1, CRC Press, Florida, p. 119 ~ 125.
- 3) PARKE, J. L. and C. R. GRAU (1992) : Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi, APS press, St. Paul Minnesota, p. 27 ~ 38.
- 4) 築尾嘉章ら（1986）：日本植物病理学会報 52:142（講要）。
- 5) 宇井格生・中村重治（1963）：甜菜研究会研究報告 3:78 ~ 95.
- 6) 内野浩克・渡辺英樹（1996）：てん菜研究会報 38:85 ~ 91.
- 7) 渡辺英樹ら（2000）：同上 42:47 ~ 51.

（新しく登録された農業5ページからの続き）

●カルタップ・BPMC粒剤

21808：STバダンバッサ粒剤（住化武田農業）2006/10/4

カルタップ：3.5%、BPMC：4.0%

稲：ニカメイチュウ、ウンカ類、イネドロオイムシ、ツマゲロコバエ、イネツトムシ、コブノメイガ、サンカメイチュウ、イネミズゾウムシ、スクミリングガイ（食害防止）：収穫30日前まで

●アセフェート・MEPエアゾル

21810：GFオルトランS（住化武田農業）2006/10/4

アセフェート：0.19%、MEP：0.17%

ばら：アブラムシ類、チュウレンジハバチ：—

きく：アブラムシ類：—

つつじ：ルリチュウレンジハバチ、ツツジゲンバイ：—

さくら：アメリカシロヒトリ：—

つばき：チャドクガ：—

さざんか：チャドクガ：—

くちなし：オオスカシバ：—

まさき：ミノウスバ：—

さんごじゅ：サンゴジュハムシ：—

●フロニカミド水和剤

21812：ウララDF（石原産業）2006/10/6

フロニカミド：10.0%

りんご：アブラムシ類：収穫14日前まで

なし：アブラムシ類：収穫14日前まで

もも：アブラムシ類：収穫14日前まで

うめ：アブラムシ類：収穫7日前まで

いちご：アブラムシ類：収穫前日まで

きゅうり：アブラムシ類、オンシツコナジラミ：収穫前日まで

なす：アブラムシ類、オンシツコナジラミ：収穫前日まで

メロン：アブラムシ類：収穫前日まで

ばれいしょ：アブラムシ類：収穫7日前まで

茶：チャノキイロアザミウマ、チャノミドリヒメヨコバイ：摘採7日前まで

●フロニカミド水和剤

21813：ウララ50DF（石原産業）2006/10/6

フロニカミド：50.0%

きく：アブラムシ類：発生初期

●チリカブリダニ剤

21814：石原チリガブリ（石原産業）2006/10/18

チリカブリダニ：2,000頭/30ml

なす（施設栽培）：ハダニ類：発生初期

いちご（施設栽培）：ハダニ類：発生初期

●アセフェート水和剤

21819：家庭園芸用GFオルトラン水和剤（住化武田農業）2006/10/18

アセフェート：50.0%

なす：アブラムシ類、アザミウマ類、ハスモンヨトウ、オオタバコガ：収穫7日前まで

（13ページに続く）