

アブラナ科植物に寄生するべと病菌の
生態に関する研究

佐藤 衛

①

アブラナ科植物に寄生するべと病菌の
生態に関する研究

佐藤 衛

アブラナ科植物に寄生するべと病菌の 生態に関する研究

目 次

第 I 章．緒 言	1
第 II 章．既往の研究	4
第 III 章．新たに発見したアブラナ科野菜のべと病	10
1．目的	10
2．ブロッコリーべと病	10
3．カリフラワーべと病	12
4．カイランべと病	15
5．タアサイべと病	17
6．まとめ	20
第 IV 章．べと病菌の分離および人工接種法による増殖	21
1．目的	21
2．病原菌の分離および増殖	21
(1) 一般的な分離	21
(2) 単孢子分離および単孢子による接種	24
3．人工接種の条件	26
(1) 接種後の温度と発病	26
(2) 分生子濃度と発病	29
4．考 察	29

第V章．べと病菌菌株の長期保存方法の確立	32
1．目的	32
2．凍結温度の選定	32
3．-20℃による保存条件の選抜	33
(1) 分散媒の分生子に対する影響	33
(2) 分散媒の濃度の分生子に対する影響	35
(3) 解凍温度の影響	37
(4) 分散媒混合による分生子に対する影響	39
(5) -20℃での長期保存	41
(6) まとめ	43
4．-80℃による保存条件の選定	45
(1) 凍結速度の影響	45
(2) -20℃で予備凍結後-80℃での保存	48
(3) 既存の保存方法との比較	49
(4) まとめ	51
5．考 察	51
第VI章．べと病菌の寄生性分化	56
1．目的	56
2．単孢子分離菌株を用いた接種検定	56
(1) 検定方法	56
1) 接種源と接種方法	56
2) 接種植物の準備	57
3) 寄生性の判定	58
(2) 結果	59
1) キャベツべと病菌	59
i. アブラナ科野菜に対する寄生性	59
ii. <i>Brassica oleracea</i> 内の品種に対する寄生性	59

2) ブロッコリーベと病菌	62
i. アブラナ科野菜に対する寄生性	62
ii. <i>Brassica oleracea</i> 内の品種に対する寄生性	62
3) カリフラワーベと病菌	65
i. アブラナ科野菜に対する寄生性	65
ii. カリフラワー品種に対する寄生性	65
4) ハクサイベと病菌	65
i. アブラナ科野菜に対する寄生性	65
ii. <i>Brassica campestris</i> 内の品種に対する寄生性	69
5) カブベと病菌	69
i. アブラナ科野菜に対する寄生性	69
ii. <i>Brassica campestris</i> 内の品種に対する寄生性	72
6) ダイコンベと病菌	72
7) カイランベと病菌	72
8) タアサイベと病菌	76
(3) 考 察	77
3. 遺伝子レベルから見た寄生性の分化	81
(1) 制限酵素断片長多型(RFLP)	81
(2) 考 察	86
第VII章. 総合考察	91
第VIII章. 摘 要	99
第IX章. 引用文献	102

第 I 章 . 緒 言

アブラナ科 (Cruciferae) は別名ジュウジバナ科とも呼ばれ、学名には Brassicaceae も用いられる。このアブラナ科は大きな植物グループであり、各国で食用に用いられているものが数多く存在する。*Armoracia* 属 (ワサビダイコン)、*Nasturtium* 属 (ウォータークレス)、*Brassica* 属 (カブ、キャベツ、ハクサイ等)、*Raphanus* 属 (ダイコン)、*Eutrema* 属 (ワサビ) 等が代表的なものである。*Capsella* 属 (ナズナ)、*Crambe* 属 (ハマナ) 等のようにマイナーではあるが、食用に栽培されるものもある。また、観賞用としても数多く栽培されている。これらの中でも最も重要なものは、*Brassica* 属であり、数多くの野菜が存在する。カブ〔*B. campestris* L. (Rapifera group)〕、ハクサイ〔*B. campestris* L. (Pekinensis group)〕、キャベツ〔*B. oleracea* L. (Capitata group)〕、ブロッコリー〔*B. oleracea* L. (Italica group)〕、カリフラワー〔*B. oleracea* L. (Botrytis group)〕を代表とするのをはじめ、ツケナ類と称されるものに含まれるキョウナ〔*B. campestris* L. (Japonica group)〕およびタイサイ〔*B. campestris* L. (Chinensis group)〕、さらにはカラシナ〔*B. juncea* Czern. et Coss. (Cernua group)〕、この他にも飼料用作物としてルタバガ〔*B. napus* L. (Napobrassica group)〕、観賞用植物としてハボタン〔*B. oleracea* L. (Acephala group)〕などがある。また、*Raphanus* 属の野菜には、我が国で最も重要な野菜であるダイコン〔*R. sativus* L. (Daikon group)〕をはじめハツカダイコン〔*R. sativus* L. (Radicula group)〕などがある。

これらアブラナ科野菜の我が国での平成8年度における作付面積および生産量は次の通りである⁷⁹⁾。ダイコン：51,800ha，2,132,000t，キャベツ：38,900ha，1,539,000t，ハクサイ：25,200ha，1,162,000t，カブ：6,770ha，195,500t，ブロッコリー：8,080ha，85,100t，カリフラワー：2,030ha，38,700t，また，平成6年度での統計では，ツケナ：3,853ha，88,737t，チンゲンサイ：1,644ha，30,590t，タアサイ：65ha，1,237t，パクチョイ：19ha，241tとなっている。ダイコン，キャベツ，ハクサイ，カブ，ブロッコリー，カリフラワーの上位6品目を合わせると全野菜の作付け面積の約23%，生産量では約31%にのぼる。これにツケナ，チンゲンサイ，タアサイ，パクチョイ等も含めれば，さらに増える。したがって，アブラナ科植物は我々の食生活には欠かせない重要な野菜グループの1つをなしていることがうかがえる。

これらアブラナ科植物は，他の多くの科の植物と同様に様々な病原菌に侵される。その中の大部分の病原菌は，人工培地上においても生育することができるが，いくつかの病原菌は人工培地上では生育できず，宿主植物上でのみ生育するものがあり，純寄生菌と呼ばれている。アブラナ科における純寄生菌の代表的なものには，*Plasmodiophora brassicae* Woronin（根こぶ病菌），*Albugo macrospora* (Togashi) Ito および *Albugo candida* (Persoon) Kuntze（白さび病菌），*Erysiphe cichoracearum* de Candolle および *Erysiphe polygoni* de Candolle（うどんこ病菌）等がある。*Peronospora parasitica* (Persoon: Fries) Fries（異名：*Peronospora brassicae* Gäumann）もこれら純寄生菌の一つであり，べと病と呼ばれる病気を引き起こす。

アブラナ科べと病に関する研究は，海外では精力的に行われているのに対し，我が国での本病に対する取り組みは後れ，防除法の向

上に利用できる知見は必ずしも十分ではない。この理由として、本病原菌が培養のできない純寄生菌であるため、生理・生態的特性が明らかでない部分が多い。培養実験ができない本病菌の特性や植物に対しての寄生性を解明するためには、本病原菌を安定的に維持し、増殖させることは必要不可欠な手段である。本研究では、III章ではこれまで我が国で報告の無かったアブラナ科野菜のべと病を報告し、病原菌の同定を行った。さらに、アブラナ科べと病菌の寄生性の分化を調査するため、IV、V章では単孢子分離菌株を得る技術と菌株を凍結保存する技術を確立した。VI章では、寄生性の分化の詳細な調査を行い、アブラナ科べと病の薬剤に頼った防除以外に、生態的な防除の可能性を検討した。

農業上重要な植物に寄生して病害を引き起こす病原菌においては、この分野の研究は数多いが、人工培養のできない純寄生菌においては研究数は少ない。本研究では、アブラナ科野菜およびアブラナ科べと病菌の遺伝的な進化の過程を推測し、両者がどのように進化をしてきたのかを知るための有用な知見を得ようとしたものである。

第 II 章．既往の研究

本病菌は，分類学的には，卵類菌（Oomycetes），ツユカビ目（Peronosporales），べと病菌科（Peronosporaceae）に属する菌類の総称で，無隔菌糸体，吸器，分生子柄，分生子，卵胞子からなり，このうち無隔菌糸体，吸器，卵胞子は宿主の体内に埋没している．べと病菌科の中にはいくつかの属があり，各属には多くの種が含まれている．したがって，べと病菌は植物病原菌類の中でも重要な部門を占めている．

これらべと病菌は，全ての種類が人工培地上では生育できない純寄生菌であり，そのため，べと病菌について，様々な方法で人工培養および宿主植物の培養細胞上での維持等が試みられている^{1,3,7,9,82,83,86,126}．べと病菌は分生子柄の形態および分生子の発芽法に基づいて分類されるが，農作物に関係深い属は，*Bremia*，*Peronospora*，*Plasmopara*，*Pseudoperonospora*，*Sclerospora* の 5 属である．*Bremia* 属菌は主にキク科植物に見出され，代表的なものとしてレタスべと病があげられる．*Peronospora* 属菌はアブラナ科植物，ネギ，ホウレンソウ，ダイズ等多くの農作物に見出される．*Plasmopara* 属菌はブドウ，セリ科植物等に見出される．*Pseudoperonospora* 属菌はウリ科植物，ホップ等に見出される．*Sclerospora* 属菌はアワ等に見出される．本研究では，アブラナ科野菜に寄生する *Peronospora* 属菌について行った．

Peronospora 属菌の形態的な特徴は，分生子柄が正しく叉状分岐をし，先端に掌状部がなく，分生子は発芽管を出して発芽する．宿主

の気孔から侵入し，侵入した菌糸は細胞間隙に蔓延し，吸器を形成し，宿主から養分を吸収する．気孔から分生子柄を抽出し，その先端に分生子を形成し，次の伝染源となる．また，病組織内の菌糸の一部が造精器や造卵器になり，両者の受精によって卵胞子が形成される．卵胞子を形成するための有性生殖を行うには，*P. parasitica* においては，二つの菌糸体の相互作用を必要とする heterothallism ではないかと考えられている^{18,101,102)}．この卵胞子がべと病菌の越夏および越冬に役立つと考えられる．しかし，卵胞子が発見されにくいことなどから，越夏越冬に関しては十分な研究が行われていない．我が国でアブラナ科野菜にべと病を引き起こす病原菌としては，*P. brassicae* のみが報告されていた⁷⁴⁾．しかし，*P. parasitica*，異名：*P. brassicae* がナズナ (*Capsella bursa-pastoris*) に寄生するとされ¹²⁴⁾，近年ではすべてのアブラナ科野菜のべと病菌についても *P. parasitica* が一般的に用いられている⁷⁸⁾．

我が国における *P. parasitica* によるアブラナ科野菜べと病の発生は，*B. oleracea* に属する野菜ではキャベツ⁵⁰⁾でのみ報告されている．*B. campestris* に属する野菜ではハクサイ¹⁰⁸⁾，カブ¹⁰⁴⁾およびその他のアブラナ科類べと病とされるツケナ類²⁾で報告されている．*R. sativus* に属する野菜ではダイコン³⁴⁾でのみ報告されている．また，野菜以外の特用作物で，*B. napus* においてナタネべと病⁴⁶⁾がある．これらの各べと病は，外葉から下葉に発生し，葉脈間に淡褐色，不定形の病斑を生ずる．病斑は，不揃い不定形で葉脈に区切られた多角形となり，汚白色，霜状のかびが生えるなどのほぼ同じ病徴を示す．また，各菌株とも冷涼な気候を好み，高湿度，多雨時に発生が多くなる．

また、近年著者らが新病害として発見したアブラナ科野菜のべと病として、ブロッコリー⁹⁶⁾、カリフラワー⁹⁷⁾、カイラン⁹⁸⁾、タアサイ⁹⁸⁾に発生したべと病がある。詳細についてはIII章に記載した。この他、観賞植物であるハボタン⁴¹⁾ (*B. oleracea*) に近年べと病が発見されている。

これら各べと病菌の分生子柄は気孔より抽出し、叉状に数回分岐して、先端に分生子を形成するのはもちろん、分生子もほとんどの菌株で無色、形態も円～楕円形であり、大きさもばらつきはあるものの近似しており(表1)、更には発芽管を出して発芽する。このように *P. parasitica* は多くのアブラナ科植物に寄生性を示すが、外見上の形態からどの植物に寄生していたのかを知ることは困難である。

アブラナ科野菜べと病菌 (*P. parasitica*) の寄生性の研究は、Gäumann²⁶⁾ が *Brassica* 属に寄生する *P. parasitica* f. sp. *brassicae*, *Sinapis* 属 (シロガラシ属) に寄生する *P. parasitica* f. sp. *sinapidis* および *Raphanus* 属に寄生する *P. parasitica* f. sp. *raphani* の3つの *formae specialis* (分化型) に分けることから始まった。日本では Hiura and Kanegae⁴⁰⁾ の報告などがある。

Hiura and Kanegae⁴⁰⁾ はダイコンべと病菌、ハクサイべと病菌、タイサイべと病菌およびカブべと病菌を用いて、寄生性を調べている。その中で、

- 1) ダイコンから分離された菌は、ダイコン、ハクサイ、コマツナなどに寄生するが、タイサイ、キャベツなどには寄生しない
- 2) ハクサイ、タイサイから分離された菌は、ハクサイ、カブ、

表1 各べと病菌の分生子の色、形および大きさ

べと病菌	色	形	大きさ(μm)
キヤベツ ^{a)}	無色	楕円	22 ~ 30 × 22 ~ 28
ハクサイ ^{b)}	無色	卵または広楕円	15 ~ 30 × 14 ~ 24
カブ ^{c)}	無色	球	22 ~ 30 × 22 ~ 28
その他のアブラナ科類 ^{d)}	無色	広楕円~卵	15 ~ 29 × 14 ~ 24
アブラナ ^{e)}	無色	広楕円または卵	15 ~ 29 × 14 ~ 24
ダイコン ^{f)}	無色→暗灰色	広楕円	15 ~ 29 × 14 ~ 24
ブロッコリー ^{g)}	無色	円~卵~楕円	21 ~ 29 × 17 ~ 24
カリフラワー ^{h)}	無色	円~卵~楕円	18 ~ 26 × 16 ~ 23
カイラン ⁱ⁾	無色	円~卵~楕円	20 ~ 29 × 19 ~ 25
ハボタシ ^{j)}	無色	広楕円~卵	15 ~ 29 × 14 ~ 24
タアサイ ^{k)}	無色	円~卵~楕円	16 ~ 24 × 18 ~ 30

a)木曾・田代⁵⁵⁾, b)竹内¹⁰⁸⁾, c)清水¹⁰⁵⁾, d)我孫子²⁾, e)梶原⁵³⁾, f)萩原³⁷⁾,
g)佐藤ら⁹⁸⁾, h)佐藤・堀内⁹⁶⁾, i)佐藤・福本⁹⁶⁾, j)本間・飯嶋⁴⁴⁾, k)佐藤ら⁹⁷⁾

コマツナ，タイサイなどには寄生するが，ダイコン，キャベツには寄生しない

3) キャベツから分離された菌は，ダイコン，ハクサイを侵す菌とは菌系が異なる

ことが示されている。

この他に，McMeekin⁶⁵⁾は，ダイコンベと病菌およびキャベツベと病菌を用いて寄生性を調べている。その中で，

1) ダイコンベと病菌はダイコン，カリフラワーおよびキャベツに寄生できるが，カラシナには寄生できない

2) キャベツベと病菌はカラシナ，カリフラワーおよびキャベツに寄生できるが，ダイコンには寄生できない。

さらに，Sheriff and Lucas¹⁰³⁾は，*B. campestris*，*B. oleracea*，*B. napus* および *B. juncea* から分離したベと病菌を用いて寄生性を調べている。これによると，

1) *B. campestris* 分離菌は，*B. campestris* に対して強い寄生性を示し，*B. juncea*，*B. oleracea*，*B. napus* に対しては *B. campestris* ほど強い寄生性は示さない

2) *B. oleracea* 分離菌は *B. oleracea* に対して強い寄生性を示し，*B. campestris*，*B. juncea*，*B. napus* に対しては *B. oleracea* ほど強い寄生性は示さない

3) *B. napus* 分離菌は，ばらつきはあるものの *B. napus*，*B. oleracea*，*B. campestris* の順に，寄生性の強さを示し，*B. juncea* に対しては寄生性を示さない

4) *B. juncea* 分離菌は *B. juncea* に対して強い寄生性を示し，*B. campestris*，*B. oleracea* および *B. napus* に対しては *B. juncea* ほど

ど強い寄生性を示さない。

以上、これまで得られている知見を総合すると、べと病菌を分離した植物と同じ種の植物に対しては、そのべと病菌は寄生できるが、それとは異なる種の植物に対する寄生性は、使用された菌株による差異が大きく、分化型レベルでの寄生性分化を論じることは難しいことが示唆される。また、現在までに、各国でアブラナ科べと病菌の寄生性の分化の研究も行われているが、研究ごとに菌株の寄生性の異なることが多い。その一因として、単孢子分離菌株が試験に供されていない点が考えられる。また、菌株の保存技術が確立していなかったため、過去に行われた試験を追試する事も困難である。

以上に概説したようにアブラナ科べと病に関する研究の歴史は古く、しかも、海外の報告が大半であり、我が国での知見は比較的少い。本研究の開始時には、本病の接種方法や保存方法も十分に検討されておらず、発生生態について詳細な実験は行われていないのが実態であった。とくに、本研究で目的とした保存方法の確立や単孢子分離菌株の寄生性の解明については、ほとんど知見がなかった。

第 III 章．新たに発見したアブラナ科野菜のべと病

1．目的

我が国で，*P. parasitica* によるアブラナ科野菜のべと病はこれまでにキャベツ，ハクサイ，カブ，ダイコン，アブラナおよびその他のアブラナ科野菜としてノザワナの報告があった．しかし，近年様々な野菜や観賞用の植物が導入され，新たな病害の発生が懸念されており，実際に，ハボタンにおいてべと病の確認がなされている⁴⁴⁾．そのため，我が国でどれだけの植物が *P. parasitica* による被害を受けているのかを改めて把握しておく必要がある．そのため，様々なアブラナ科植物において，べと病の発生状況を調査する．そこで，べと病と考えられる病害の発生が確認された場合には新たな宿主であるかの確認をし，病原菌の形態観察，病原性の調査等を行い，病原菌の同定を行う．また，新たな宿主と確認された植物においては新病害として，正式にべと病と命名する．

2．ブロッコリーべと病

1990年1月に三重県安芸郡安濃町で栽培されていたブロッコリー [*Brassica oleracea* L. (Italica group)] の葉の葉脈間に淡褐色で不定形の病斑が観察された(図1)．病斑中には褐色え死斑も見られた．病斑は葉脈に区切られた多角形のものもあるが，多くは不定形で不揃いなものであった．葉裏には，汚白色，霜状のかびを生じた．この病斑部からかびの胞子を集めて健全なブロッコリーに接種したとこ

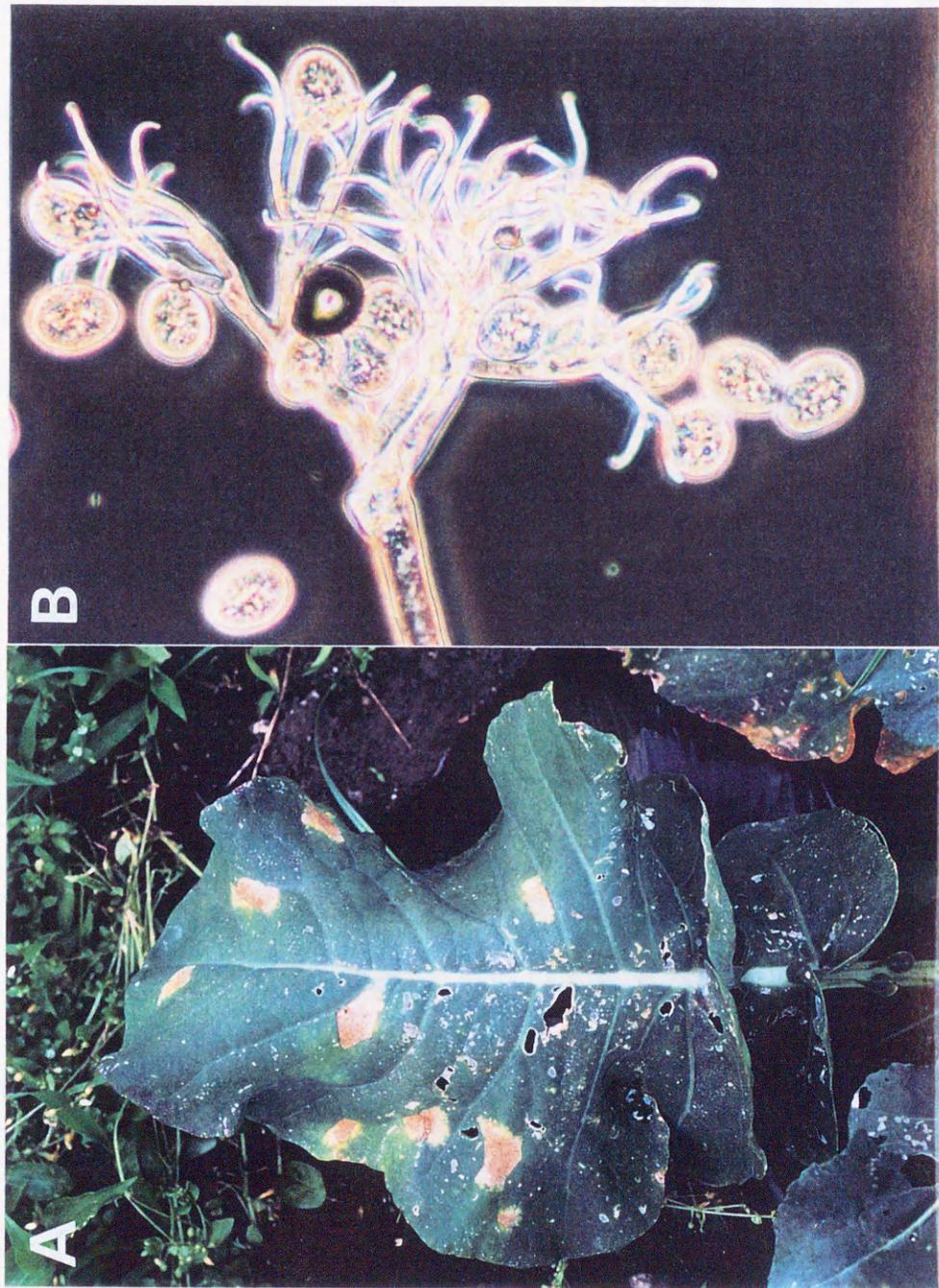


図1 ブロッコリーと病の病徴 (A) およびブロッコリーと病菌の分生子および分生子柄 (B)

ろ，同様な病徴が再現され，病斑部から同様の菌が検出された．顕微鏡下において，本菌の分生子および分生子柄を観察した結果，病原菌は気孔より分生子柄を抽出し，数回叉状に分岐し，その先端に分生胞子を形成していた．分生子は，円～卵～楕円形で無色，大きさは $21\sim 29\times 17\sim 24\mu\text{m}$ (平均 $25\times 20\mu\text{m}$) であった(表 1)．卵胞子は確認されなかった．分生子および分生子柄の形態的特徴から，本菌は *Peronospora parasitica* (Persoon: Fries) Fries (synonym: *Peronospora brassicae* Gaumann) と同定された．本病はブラジル¹²⁰⁾，アメリカ⁵⁵⁾ などにおいてはすでに報告があるが，我が国では未記載の病害であるので，本病をブロッコリーベと病 (downy mildew of broccori) と命名した．

3. カリフラワーベと病

1998 年 10 月岩手県盛岡市で栽培されていたカリフラワー [*Brassica oleracea* L. (Botrytis group)] の栽培後期の下葉に，葉脈に囲まれた不定形の黄色の病斑が認められた(図 2)．発病初期には葉脈間に淡褐色の病斑を生じ，病斑中には褐色え死斑も観察された．病斑は葉脈に区切られた多角形のものもあるが，多くは不定形で不揃いなものとなり，葉裏には，汚白色，霜状のかびを生じた．この霜状のかびを健全なカリフラワーの葉に接種したところ，同様な病斑が確認され，病斑部には霜状のかびを密生した．本菌は気孔より分生子柄を抽出し，数回叉状に分岐し，その先端に分生子を形成していた(図 3)．分生子は，円形～卵形～楕円形で無色，大きさは $18\sim 26\times 16\sim 23\mu\text{m}$ (平均 $22\times 19\mu\text{m}$) であった(表 1)．卵胞子は確認

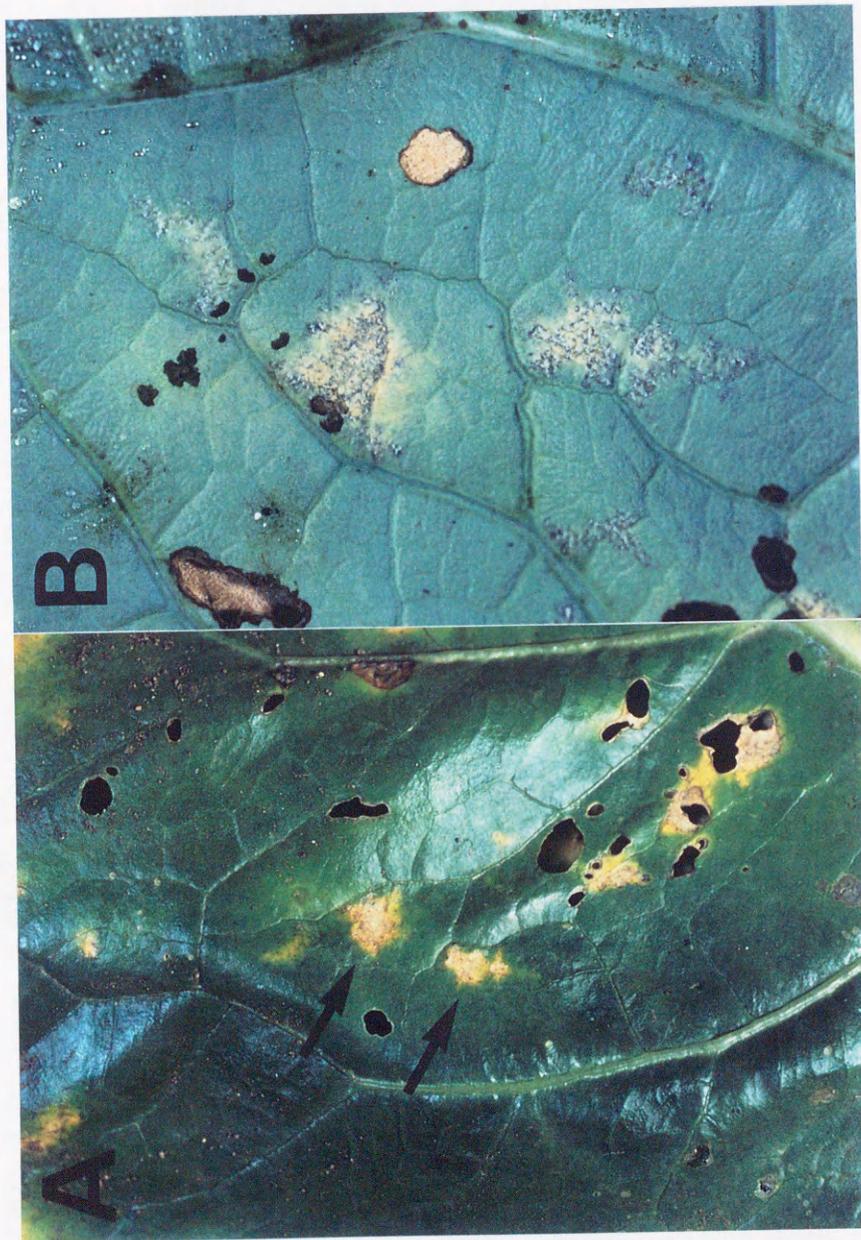


図2 カリフラワーベと病の病徴
(A) 葉表, (B) 葉裏

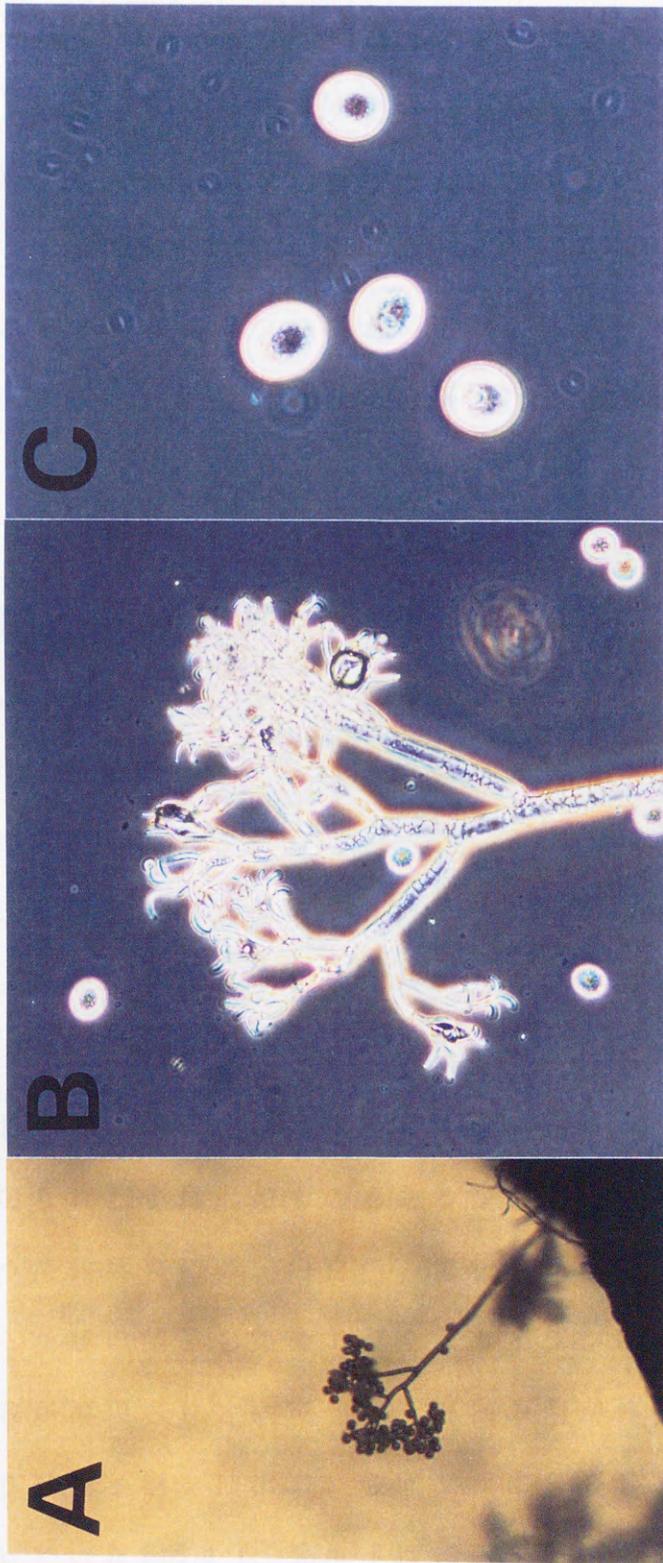


図3 カリフラワーベと病菌

(A) 分生子柄 (実体顕微鏡下), (B) 分生子柄 (光学顕微鏡下) (C) 分生子

されなかった。分生子および分生子柄の形態的特徴から、本菌は *Peronospora parasitica* (Persoon: Fries) Fries と同定された。カリフラワーベと病は、海外ではデンマーク³¹⁾をはじめとし、古くから知られており、また、花らいに発生し問題になることも古くから知られている⁴⁷⁾。さらには、抵抗性およびレースの関係も知られている¹¹³⁾。しかし、我が国ではカリフラワーにおいては、本病は未記録であるので、カリフラワーベと病 (downy mildew of cauliflower) と命名した。

4. カイランベと病

カイランは、キャベツ、カリフラワー、ブロッコリーなどと同じ *Brassica oleracea* に分類され、さらには、*Alboglabra group* に属し、開花始期に花茎を食する野菜である。

1993年3月三重県安芸郡安濃町で、カイランの葉に淡褐色、不定形で不揃いの病斑を生じ、裏面には霜状のかびを生じる病害が発生した。下葉から発生し始め、上葉まで侵される。はじめに葉脈間に淡褐色の病斑を生じ、病斑中には褐色え死斑も見られた(図4)。病斑は葉脈に区切られた多角形のものもあるが、多くは不定形で不揃いなものであった。葉裏には、汚白色、霜状のかびを生じた。これらの病斑部からかびの胞子を集めて健全なカイランに接種したところ、同様の病徴が再現され、病斑部から同様の菌が検出された。病原菌は気孔より分生子柄を抽出し、数回叉状に分岐し、その先端に分生子を形成していた(図4)。分生子は、円～卵～楕円形で無色、大きさは $20\sim 29 \times 19\sim 25 \mu\text{m}$ (平均 $25 \times 22 \mu\text{m}$) であった(表1)。卵胞

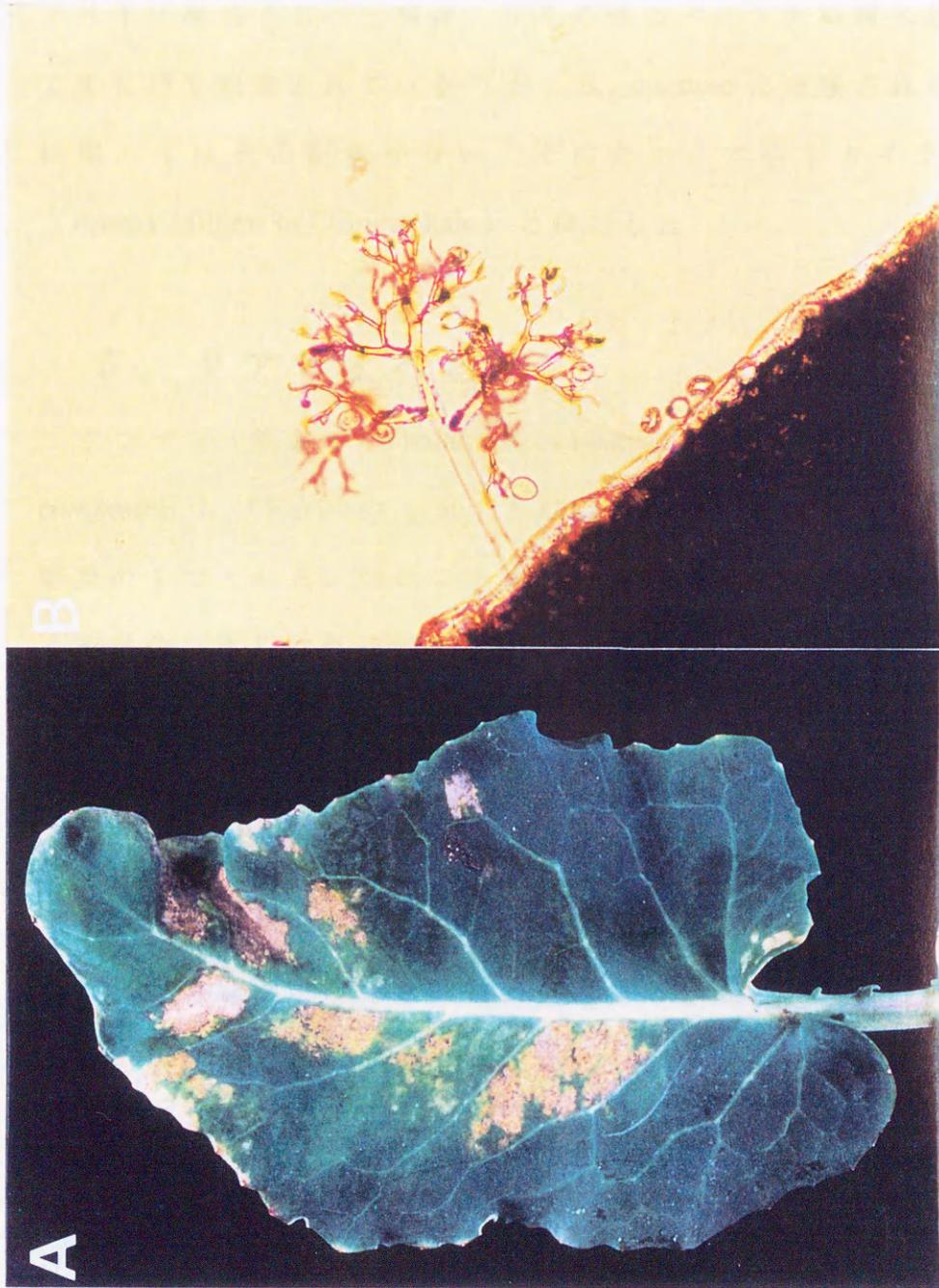


図 4 カイランベと病の病徴 (A) およびカイランベと病菌の分生子および分生子柄 (B)

子は確認されなかった。分生子および分生子柄の形態的特徴から、本菌は *Peronospora parasitica* (Persoon: Fries) Fries と同定された。我が国では、*B. campestris* に分類されるコマツナ、キョウナおよびタイサイに発生するべと病は、「その他のアブラナ科類べと病」としてまとめて記載されている¹⁰⁷⁾が、*B. oleracea* に分類されるカイランに関してはその記載がない。そのため、本病をカイランべと病 (downy mildew of Chinese kale) と命名した。

5. タアサイべと病

タアサイ (英名: Ta-tsui, Broad-leaved mustard) [学名: *Brassica campestris* L. (Narinosa group)] は、ツケナに分類されるアブラナ科野菜の1つである。地面に平伏して生育し、葉はさじ型で葉身は丸く濃緑色、周辺は外側にまくれ、表面にはちりめん状にしわがある。ターツァイ、タアツァイとも呼ばれている。1998年10月岩手県盛岡市で、露地で栽培されていた収穫期間際の際のタアサイの下葉に、黄色で不定形の小型の病斑が点在して認められた(図5)。病斑部の葉裏には白色粉状のかびが密生していた。この病斑部から病原菌を分離し、健全なタアサイの幼苗に接種したところ、同様の病徴が再現され、病斑部には同じ菌が確認された。病原菌は、気孔から分生子柄を抽出し叉状に数回分岐し、その先端に円～卵～楕円形で無色の分生子を形成していた(図6)。分生子の大きさは $18\sim30\times16\sim24\mu\text{m}$ (平均 $24\times20\mu\text{m}$) であった(表1)。卵胞子は確認されなかった。分生子および分生子柄の形態的特徴から、本菌は *Peronospora parasitica* (Persoon: Fries) Fries と同定された。我が国では、タアサ

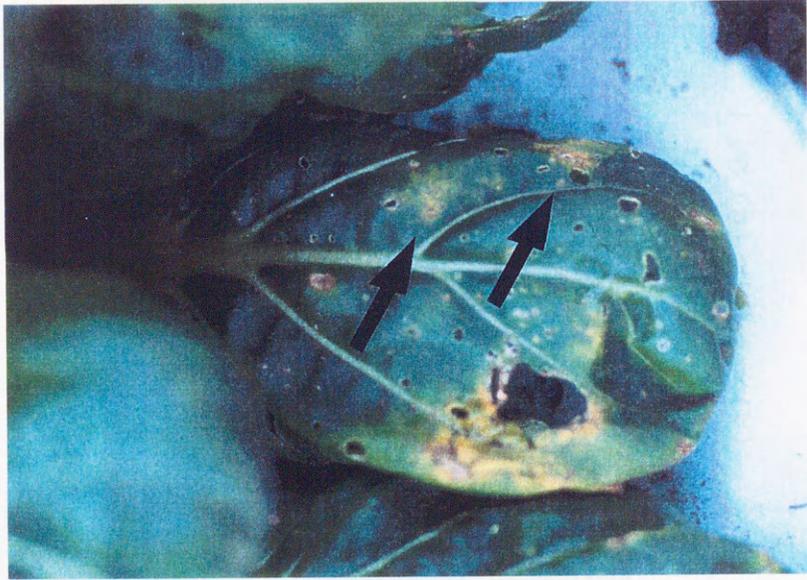


図5 タアサイベと病の病徴

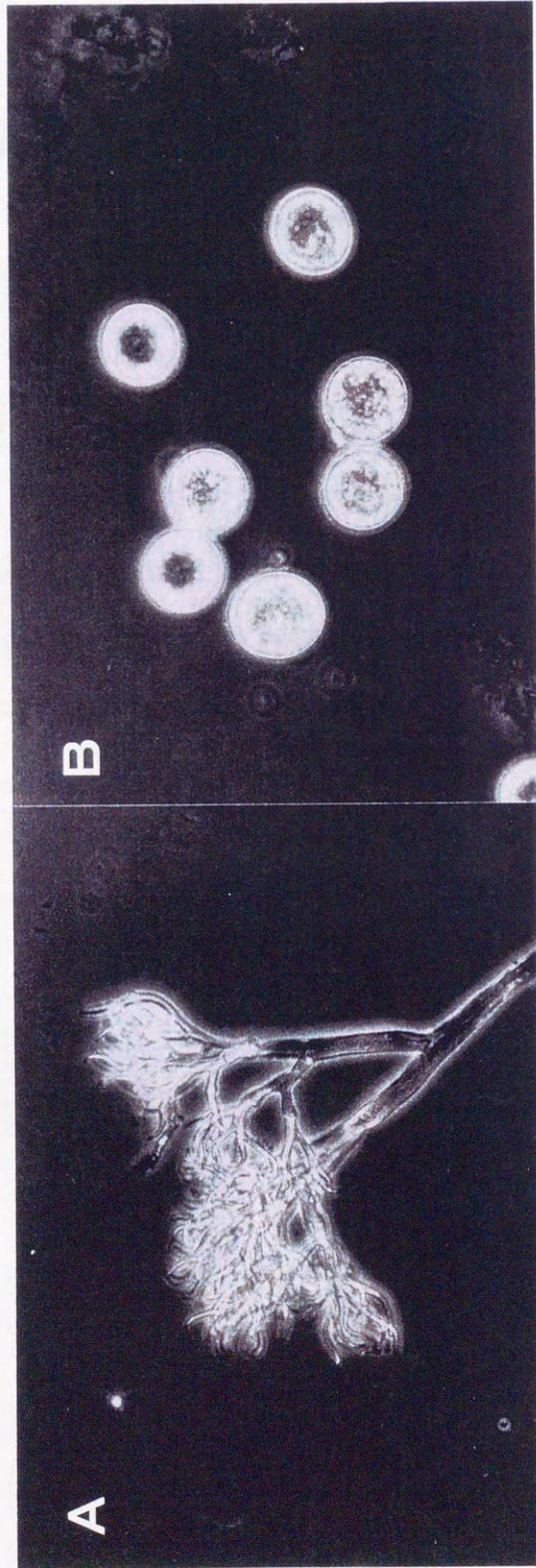


図6 タアサイベと病菌
(A) 分生子柄, (B) 分生子

イにおいては本病害は未記録であるため，本病をタアサイベと病
[downy mildew of Ta-tsuai (Broad-leaved mustard)] と命名した．

6. まとめ

近年，我が国では新たな野菜の導入により，その品目が増加して
いる．それに伴って，新たな病害が発生し，本章では，ブロッコリ
ー，カリフラワー等の現在では主要な野菜となっているものおよび
カイラン，タアサイ等の中国野菜において発生した病害を *P.*
parasitica に起因するものとし，本病をべと病と命名した．これら
べと病菌は，形態的にはこれまで報告のあるアブラナ科のべと病菌
とほぼ同じである．これら病原菌の同定および病名の命名によつて
はじめて，病害が公式に認められることとなった．本病害の発生生
態の解明を進める上でも重要な報告である．

第 IV 章 . ベと病菌の分離および人工接種法による増殖

1 . 目的

アブラナ科植物に寄生するベと病菌は人工培養のできない純寄生菌であるため、実験に供するには維持・増殖方法を確立する必要がある。また、寄生性を調査するためには分離菌を純系統にして試験を行う必要があるが、アブラナ科植物ベと病菌においては、単孢子分離方法による純系統の作出はなされていなかった。そこで、単孢子分離方法を含めた分離方法を確立し、維持・増殖に適した条件の探索を行う。

2 . 病原菌の分離および増殖

(1) 一般的な分離

実験方法

キャベツベと病罹病葉を香川県琴南町 3 カ所から、ブロッコリーベと病罹病葉を三重県安濃町、鳥取県大栄町、三重県嬉野町から、ハクサイベと病罹病葉を岡山県加茂川町の 3 カ所と京都府綾部市、京都府亀岡市から、カブベと病罹病葉を京都府亀岡市、岡山県加茂川町の 3 カ所から、ダイコンベと病罹病葉を岡山県加茂川町、高知県南国市、三重県安濃町、香川県琴南町から、カリフラワーベと病罹病葉を岩手県盛岡市から、カイランベと病罹病葉を三重県安濃町から、タアサイベと病罹病葉を岩手県盛岡市からそれぞれ採集した (表 2) 。分生子の形成を確認して、病斑の裏面に形成されている

表2 ベと病菌菌株一覧

菌株番号	単孢子分離菌株番号	分離源作物	分離場所	分離年月
CPP5	CPP5a,b,c,d,e	キャベツ	香川県琴南町	1992年11月
CPP6	CPP6a,b,c,d,e	キャベツ	香川県琴南町	1992年11月
CPP7	CPP7a,b,c,d,e	キャベツ	香川県琴南町	1992年11月
BPP1	BPP1a,b,c,d,e	ブロッコリー	三重県安濃町	1990年1月
BPP2	BPP2a,b,c,d,e	ブロッコリー	鳥取県大栄町	1992年11月
BPP3	BPP3a,b,c,d,e	ブロッコリー	三重県嬉野町	1992年11月
ChP3	ChP3a,b,c,d,e	ハクサイ	岡山県加茂川町	1992年11月
ChP4	ChP4a,b,c,d,e	ハクサイ	岡山県加茂川町	1992年11月
ChP5	ChP5a,b,c,d	ハクサイ	岡山県加茂川町	1992年11月
ChP7	ChP7a,b,c,d,e	ハクサイ	京都府綾部市	1992年12月
ChP8	ChP8a,b,c,d,e	ハクサイ	京都府亀岡市	1992年12月
TPP3	TPP3a	カブ	京都府亀岡市	1991年10月
TPP4	TPP4a,b,c,d,e	カブ	岡山県加茂川町	1992年11月
TPP5	TPP5a,b,c,d,e	カブ	岡山県加茂川町	1992年11月
TPP6	TPP6a,b,c,d	カブ	岡山県加茂川町	1992年11月
RPP1	RPP1a,c	ダイコン	岡山県加茂川町	1991年12月
RPP2	RPP2a,d	ダイコン	高知県南国市	1992年1月
RPP3	RPP3a,b	ダイコン	三重県安濃町	1992年10月
RPP4	RPP4a,b,c,d,e	ダイコン	香川県琴南町	1992年11月
OAP1	OAP1a	カイラン	三重県安濃町	1993年1月
CaP1	CaP1a	カリフラワー	岩手県盛岡市	1998年10月
TaP1	TaP1a,b,c	タアサイ	岩手県盛岡市	1998年10月

分生子を滅菌水で洗浄し，集菌した．分生子を形成していなかったものは約 20 °C の湿室に 1 晩保ち，分生子を形成させた後，同様に洗浄し，集菌した．分生子懸濁液は分離用植物の葉裏に水滴を載せることによって接種した．

分離用植物は，以下の手順で準備した．*B. oleracea* に属する植物からの分離（キャベツベと病，ブロッコリーベと病，カリフラワーベと病およびカイランベと病）には，ブロッコリー（品種：晩嶺）あるいはキャベツ（品種：四季穫）を，*B. campestris* に属する植物からの分離（ハクサイベと病，カブベと病およびタアサイベと病）には，カブ（品種：金町）を，*R. sativus* に属する植物からの分離（ダイコンベと病）にはダイコン（品種：宮重）を用いた．消毒した土あるいはバーミキュライトに播種し，20 °C，5,000lux，12 時間照明下の陽光定温器内に置き，約 7 日間育てた．これら幼植物の子葉を胚軸部分で切り取り，プラスチックケース内の 1.5% 素寒天に移植した．分離用植物のダイコンは，大口ら⁸⁶⁾の方法に従い，発病しやすいように，50 °C の温湯に 30 秒浸してから移植した．移植後は，蓋をし，高湿度に保った．このように作成した分離用植物にべと病菌を接種し，20 °C，5,000lux，12 時間照明下の陽光定温器内に約 7 日間置いた．

結果

7 日後，子葉の裏面だけでなく表面にも分生子および分生子柄が形成された．これらの分生子および分生子柄の顕微鏡観察によって，分離源の病原体と同じであることが確認され，べと病菌の分離に成功した．分離したべと病菌菌株は表 2 に示した．

(2) 単孢子分離および単孢子による接種

実験方法

一般的な分離方法と同様に、圃場で発病している病葉を採集して、病斑の裏面に形成している分生子を滅菌水で洗浄した。分生子を形成していないものは約 20 °C の湿室に 1 晩保ち、分生子を形成させた後、同様に洗浄した。または、一般的な分離方法で分離した菌株が形成した分生子をも滅菌水で洗浄した。この分生子懸濁液をペトリ皿内の 1.5% 素寒天上に塗布した。素寒天からガラス針を用いて顕微鏡下で単孢子を素寒天ごと切り出した。切り出した素寒天片は、一般的な分離方法と同様に作成した分離用植物に、分生子の存在する素寒天片面が子葉の裏面に密着するように接着させた (図 7)。前項と同様に分離用植物には、*B. oleracea* に属する植物からの分離には、ブロッコリー (品種：晩嶺) またはキャベツ (品種：四季穫) を、*B. campestris* に属する植物からの分離には、カブ (品種：金町) を、*R. sativus* に属する植物からの分離にはダイコン (品種：宮重) を用いた。前項と同様にダイコンは大口⁸⁶⁾の方法に従って、発病しやすいように 50 °C の温湯に 30 秒浸してから使用した。素寒天片を置床した後は、20 °C、5,000 lux、12 時間照明下の陽光定温器内に約 7 日間置いた。

結果

接種から 7 日後、いくつかの子葉に分生子および分生子柄の形成が認められた。単孢子分離成功率はそれぞれ CPP5 : 43.3%、CPP6 : 43.3%、CPP7 : 60.0%、BPP1 : 25.9%、BPP2 : 16.7%、BPP3 : 16.7%、ChP3 : 30.0%、ChP4 : 20.0%、ChP5 : 13.3%、ChP7 : 40.0%、ChP8 :

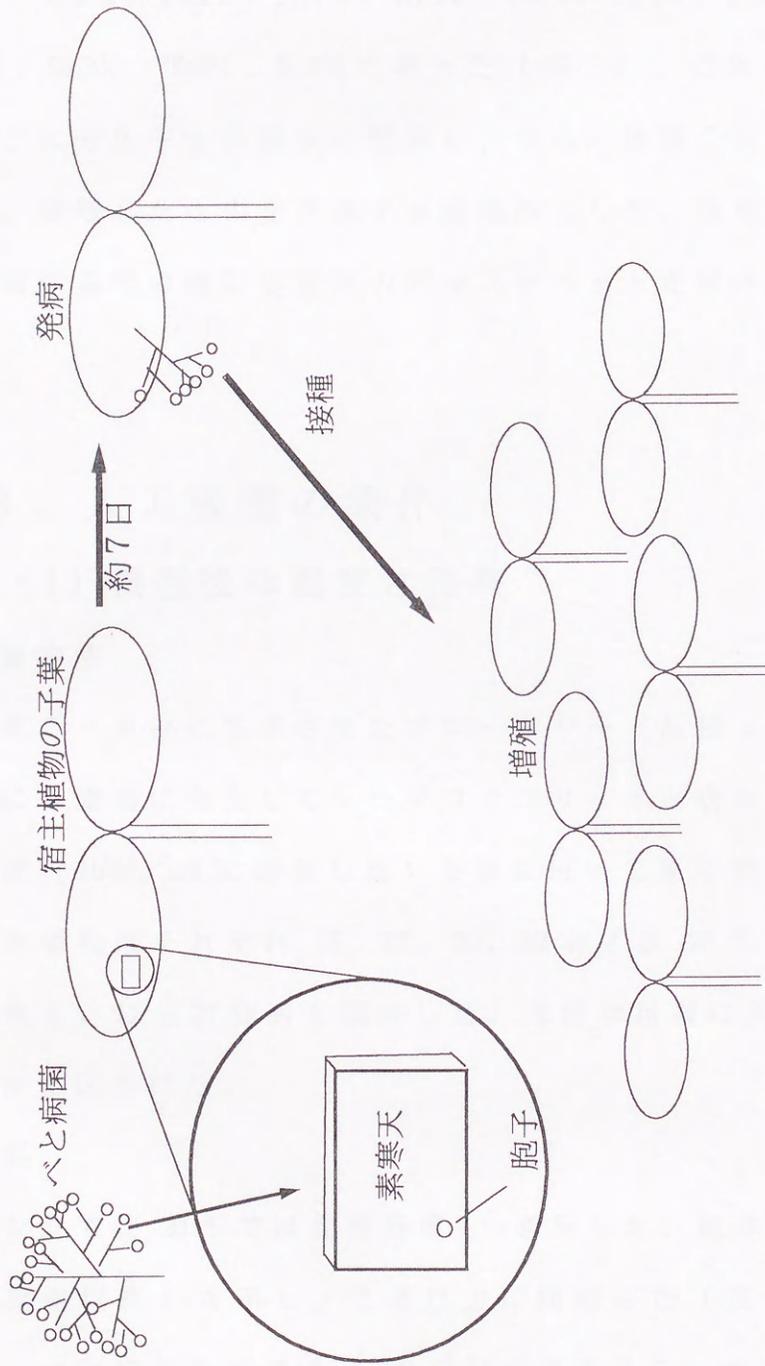


図7 ベと病菌の単孢子分離および単孢子接種法の概念図

50.0% , TPP4 : 26.7% , TPP5 : 46.7% , TPP6 : 13.3% , TPP7 : 13.3% ,
RPP1 : 11.1% , RPP2 : 16.7% , RPP3 : 6.7% , RPP4 : 23.3% , Cap1 : 3.3% ,
OAP1 : 53.3% , TaP1 : 10.0%であった (表 3) . これらは発病した子
葉ごとに分生子を滅菌水に懸濁し , さらに播種 7 日後の幼植物に接
種し , 増殖したものを単孢子分離菌株とした . 各単孢子分離菌株に
は , 菌株番号の後に小文字のアルファベットを付けて表示した (表
2) .

3 . 人工接種の条件

(1) 接種後の温度と発病

実験方法

本葉 5 ~ 6 枚に生育させたブロッコリー (品種 : ドシコおよび緑
洋) に , 圃場に発生していたブロッコリーべと病から集めた分生子
懸濁液 (10^5 個/ml に調製した) を筆を用いて葉に塗布接種した . 接
種した植物はそれぞれ 15 , 17 , 20 , 22 および 25 °C 下に置き , 高湿
度に保ち , 11 日後発病を調査した . 発病は目視によって - ~ +++ の
4 段階に区分けた .

結果

ドシコでは 20 °C では発病程度 +++ を示した . 緑洋では 17 , 20 , 22
°C で発病程度 ++ を示し , 2 葉以上に発病した (表 4) . このこと
から , べと病の発病適温は 20 °C 付近であることが明らかとなった .

表3 ベと病菌の単孢子分離成功率

菌株番号	発病子葉数/試験子葉数	発病子葉率 (%)
CPP5	13/30	43.3
CPP6	13/30	43.3
CPP7	18/30	60.0
BPP1	7/27	25.9
BPP2	5/30	16.7
BPP3	5/30	16.7
ChP3	9/30	30.0
ChP4	6/30	20.0
ChP5	4/30	13.3
ChP7	12/30	40.0
ChP8	15/30	50.0
TPP4	8/30	26.7
TPP5	14/30	46.7
TPP6	4/30	13.3
TPP7	4/30	13.3
RPP1	3/27	11.1
RPP2	5/30	16.7
RPP3	2/30	6.7
RPP4	7/30	23.3
OAP1	16/30	53.3
CaP1	1/30	3.3
TaP1	3/30	10.0

表4 ブロッコリーベと病菌の発病に及ぼす接種後の温度の影響

品種	温度 (°C) ^{a)}				
	15	17	20	22	25
ドシコ	+ ^{b)}	-	+++	+	-
緑洋	+	++	++	++	-

a)11日間保持

b)発病程度； -:なし，+:1葉のみ発病，
 ++:2葉以上に発病，
 +++:ほとんどが発病

(2) 分生子濃度と発病

実験方法

ブロッコリー（品種：晩嶺）を消毒した土あるいはパーミキュライトに播種し、20℃、5,000lux、12時間照明下の陽光定温器に入れ、約7日間育てた。ブロッコリーの子葉を胚軸部分で切り取り、プラスチックケース内の1.5%素寒天に移植した。接種用植物にそれぞれ分生子濃度を 10^5 、 10^4 、 10^3 、 10^2 および 10^1 個/mlに調製したブロッコリーべと病菌（BPP1）を1葉当たり5 μ lの水滴を載せることによって接種した。接種後は、プラスチックケースに蓋をして、20℃、5,000lux、12時間照明下の陽光定温器内に置いた。7日後子葉での分生子の形成を調査し、分生子形成葉率を調べた。

結果

分生子 10^5 個/mlを接種したものは95.0%、 10^4 個/mlでは91.3%、 10^3 個/mlでは58.8%、 10^2 個/mlでは18.8%、 10^1 個/mlでは2.5%であった（図8）。したがって、分生子濃度 10^4 個/ml以上（1葉当たりにして分生子数50個以上）接種することによって、100%に近い発病葉率を得ることが出来た。

4. 考 察

アブラナ科べと病菌は人工培養のできない純寄生菌であることから、本項では分離および増殖について検討した。圃場で発病している植物から確実にべと病菌を分離する方法を確立した。素寒天上でガラス針を用いて単孢子分離を行う方法は様々な糸状菌において行われている基本的な方法の一つである⁸⁶⁾。本実験ではその方法を

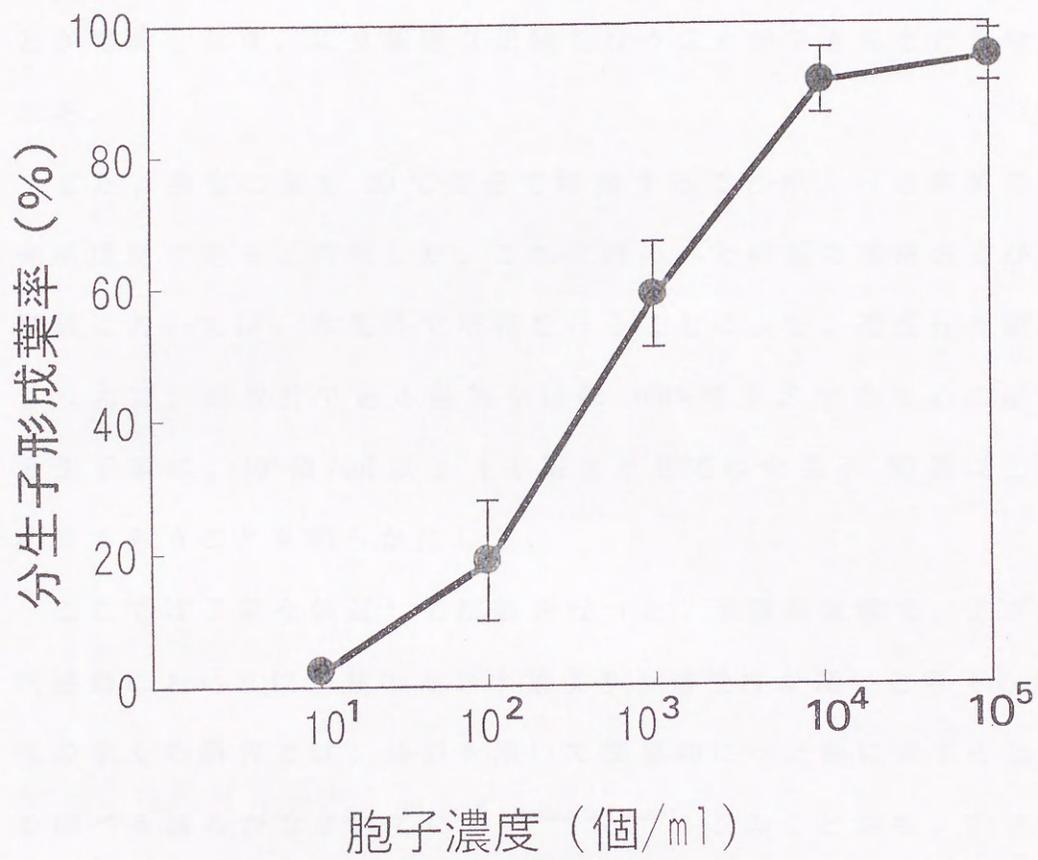


図8 分生子濃度と発病との関係

応用し，人工培養のできない純寄生菌であるべと病菌においても，純粋な一系統として取り扱うことのできるように単孢子分離を行った．これによって，各病植物から単孢子分離菌株を得ることができた．したがって，これらアブラナ科べと病菌においても，他の植物病原菌と同様に単孢子から増殖して，純系統として試験に供することが可能となり，より精密な試験を行うことができるものと考えられる．

また，温室に保ち 20℃付近で培養することが，べと病菌の最適発病環境であると判明した．これ以降のべと病菌の増殖および接種試験においては，本条件で培養を行うことにした．寄生性を調査するうえで，感受性である植物をほぼ 100%感染させるために必要な分生子量は， 10^4 個/ml 以上（1葉当たりでは分生子 50 個以上）が必要であることを明らかにした．

ここでは子葉を供試して試験を行った．予備的試験で，アブラナ科植物においては子葉の方が本葉よりも感受性が高いと考えられた．他の多くの研究では，幼苗を用いて簡易的にべと病に対する抵抗性を調べる試みがなされている^{32,39,56,66,70,71,75,105}．このことから，アブラナ科植物の接種試験には，子葉を用いることとした．子葉を用いることにより，手法が簡便となり，植物の生育期間が短くなるため，他の病原菌の混入のおそれも減少し，十分な隔離施設を持たない研究所等においても，より精密な試験が可能となる．

第 V 章．べと病菌菌株の長期保存法

1．目的

単孢子分離方法で得られた純系統のべと病菌を寄生性の調査に用いるためには，維持・増殖が不可欠である．しかし，単孢子分離方法による分離菌株数が多くなると，接種試験に供するまでの期間が長くなることが考えられる．その場合，移植回数が多くなり，病原性に変化をもたらす可能性があるうえに，移植時に他の菌株の混入も考えられる．これら憂慮される問題を回避するためには，長期間の保存方法の確立が必要不可欠である．本章では，分生子の凍結処理による保存方法の確立を試みた．

2．凍結温度の選定

実験方法

ブロッコリー（品種：晩嶺）の子葉上で 20℃，5,000 lux，12 時間照明下で 7 日間培養したブロッコリーべと病菌（BPP1）の分生子を蒸留水に懸濁し，懸濁液を直径 1 cm，長さ 5 cm のプラスチック製アンプルに 400 μ l ずつ分注した．各アンプルは -20℃ および -80℃ のフリーザーに静置し，凍結させた．1 時間後，各アンプルを取り出し，40℃ 温湯中で解凍させた．解凍させた分生子懸濁液は，1.5% 素寒天に塗布し，20℃ の恒温器内に静置した．16 時間経過後，分生子の発芽率および崩壊率を調べた¹¹⁾．また，分生子を蒸留水に懸濁したのみのももの発芽率および崩壊率も調べた．

結果

分生子を蒸留水に懸濁したのみの区の発芽率および崩壊率はそれぞれ 52% および 1% であった。-20 °C で凍結した区の発芽率および崩壊率はそれぞれ 6% および 4% であり，-80 °C で凍結した区の発芽率および崩壊率はそれぞれ 0% および 11% であった（表 5）。このことから，分生子の保存のための条件設定は -20 °C 凍結で行うこととした。

3. -20 °C による保存条件の選抜

(1) 分散媒の分生子に対する影響

実験方法

ブロッコリーベと病菌（BPP1）の分生子をそれぞれ 5% ジメチルスルホキシド，5% アドニトール，5% グリセリン，5% スクロース，5% グルコース，5% ソルビトール，5% スキムミルク，1% ペプトン，1% リシン，1% グルタミン酸ナトリウム，1% ブルーデキストラン，1% ポリペプトン，1% トリプトン，1% フィコール，5% ポリビニルアルコール，1% アルブミン，1% ポリビニルピロリドン K-30 および蒸留水に懸濁し，懸濁液を直径 1cm，長さ 5cm のプラスチック製アンプルに 400 μ l ずつ分注した。各アンプルは -20 °C のフリーザーに静置し，凍結させた。1 時間後，各アンプルを取り出し，40 °C 温湯中で解凍させた。解凍させた分生子懸濁液は，1.5% 素寒天上に塗布し，20 °C の恒温器内に置いた。16 時間経過後，分生子の発芽率を調べた。また，分生子を蒸留水に懸濁したのみの発芽率も同時に調べた。各区の発芽率は，分生子を蒸留水に懸濁したのみの区の発芽

表5 蒸留水に懸濁し，1時間凍結した時のブロッコリーベと病菌の分生子の発芽率および崩壊率

凍結温度	発芽率(%)	崩壊率(%)
凍結前	52	1
-20℃	6	4
-80℃	0	11

率を 100 として、反復試験の平均値を算出し、指数値で表した。

結果

それぞれの発芽の平均値は、5%ジメチルスルホキシド：74.8，5%アドニトール：50.5，5%グリセリン：48.2，5%スクロース：44.7，5%グルコース：44.6，5%ソルビトール：42.9，5%スキムミルク：32.8，1%ペプトン：19.8，1%リシン：13.2，1%グルタミン酸ナトリウム：11.9，1%ブルーデキストラン：11.8，1%ポリペプトン：9.4，1%トリプトン：7.9，1%フィコール：5.6，5%ポリビニルアルコール：4.2，1%アルブミン：1.7，1%ポリビニルピロリドン K-30：1.3，蒸留水：2.4であった（表6）。このことから、5%ジメチルスルホキシド，5%アドニトール，5%グリセリン，5%スクロース，5%グルコース，5%ソルビトール，5%スキムミルク等が凍結保存の分散媒に適していると考えられた。

(2) 分散媒の濃度の分生子に対する選定

実験方法

ブロッコリーベと病菌（BPP1）の分生子をそれぞれ 5%，10%，20%に調製したジメチルスルホキシド，グリセリン，グルコース，アドニトールおよびスクロースに懸濁し，懸濁液を直径 1cm，長さ 5cm のプラスチック製アンプルに 400 μ l ずつ分注した。各アンプルは -20℃ のフリーザーに静置し，凍結させた。1 時間後，各アンプルを取り出し，40℃ 温湯中で解凍させた。解凍させた分生子懸濁液は，1.5%素寒天上に広げ，20℃ の恒温器内に置いた。16 時間経過後，分生子の発芽率を調べた。また，分生子を蒸留水に懸濁した

表6 様々な分散媒に懸濁し、-20℃1時間処理後のブロッコリーベと病菌の発芽

分散媒	発芽
5% ジメチルスルホキシド	74.8 ^{a)}
5% アドニトール	50.5
5% グリセロール	48.2
5% スクロース	44.7
5% グルコース	44.6
5% ソルビトール	42.9
5% スキムミルク	32.8
1% ペプトン	19.8
1% リシン	13.2
1% グルタミン酸ナトリウム	11.9
1% ブルーデキストラン	11.8
1% ポリペプトン	9.4
1% トリプトン	7.9
1% フィコール	5.6
5% ポリビニルアルコール	4.2
1% アルブミン	1.7
1% ポリビニルピロリドン K-30	1.3
蒸留水	2.4

a)凍結していない無処理の発芽率を100とした補正值

のみの発芽率も調べた。各区の発芽率は、分生子を蒸留水に懸濁したのみの区の発芽率を 100 として、反復試験の平均値を算出し、指数値で表した。

結果

それぞれの平均値は、5%ジメチルスルホキシド：62.4、10%ジメチルスルホキシド：58.4、20%ジメチルスルホキシド：38.0、5%グリセリン：31.5、10%グリセリン：16.5、20%グリセリン：10.0、5%グルコース：24.1、10%グルコース：22.2、20%グルコース：18.4、5%アドニトール：23.4、10%アドニトール：21.1、20%アドニトール：19.0、5%スクロース：16.0、10%スクロース：20.9、20%スクロース：27.3、蒸留水：1.3であった（表7）。このことから、ジメチルスルホキシド、グリセリン、グルコース、アドニトールは濃度が高くなるほど発芽は低下し、スクロースは濃度が低くなるほど発芽が低下した。

(3) 解凍温度の影響

実験方法

ブロッコリーベと病菌（BPP1）の分生子を蒸留水に懸濁し、懸濁液を直径 1cm、長さ 5cm のプラスチック製アンプルに 400 μ l ずつ分注した。同様に分散媒として 5%グリセリンと 5%スキムミルクを混合したものを比較した。各アンプルは -20℃ のフリーザーに静置し、凍結させた。1時間後、各アンプルを取り出し、簡易的な方法として室温で解凍し、または既述した方法で 40℃ 温湯中で解凍させた。解凍させた分生子懸濁液は、1.5%素寒天上に広げ、20℃ の恒

表7 様々な濃度の分散媒に懸濁し、-20℃1時間処理後のブロッコリーベと病菌の発芽

分散媒	分散媒の濃度			
	0%	5%	10%	20%
ジメチルスルホキシド	— ^{a)}	62.4 ^{b)}	58.4	38.0
グリセリン	—	31.5	16.5	10.0
グルコース	—	24.1	22.2	18.4
アドニトール	—	23.4	21.1	19.0
スクロース	—	16.0	20.9	27.3
蒸留水	1.3	—	—	—

a)処理設定無し,

b)凍結していない無処理の発芽率を100とした補正値

温器内に置いた。16時間後、分生子の発芽率を調べた。また、分生子を蒸留水に懸濁したのみの発芽率も調べた。各区の発芽率は、分生子を蒸留水に懸濁したのみの区の発芽率を100として、反復試験の平均値を算出し、指数値で表した。

結果

それぞれの発芽は、5%グリセリン+5%スキムミルクに懸濁し室温で解凍した区では53.4、40℃で温湯解凍した区では65.7、蒸留水に懸濁し室温で解凍した区は16.9、40℃温湯で解凍した区は14.0であった(表8)。このことから、解凍速度は分生子の発芽率にほとんど影響しない、つまり簡易的に室温で解凍させても影響はなかった。

(4) 分散媒混合による分生子に対する影響

実験方法

ブロッコリーベと病菌(BPP1)の分生子をそれぞれ5%ジメチルスルホキシド、5%ジメチルスルホキシド+5%グルコース、5%ジメチルスルホキシド+5%スクロース、5%ジメチルスルホキシド+5%グリセリン、5%ジメチルスルホキシド+5%アドニトール、5%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルク、5%ジメチルスルホキシド+1%ペプトン、5%ジメチルスルホキシド+1%グルタミン酸ナトリウム、5%ジメチルスルホキシド+1%リシンおよび蒸留水に懸濁し、懸濁液を直径1cm、長さ5cmのプラスチック製アンプルに400 μ lずつ分注した。各アンプルは-20℃のフリーザーに静置し、凍結させた。1時間後、各アンプルを取り出し、前項で簡易的な方法で解凍

表8 -20℃ 1時間処理後様々な解凍条件後のブロッコリーベと病菌の発芽

解凍条件	分散媒	発芽
室温	5%グリセリン+5%スキムミルク	53.4 ^{a)}
40℃温湯	5%グリセリン+5%スキムミルク	65.7
室温	蒸留水	16.9
40℃温湯	蒸留水	14.0

a)凍結していない無処理の発芽率を100とした補正值

を行っても発芽率にはほとんど影響ないと示された室温で自然解凍させた。解凍させた分生子懸濁液は、1.5%素寒天上に広げ、20℃の恒温器内に置いた。16時間経過後、分生子の発芽率を調べた。また、分生子を蒸留水に懸濁したのみの発芽率も調べた。各区の発芽率は、分生子を蒸留水に懸濁したのみの区の発芽率を100として、反復試験の平均値を算出し、指数値で表した。

結果

それぞれの平均値は、5%ジメチルスルホキシド：72.8、5%ジメチルスルホキシド+5%グルコース：72.9、5%ジメチルスルホキシド+5%スクロース：72.7、5%ジメチルスルホキシド+5%グリセリン：71.7、5%ジメチルスルホキシド+5%アドニトール：63.8、5%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルク：61.9、5%ジメチルスルホキシド+1%ペプトン：44.2、5%ジメチルスルホキシド+1%グルタミン酸ナトリウム：31.3、5%ジメチルスルホキシド+1%リシン：26.6および蒸留水：1.1であった（表9）。この結果から、5%ジメチルスルホキシド、5%ジメチルスルホキシド+5%グルコース、5%ジメチルスルホキシド+5%スクロース、5%ジメチルスルホキシド+5%グリセリン、5%ジメチルスルホキシド+5%アドニトール、5%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルク等の分散媒に懸濁することによって、発芽が高く維持された。

(5) -20℃での長期保存

実験方法

ブロッコリーベと病菌（BPP1）の分生子をそれぞれ5%ジメチル

表9 様々な混合分散媒に懸濁し、-20℃1時間処理後のブロッコリーベと病菌の発芽

分散媒	発芽
5%ジメチルスルホキシド	72.8 ^{a)}
5%ジメチルスルホキシド+5%グルコース	72.9
5%ジメチルスルホキシド+5%スクロース	72.7
5%ジメチルスルホキシド+5%グリセリン	71.7
5%ジメチルスルホキシド+5%アドニトール	63.8
5%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルク	61.9
5%ジメチルスルホキシド+1%ペプトン	44.2
5%ジメチルスルホキシド+1%グルタミン酸ナトリウム	31.3
5%ジメチルスルホキシド+1%リシン	26.6
蒸留水	1.1

a)凍結していない無処理の発芽率を100とした補正值

スルホキシド，5%ジメチルスルホキシド+ 5%スキムミルク，5%ジメチルスルホキシド+ 5%グルコース，5%ジメチルスルホキシド+ 1%グルタミン酸ナトリウムに懸濁し，懸濁液を直径 1cm，長さ 5cm のプラスチック製アンプルに 400 μ l ずつ分注した。各アンプルは -20℃ のフリーザーにそれぞれ 1 時間，1 ヶ月，3 ヶ月および 6 ヶ月静置した。処理後，各アンプルを取り出し，室温で解凍させた。解凍させた分生子懸濁液は，1.5%素寒天上に広げ，20℃ の恒温器内に置いた。16 時間経過後，分生子の発芽率を調べた。また，分生子を蒸留水に懸濁したのみの保存処理前の発芽率も調べた。各区の発芽率は，分生子を蒸留水に懸濁したのみの区の保存処理前の発芽率を 100 として，反復試験の平均値を算出し，指数値で表した。

結果

1 時間凍結後の発芽はいずれの分散媒に懸濁した区においても高く維持されていたが，1 ヶ月後では 5%ジメチルスルホキシド+ 5%スキムミルクおよび 5%ジメチルスルホキシド+ 5%グルコースに懸濁した区においてのみ発芽は高く維持されていた。しかし，3 ヶ月後では発芽はほとんど失われており，6 ヶ月後ではすべての区において，発芽は全く認められなかった（表 10）。

(6) まとめ

長期保存を確立するためには，実際長期に試験を行う必要がある。本章では，最適な保存条件を絞り込むために，短期の保存を試みた。

凍結保存には，保存しようとするものをそのまま凍結するよりも，分散媒を加えたほうがより安定的に保存が可能になる場合が多いた

表 10 -20 °Cでの保存後のブロッコリーベと病菌の発芽

分散媒	凍結期間			
	1時間	1ヶ月	3ヶ月	6ヶ月
5%ジメチルスルホキシド	90.3 ^{a)}	3.2	0.9	0.0
5%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルク	83.5	52.8	1.0	0.0
5%ジメチルスルホキシド+5%グルコース	81.2	38.8	0.0	0.0
5%ジメチルスルホキシド+1%グルタミン酸ナトリウム	65.0	4.7	0.0	0.0

a)凍結していない無処理の発芽率を 100 とした補正値

め、種々な分散媒、種々の条件で凍結処理を行った。その結果、分散媒には浸透性の高いジメチルスルホキシド単独あるいはジメチルスルホキシドを基本とした高分子の物質の混合が適しているものと考えられた。また、用いる分散媒には保存に不適な濃度があることが明らかとなった。よって、その濃度を避ける必要がある。ジメチルスルホキシドでは 5%、10%の濃度が望ましいことが明らかとなった。解凍速度は他の要因ほど影響を与えず、簡易的に自然解凍しても構わないことが明らかとなった。これらの結果を総合し、-20℃で長期的な保存を試みたところ、適していないことが明らかとなった。したがって、この方法以外の長期保存方法の検討が必要となった。

4. -80℃による保存条件の選定

(1) 凍結速度の影響

実験方法

ブロッコリーベと病菌 (BPP1) の分生子をそれぞれ 5%ジメチルスルホキシド、5%ジメチルスルホキシド+ 5%スキムミルク、5%ジメチルスルホキシド+ 5%グルコースに懸濁し、懸濁液を直径 1cm、長さ 5cm のプラスチック製アンプルに 400 μ l ずつ分注した。各アンプルは -20℃のフリーザーに 2 時間 (コントロール区は前項処理とほぼ同じ凍結)、-20℃のフリーザーに 1 時間静置後 -80℃のフリーザーに移し 1 時間、-80℃のフリーザーに 2 時間、-20℃のフリーザーに 48 時間 (前項長期保存とほぼ同じ条件)、-20℃のフリーザーに 24 時間静置後 -80℃のフリーザーに移し 24 時間静置した。処理後、

各アンプルを取り出し，室温で解凍させた．解凍させた分生子懸濁液は，1.5%素寒天上に広げ，20℃の恒温器内に置いた．16時間経過後，分生子の発芽率を調べた．また，分生子を蒸留水に懸濁したのみの発芽率も調べた．各区の発芽率は，分生子を蒸留水に懸濁したのみの区の発芽率を100として，反復試験の平均値を算出し，指数値で表した．

結果

それぞれの発芽の平均値は，5%ジメチルスルホキシドに懸濁し，-20℃のフリーザーに2時間凍結した区では33.2，-20℃のフリーザーに1時間静置後-80℃のフリーザーに移し1時間凍結した区では4.1，-80℃のフリーザーに2時間凍結した区では0.2，-20℃のフリーザーに48時間凍結した区では22.1，-20℃のフリーザーに24時間静置後-80℃のフリーザーに移し24時間凍結した区では16.1，5%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルクに懸濁し，-20℃のフリーザーに2時間凍結した区では33.6，-20℃のフリーザーに1時間静置後-80℃のフリーザーに移し1時間凍結した区では6.1，-80℃のフリーザーに2時間凍結した区では0.2，-20℃のフリーザーに48時間凍結した区では14.8，-20℃のフリーザーに24時間静置後-80℃のフリーザーに移し24時間凍結した区では25.1，5%ジメチルスルホキシド+5%グルコースに懸濁し，-20℃のフリーザーに2時間凍結した区では33.1，-20℃のフリーザーに1時間静置後-80℃のフリーザーに移し1時間凍結した区では2.3，-80℃のフリーザーに2時間凍結した区では0.7，-20℃のフリーザーに48時間凍結した区では12.9，-20℃のフリーザーに24時間静置後-80℃のフリーザーに移し24時間凍結した区では5.5であった（表11）．この結果から，-20℃での凍結が

表 11 様々な凍結条件で処理後のブロッコリーと病菌の発芽

分散媒	凍結条件			
	2時間凍結		48時間凍結	
	-20 ^{a)}	-20 → -80 ^{b)}	-20 ^{c)}	-20 → -80 ^{d)}
5%ジメチルスルホキシド	33.2 ^{e)}	4.1	0.2	22.1
5%ジメチルスルホキシド + 5%スキムミルク	33.6	6.1	0.2	14.8
5%ジメチルスルホキシド + 5%グルコース	33.1	2.3	0.7	12.9

a)-20 °C または -80 °C で 2 時間凍結, b)-20 °C に 1 時間静置後 -80 °C で 1 時間凍結, c)-20 °C で 48 時間凍結,
d)-20 °C に 24 時間静置後 -80 °C で 24 時間凍結, e)凍結していない無処理の発芽率を 100 とした補正值

発芽を高く維持できるほか， -20°C で24時間静置後 -80°C に移し24時間凍結する区においても発芽を高く維持できることが明らかとなった。

(2) -20°C で予備凍結後 -80°C での保存

実験方法

ブロッコリーと病菌 (BPP1) の分生子をそれぞれ 5%ジメチルスルホキシド，5%ジメチルスルホキシド+ 5%スキムミルク，5%ジメチルスルホキシド+ 10%スキムミルク，10%ジメチルスルホキシド+ 5%スキムミルク，10%ジメチルスルホキシド+ 10%スキムミルク，蒸留水に懸濁し，懸濁液を直径 1cm，長さ 5cm のプラスチック製アンプルに $400\mu\text{l}$ ずつ分注した。各アンプルは -20°C のフリーザーに24時間静置した後 -80°C に移し，それぞれ1日，3ヶ月，6ヶ月および12ヶ月静置した。処理後，各アンプルを取り出し，室温で解凍させた。解凍させた分生子懸濁液は，1.5%素寒天上に広げ， 20°C の恒温器内に置いた。16時間経過後，分生子の発芽率を調べた。また，分生子を蒸留水に懸濁したのみの保存処理前の発芽率も調べた。各区の発芽率は，分生子を蒸留水に懸濁したのみの区の保存処理前の発芽率を100として，反復試験の平均値を算出し，指数値で表した。また，懸濁液の一部を播種7日後のブロッコリー (品種：晩嶺) の子葉に水滴を載せることによって接種し， 20°C ，5,000 lux，12時間照明下の陽光定温器内に7日間置き，病原性を調査した。

結果

5%ジメチルスルホキシドに懸濁し保存した区においては、3ヶ月後では14.1と発芽は高く維持されていたが、6ヶ月後では2.1と低い値を示した。5%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルクおよび5%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクに懸濁し保存した区においては、12ヶ月後においても病原性は認められたが、発芽はそれぞれ10.0、3.9と低かった。10%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルク、10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクに懸濁し保存した区においては、12ヶ月後においても病原性は認められ、また発芽もそれぞれ47.7、46.9と高く維持されていた(表12)。

(3) 既存の保存方法¹⁰⁵⁾との比較

実験方法

ブロッコリーベと病菌(BPP1)の分生子を形成しているブロッコリー子葉(品種:晩嶺)をそれぞれ寒天粉末、スキムミルク粉末、ポリビニルアルコール粉末に挟み込んで直径1cm、長さ5cmのプラスチック製アンプルに入れた。また、同時に分生子を10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクに懸濁し、同アンプルに400 μ lずつ分注した。各アンプルは-20℃のフリーザーに24時間静置した後-80℃に移し、それぞれ1日、3ヶ月、6ヶ月および12ヶ月静置した。処理後、各アンプルを取り出し、室温で解凍させた。解凍させた子葉は粉末を取り除き、蒸留水中で振とうし分生子を懸濁させた。これらの懸濁液および10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクに懸濁し解凍させた分生子懸濁液は、1.5%素寒天上に広げ、20℃

表 12 -20 °Cで 24 時間処理後-80 °Cで保存後のブロッコリーと病菌の発芽および病原性

分散媒	凍結期間 ^{a)}				
	1 日	3 ヶ月	6 ヶ月	12 ヶ月	12 ヶ月
5% ジメチルスルホキシド	14.1 ^{b)} +++ ^{c)}	2.1 -	2.0 -	0.0 -	-
5% ジメチルスルホキシド+5%スキムミルク	7.5 +++	12.9 +	10.2 +	10.0 +++	+++
5% ジメチルスルホキシド+10%スキムミルク	38.3 ++	11.3 +	12.7 ++	3.9 ++	++
10% ジメチルスルホキシド+5%スキムミルク	53.7 ++	66.4 +++	55.5 ++	47.7 +++	+++
10% ジメチルスルホキシド+10%スキムミルク	40.9 ++	79.1 +++	75.8 +	46.9 +++	+++
蒸留水	0.0 -	0.0 -	0.0 -	0.7 -	-

a)-80 °Cに静置した期間

b)凍結していない無処理の発芽率を 100 とした補正值

c)ブロッコリー子葉に対する病原性: +++(高い)~ -(無し)

の恒温器内に置いた。16時間経過後，分生子の発芽率を調べた。また，分生子を蒸留水に懸濁したのみの保存当時の発芽率も調べた。各区の発芽率は，分生子を蒸留水に懸濁したのみの区の発芽率を100として補正した後，反復試験の平均値を算出した。

結果

寒天粉末，スキムミルク粉末，ポリビニルアルコール粉末に挟み込んで凍結した区においては，12ヶ月後の発芽はそれぞれ0.0，1.4，1.1と低かった。一方，10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクに懸濁し凍結した区における12ヶ月後の発芽は26.5と高く維持されていた（表13）。

(4) まとめ

-20℃での凍結は長期保存に適していなかったが，-20℃で24時間凍結後-80℃に移すことによって，長期保存が可能であると考えられた。急激に温度を低下させると影響が大きく，分生子がダメージを受けることが考えられ，緩慢に温度を低下させる必要があることが示唆された。分散媒には，10%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルクあるいは10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクが最適であると考えられた。また，従来行われている保存方法と比較しても，より高い生存率を示した。

5. 考 察

病原細菌および病原糸状菌において，継代培養を続けるにしたがって病原性をはじめとする菌株の性状が変化してくることは一般的

表 13 既存の保存方法との比較

分散媒	凍結期間 ^{a)}			
	1日	3ヶ月	6ヶ月	12ヶ月
粉末 ^{b)}				
寒天	10.8 ^{c)}	7.7	1.7	0.0
スキムミルク	1.2	2.3	15.2	1.4
ポリビニルアルコール	2.8	0.0	5.3	1.1
懸濁液 ^{d)}				
10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルク	28.3	36.8	40.8	26.5
蒸留水	1.2	0.0	0.6	0.0

a) -20 °Cで24時間処理後, -80 °Cで保存した期間

b) プラスティック製アンプルに分生子を形成している子葉を粉末に挟み込んで入れる

c) 凍結していない無処理の発芽率を100とした補正值

d) 粉末試験区に使用する子葉の一部から分生子を得, 懸濁液を作成

に知られている。そのため、それら病原性等様々な性質を不変に保ち、かつ試験に供することができるようにするため、多くの研究者が多くの方法を試み、長期保存法を確立している。保存法には、流動パラフィン重層保存法、凍結乾燥保存法、L-乾燥保存法、超低温保存法（ $-70 \sim -80^{\circ}\text{C}$ ）、液体窒素法等、様々な保存方法があり^{18,35,36,89,115}、菌株や目的に応じて使用する保存方法が異なる。

純寄生菌においては、宿主植物を用いての継代培養法^{1,3,7,9,82,82,86,126}以外にも様々な保存方法が試みられてきた^{4,11,17,33,38,92,111}。また、耐久体としての卵胞子を形成させるなどの試み^{64,69,81,118}がなされているが、純系統の菌株の保存としては適していない。これまでは純寄生菌に関する試験は野外で採集してきた菌株を用いることが多かった。その場合、再び同様の試験を行うためには同じ菌株の入手が必要不可欠であり、追試は困難であった。また、抵抗性品種の育種の場面においても、選抜試験ごとに菌株が異なる場合には追いかけている抵抗性遺伝子が異なってくることにもなりかねない。そこで、本章ではべと病菌を普遍的に取り扱うことができるように、凍結保存法を開発した。

その結果、短時間の凍結処理より、ブロッコリーべと病菌の保存温度は緩慢に温度を低下させる -20°C あるいは -20°C の後 -80°C 、分散媒にはジメチルスルホキシド単独あるいはジメチルスルホキシドを基本とした高分子の物質の混合が良いと考えられた。この結果を基に長期保存を実施したところ、 -20°C での保存では、3ヶ月後で発芽はほとんど失われており、6ヶ月後ではすべての区において発芽は全く認められなかった。発芽がわずかでもあれば病原性を保持している可能性があるが、全くなかったため、保存には適さないと考

えられた。-20℃で予備凍結後-80℃で長期保存を行ったものでは、10%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルク、10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクに懸濁した区においては、12ヶ月後においても発芽は高く維持されており、病原性も認められた。したがって、-20℃で24時間予備凍結後-80℃に移すことによって、長期保存が可能であると考えられる。分散媒には、10%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルクあるいは10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクが最適であると考えられる。

また、一方で Tetsuka and Katsuya¹¹⁾がホップベと病菌 (*Pseudoperonospora humuli*) およびブドウベと病菌 (*Plasmopara viticola*) を用いて保存を試みている。彼らの方法では、分生子を形成した葉片を寒天粉末、スキムミルク粉末あるいはポリビニルアルコール粉末に挟み込み液体窒素中で保存している。この方法と比較するため、同様に各粉末にブロッコリーベと病に感染し分生子を形成している葉片を挟み込み、液体窒素の代わりにここで行った懸濁液の方法で、-20℃で24時間予備凍結後-80℃で保存した。その結果、10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクに懸濁したほうが発芽においてかなり優れていた。したがって、分生子を10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクに懸濁して保存することが最も優れている保存方法であると考えられる。また、保存する際の労力という点においても、分生子懸濁液を分散媒と混合するのみである点、解凍して接種する際にもそのまま懸濁液を植物に接種するのみでよい点等から、最も簡便であると考えられる。

一方で、データには示していないが、凍結乾燥およびL-乾燥保存も試みた。5%スキムミルク+0.75%グルタミン酸ナトリウムにブ

ブロッコリーベと病菌の分生子を懸濁した後に、それぞれを凍結乾燥およびL-乾燥し、その後すぐに蒸留水に懸濁して分生子の発芽の有無を観察したところ、分生子の発芽は全く観察されなかったため、この方法は不適であると考えられた。このほかには、Dahmen¹⁸⁾らがスキムミルク、グリセリンおよびジメチルスルホキシドを用いて *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Bremia* 等の卵菌類の保存の報告をしているが、*Peronospora* では試みられていない。*P. parasitica* の保存についての研究はほとんど無い。したがって、ブロッコリーベと病菌については、ここで得られた結果から 10%ジメチルスルホキシド+ 5%スキムミルクあるいは 10%ジメチルスルホキシド+ 10%スキムミルクに分生子を懸濁し、-20℃で24時間予備凍結後-80℃で保存することが最も簡便で有用であることが明らかとなった。この保存方法は、ブロッコリーベと病菌だけではなく、他の *P. parasitica* による病原体であるキャベツベと病菌、ハクサイベと病菌、カブベと病菌およびダイコンベと病菌他、多くのアブラナ科ベと病菌に対しても有用であると考えられる。実際、この保存方法により、分離菌株の保存を行い、12ヶ月以上病原性は維持されており、有用性が確認されている。

第VI章．べと病菌の寄生性分化

1．目的

これまで、アブラナ科植物に寄生するべと病菌の寄生性についてはいくつかの報告がある^{26,40,65,103}。また、我が国におけるアブラナ科植物におけるべと病菌の寄生性の調査は1934年に行われている⁴⁰にすぎない。また、これらの報告では、単孢子分離菌株を用いての寄生性の調査は行われていなかったため、純系統としての寄生性の分化は不明であった。そこで、本章では、様々なアブラナ科野菜に発生したべと病菌から得た単孢子分離菌株を用いて、寄生性の調査を行った。

2．単孢子分離菌株を用いた接種検定

(1)検定方法

1) 接種源と接種方法

ブロッコリー（品種：晩嶺），カブ（品種：金町）およびダイコン（品種：宮重）を，消毒した土あるいはパーミキュライトに播種し，20℃，5,000lux，12時間照明下の陽光定温器内において，約7日間育てた．ブロッコリーおよびカブの子葉を胚軸部分で切り取り，それぞれをプラスチックケース内の1.5%素寒天に移植した．これに単孢子分離を行ったべと病菌を，キャベツべと病菌およびブロッコリーべと病菌はブロッコリーに，ハクサイべと病菌およびカブべと病菌はカブに，それぞれ水滴を載せることによって接種した．ダイコンは胚軸部分で切りとった子葉を大口ら⁸⁶の手法により50℃

の温湯に 30 秒浸してから素寒天に移植し，ダイコンベと病菌を水滴を載せることによって接種した。接種後は，各菌株とも 20 °C 12 時間照明下の陽光定温器内に置いた。7 日後，子葉表面に形成した分生子を蒸留水に懸濁し，各単孢子分離菌株ごとに分生子濃度が 10⁴ 個/ml 以上となるように調製し，寄生性分化を調査するための接種源とした。寄生性を調査するための接種用植物は次項に示す方法で準備した。接種源のべと病菌懸濁液は，接种植物に 1 葉当たり 5 μ l の水滴を載せることによって接種した。接種後は，プラスチックケースに蓋をして，20 °C，5,000 lux，12 時間照明下の陽光定温器内に置いた。

2) 接种植物の準備

アブラナ科野菜に対する寄生性調査の試験では，*B. campestris* としてタイサイ（品種：雪白体菜），キョウナ（品種：白茎千筋京水菜），アブラナ（品種：新晩生油菜），ハクサイ（品種：花心，野崎 2 号），カブ（品種：日の菜，小松菜，早生金町），タアサイ（品種：タアツアイ），*B. juncea* としてカラシナ（品種：葉からし菜），*B. oleracea* としてカリフラワー（品種：野崎早生，スノーボール，スノークラウン），キャベツ（品種：四季穫），ブロッコリー（品種：晩嶺），カイラン（品種：白心），*B. napus* としてルタバガ（品種：グリーントップ）および *R. sativus* としてダイコン（品種：宮重，練馬）を，消毒した土あるいはパーミキュライトに播種し，20 °C，5,000 lux，12 時間照明下の陽光定温器内において，約 7 日間育てた。各植物の子葉を胚軸部分で切り取り，プラスチック

クケース内の 1.5%素寒天に移植した。また、キャベツと病菌およびブロッコリーと病菌については、*B. oleracea* 内の各品種に対する寄生性の検定を行った。用いた品種は、カリフラワー：あきづき、ブライダル、アーリースノーボール A、野崎早生、スノーボール、スノークラウン、キャベツ：デライトボール、ゴールデンベスト、黒葉サクセッション、サボイキング、四季穫、YR さわみどりおよびブロッコリー：晩嶺、ドシコ、緑洋、深海、天雷、スリーセブンである。カリフラワーと病菌についてはカリフラワー品種に対する検定を行った。供試品種はあきづき、アーリースノーボール A、はくらく、新雪、スノークラウン、野崎早生、スノークイン、スノードレス、スノーマーチである。カブと病菌およびハクサイと病菌については *B. campestris* 内の各品種を検定に供した。供試品種は、ハクサイ：チーフ、冬峠、初風、花心、倦竜、京都 3 号、松島新 2 号、野崎 2 号、山東菜およびカブ：日の菜、次年子、小松菜、野沢菜、耐病ひかり、天王寺、時無、寄居、早生金町である。

3) 寄生性の判定

接種から 7 日後、各植物における子葉に分生子形成の有無を調査した。また、過敏反応と思われる壊死斑の有無も調査した。病原性は、分生子を形成した子葉数の割合を反復試験区ごとに計算し、平均値を算出した。この平均値を基に以下のように数値化を行い、病原力とした^{94,95)}。

0:分生子形成無しまたは壊死

1:まれに分生子形成または大型壊死斑

2:分生子形成葉 20%未滿

3:分生子形成葉 20%以上 50%未滿

4:分生子形成葉 50%以上

0 - 1は病原性無し，2 - 4は病原性ありとした。

(2) 結果

1) キャベツと病菌

i. アブラナ科野菜に対する寄生性

キャベツと病菌の単孢子分離菌株の寄生性の結果は表 14 に示した。ほとんどの菌株は *B. oleracea* に属する作物（カリフラワー，キャベツおよびブロッコリー）で病原力 3 ~ 4 を示した。病原力が 0 だったものには，スノークラウンに対しての CPP7b のみであった。*B. napus* に対しても CPP5b,5c,5d 菌株：0，CPP6c 菌株：1 以外はほとんどの菌株で病原力 2 以上であった。*B. campestris* に属する作物に対しては，ほとんどの菌株は病原力 0 を示した。わずかに白茎千筋京水菜に対して CPP5d 菌株：2，早生金町に対して CPP5c,5d,6e 菌株：1，CPP6a,6b,7a 菌株：2 であった。また，*B. juncea* に対しては CPP6c,6e 菌株：2 であった。*R. sativus* に対しては，すべての菌株は病原力 0 であった。

ii. *Brassica oleracea* 内の品種に対する寄生性

供試したすべての菌株は，すべての *B. oleracea* 品種に対して病原力は 3 ~ 4 を示した。キャベツ（品種：ゴールデンベストおよび YR さわみどり）に対しては供試したすべての菌株が病原力 0 であ

表 14 キャベツべと病菌の単胞子分離菌株の *Brassica* および *Raphanus* 属植物に対する病原性

学名	作物名	品種名	べと病菌の単胞子分離菌株番号																		
			CPP5					CPP6					CPP7								
			a	b	c	d	e	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e				
<i>B. campestris</i> (Chinensis group)	タイサイ	雪白体菜	0 ^{a)}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>B. campestris</i> (Japonica group)	キヨウナ	白茎千筋京水菜	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>B. campestris</i> (Narinosa group)	アブラナ	新晩生油菜	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	花心	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	野崎 2号	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	日の菜	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	小松菜	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	早生金町	0	0	1	0	1	2	2	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	
<i>B. juncea</i> (Cernua group)	カラシナ	葉からし菜	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	野崎早生	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	4	2	4	2	4	4	2	
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノーボール	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノークラウン	4	4	4	4	4	4	3	3	3	2	3	4	3	4	0	3	4	3	
<i>B. oleracea</i> (Capitata group)	キャベツ	四季穫	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
<i>B. oleracea</i> (Italica group)	ブロッコリー	晩嶺	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	4	
<i>B. napus</i> (Napobrassica group)	ルタバガ	グリーントップ	3	0	0	0	3	3	3	1	2	3	3	1	2	2	3	2	2	2	2
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	宮重	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	練馬	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

a)病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死, 1: まれに分生子形成または大型壊死斑, 2: 分生子形成葉 20%未滿, 3: 分生子形成葉 20%以上 50%未滿, 4: 分生子形成葉 50%以上

表 15 キャベツべと病菌の品種に対する病原性

接種植物		べと病菌の単孢子分離菌株番号	
作物名	品種名	CPP5	CPP6
		d e	a b
カリフラワー	あきづき	4 ^{a)} 4	4 4
カリフラワー	ブライダル	4 4	4 4
カリフラワー	ア-リースノーボール A	3 3	4 4
カリフラワー	野崎早生	4 4	4 4
カリフラワー	スノーボール	4 4	4 4
カリフラワー	スノークラウン	4 4	3 3
キャベツ	デライトボール	4 4	4 4
キャベツ	ゴールドンベスト	0 0	0 0
キャベツ	黒葉サクセッション	4 4	4 4
キャベツ	サボイキング	4 4	4 4
キャベツ	四季穫	4 4	4 4
キャベツ	YR さわみどり	0 0	0 0
ブロッコリー	晩嶺	4 4	4 4
ブロッコリー	ドシコ	4 4	4 4
ブロッコリー	緑洋	4 4	4 4
ブロッコリー	深海	4 4	4 4
ブロッコリー	天雷	4 4	4 4
ブロッコリー	スリーセブン	4 4	4 4

a)病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死,
 1: まれに分生子形成または大型壊死斑,
 2: 分生子形成葉 20%未満,
 3: 分生子形成葉 20%以上 50%未満,
 4: 分生子形成葉 50%以上

った (表 15)。

2) ブロッコリーと病菌

i. アブラナ科野菜に対する寄生性

キャベツと病菌およびブロッコリーと病菌の単孢子分離菌株の寄生性の結果は表 16 に示した。ほとんどの菌株は *B. oleracea* に属する作物 (カリフラワー, キャベツおよびブロッコリー) で病原力 3~4 を示した。病原力が 0 だったものには, 野崎早生に対しての BPP1e 菌株, スノークラウンに対しての BPP1b 菌株のみであった。*B. napus* に対しても BPP1b 菌株: 0, BPP3d 菌株: 1 以外の菌株は病原力 2 以上であった。*B. campestris* に属する作物に対しては, ほとんどの菌株は病原力 0 を示した。わずかに雪白体菜に対する BPP1d,2b 菌株: 1, 新晩生油菜に対する BPP2b 菌株: 2, 花心に対する BPP3b,3c 菌株: 2, 小松菜に対する BPP3c 菌株: 2, 早生金町に対する BPP1a,2b,2c 菌株: 1, BPP3c 菌株: 2, BPP1b 菌株: 3 であった。また, *B. juncea* に対してはわずかに 2 菌株が病原力 2 以上であった。*R. sativus* に対しては, すべての菌株は病原力 0 であった。

ii. *Brassica oleracea* 内の品種に対する寄生性

供試したすべての菌株は, ほとんどの *B. oleracea* 品種に対して病原力は 3~4 を示した。ゴールデンベストに対しては BPP3d 菌株: 1, YR さわみどりに対しては BPP3b 菌株: 1 以外は病原力 0 であった (表 17)。

表 17 ブロッコリーべと病菌の品種に対する病原性

接種植物		べと病菌の単孢子分離菌株番号		
作物名	品種名	BPP1	BPP2	BPP3
		a d	a c	b d
カリフラワー	あきづき	4 ^a 4	4 4	4 4
カリフラワー	ブライダル	4 4	4 4	4 4
カリフラワー	ア-リ-スノ-ボール A	3 4	4 4	3 3
カリフラワー	野崎早生	3 3	4 3	3 3
カリフラワー	スノーボール	4 4	4 4	4 4
カリフラワー	スノークラウン	2 3	3 3	4 3
キャベツ	デライトボール	4 4	4 4	4 4
キャベツ	ゴールドンベスト	0 0	0 0	0 1
キャベツ	黒葉サクセション	4 4	4 4	4 4
キャベツ	サボイキング	3 3	4 4	4 4
キャベツ	四季穫	4 4	4 4	4 4
キャベツ	YR さわみどり	0 0	0 0	1 0
ブロッコリー	晩嶺	3 4	4 4	4 4
ブロッコリー	ドシコ	3 3	4 4	4 4
ブロッコリー	緑洋	3 3	3 4	4 4
ブロッコリー	深海	4 4	4 4	4 4
ブロッコリー	天雷	4 4	4 4	4 4
ブロッコリー	スリーセブン	4 4	4 4	4 4

a)病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死,
 1: まれに分生子形成または大型壊死斑,
 2: 分生子形成葉 20%未満,
 3: 分生子形成葉 20%以上 50%未満,
 4: 分生子形成葉 50%以上

3) カリフラワーベと病菌

i. アブラナ科野菜に対する寄生性

カリフラワーベと病菌の単孢子分離菌株は1菌株のみ分離された。病原力は *B. campestris* に属する花心，早生金町に対しては1，*B. oleracea* に属する野崎早生，スノークラウン，*B. napus* に属するグリーントップに対しては2，四季穫，晩嶺に対しては4であった。その他の植物に対しては0であった（表18）。

ii. カリフラワー品種に対する寄生性

野崎早生，スノークラウンに対して病原力2であった以外は，供試したすべてのカリフラワー品種において病原力は4であった（表19）。

4) ハクサイベと病菌

i. アブラナ科野菜に対する寄生性

ハクサイベと病菌の単孢子分離菌株の寄生性の結果は表20に示した。ほとんどの菌株は *B. campestris* に属する作物（タイサイ，キョウナ，アブラナ，ハクサイおよびカブ）に病原力2～4を示した。病原力0を示したものは，雪白体菜に対する ChP4e,5c,7e,8a,8c,8d 菌株，白茎千筋京水菜に対する ChP3b,4c 菌株，新晩生油菜に対する ChP3a,4c,4d,4e,5a,5c,5d 菌株，花心に対する ChP4e 菌株であった。*B. juncea* では ChP5c 菌株：2以外はほとんどの菌株で病原力0～1を示した。*B. oleracea* のカリフラワーに対しては各菌株とも病原力は0～4とかなりのばらつきが認められた。キャベツに対しては，ほ

表 18 カリフラワーベと病菌の単胞子分離菌株の *Brassica* および *Raphanus* 属植物に対する病原性

接種植物		べと病菌の単胞子分離菌株番号	
学名	作物名	品種名	CaPIa
<i>B. campestris</i> (Chinensis group)	タイサイ	雪白体菜	0 ^{a)}
<i>B. campestris</i> (Japonica group)	キヨウナ	白茎千筋京水菜	0
<i>B. campestris</i> (Narinsa group)	アブラナ	新晩生油菜	0
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	花心	1
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	野崎 2 号	0
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	日の菜	0
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	小松菜	0
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	早生金町	1
<i>B. juncea</i> (Cernua group)	カラシナ	葉からし菜	0
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	野崎早生	2
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノークラウン	2
<i>B. oleracea</i> (Capitata group)	キャベツ	四季穫	4
<i>B. oleracea</i> (Italica group)	ブロッコリー	晩嶺	4
<i>B. napus</i> (Napobrassica group)	ルタバガ	グリーントップ	2
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	宮重	0
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	練馬	0

a) 病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死, 1: まれに分生子形成または大型壊死斑,
 2: 分生子形成葉 20% 未満, 3: 分生子形成葉 20% 以上 50% 未満,
 4: 分生子形成葉 50% 以上

表 19 カリフラワーべと病菌の品種に対する病原性

接種植物		べと病菌の単孢子分離菌株番号
作物名	品種名	CaPla
カリフラワー	あきづき	4 ^{a)}
カリフラワー	アーリースノーボール A	4
カリフラワー	はくらく	4
カリフラワー	新雪	4
カリフラワー	スノークラウン	2
カリフラワー	野崎早生	2
カリフラワー	スノークイン	4
カリフラワー	スノードレス	2
カリフラワー	スノーマーチ	2

- a)病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死,
 1: まれに分生子形成または大型壊死斑,
 2: 分生子形成葉 20%未満,
 3: 分生子形成葉 20%以上 50%未満,
 4: 分生子形成葉 50%以上

表 20 ハクサイイベと病の単胞子分離菌株の *Brassica* および *Raphanus* 属植物に対する病原性

学名	作物名	品種名	べと病菌の単胞子分離菌株番号																							
			ChP3			ChP4			ChP5			ChP7			ChP8											
			a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c									
<i>B. campestris</i> (Chinensis group)	タイサイ	雪白体菜	2 ¹⁾	1	2	2	1	2	1	2	3	0	2	2	0	2	1	3	2	1	0	0	2	0	0	2
<i>B. campestris</i> (Japonica group)	キョウナ	白茎千筋京水菜	2	0	2	3	3	3	3	0	0	3	3	3	4	4	4	4	4	3	3	4	4	4	3	4
<i>B. campestris</i> (Narinosa group)	アブラナ	新晩生油菜	0	2	2	2	2	2	3	0	0	0	0	2	0	0	4	4	3	4	2	3	4	4	3	3
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	花心	4	4	4	3	4	4	2	2	0	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	野崎2号	3	4	4	3	2	3	3	2	3	3	4	2	3	3	3	3	3	3	2	3	4	3	3	3
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	日の菜	3	4	3	4	3	3	3	3	4	3	3	4	4	3	3	4	4	4	4	3	4	4	4	4
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	小松菜	3	4	3	4	3	2	4	2	4	2	3	3	4	3	2	3	3	3	3	3	4	4	2	3
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	早生金町	4	4	4	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
<i>B. juncea</i> (Cernua group)	カラシナ	葉からし菜	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	野崎早生	0	2	2	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	3	1	0	0	0	0	1	1	0	0	
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノーボール	3	3	4	3	0	0	1	0	2	0	3	2	2	2	1	2	3	1	0	0	2	0	1	0
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノークラウン	1	1	2	0	0	0	2	0	2	0	0	1	0	1	0	2	1	0	1	0	2	1	1	0
<i>B. oleracea</i> (Capitata group)	キャベツ	四季穫	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. oleracea</i> (Italica group)	ブロッコリー	晩嶺	1	1	1	2	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	2	2	1	1
<i>B. napus</i> (Napobrassica group)	ルタバガ	グリーントップ	3	4	4	3	3	3	3	0	3	0	2	2	2	3	0	2	2	0	0	3	2	3	3	3
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	宮重	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	練馬	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a)病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死, 1: まれに分生子形成または大型壊死斑, 2: 分生子形成葉 20%未滿, 3: 分生子形成葉 20%以上 50%未滿, 4: 分生子形成葉 50%以上

ほとんどの菌株は病原力 0 を示したが，ChP3a,5b 菌株：2，ChP5a,5d 菌株：3 と病原力の高いものがあった。ブロッコリーに対しては，ChP3d,7b,7d,8b,8c 菌株：2 以外は，ほとんどの菌株で病原力 0～1 を示した。 *B. rapa* のルタバガにおいては ChP4c,4e,7a,7d,7e 菌株で病原力 0 だった以外は 2 以上を示した。 *R. sativus* に対しては，すべての菌株で病原力は 0 であった。

ii. *Brassica campestris* 内の品種に対する寄生性

病原力が 0 であったものは，初風に対しての ChP3c 菌株，倦竜に対しての ChP3d,4a,4b,5d,7e,8c 菌株，野沢菜に対しての ChP4a,7e 菌株であった。病原力が 1 であったものは，冬峠に対しての ChP3c,4a,4b,7e 菌株，初風に対しての ChP3d,4a,4b,5a,7b,7e,8c,8e 菌株，倦竜に対しての ChP5a 菌株，松島新 2 号に対しての ChP5d 菌株であった。それ以外の菌株は病原力 2 以上を示した（表 21）。

5) カブベと病菌

i. アブラナ科野菜に対する寄生性

カブベと病菌の単孢子分離菌株の寄生性の結果は表 22 に示した。ほとんどの菌株は *B. campestris* に属する作物（タイサイ，キョウナ，アブラナ，ハクサイおよびカブ）に病原力 2～4 を示した。病原力 0 を示したものは，雪白体菜に対する TPP4c 菌株，新晩生油菜に対する TPP4c,5a,5b,6a,6b,6d 菌株，野崎 2 号に対する TPP6c 菌株であった。*B. juncea* では TPP6d 菌株：1，TPP5c,5e 菌株：2 以外は病原力 0 を示した。*B. oleracea* に対しては各菌株とも病原力は 0～4 とかなり

表 21 ハクサイベと病菌の品種に対する病原性

接種植物		べと病菌の単孢子分離菌株番号				
作物名	品種名	ChP3	ChP4	ChP5	ChP7	ChP8
		c d	a b	a d	b e	c e
ハクサイ	チーフ	4 ^{a)} 4	3 4	4 4	4 3	4 4
ハクサイ	冬峠	1 3	1 1	3 3	4 1	3 3
ハクサイ	初風	0 1	1 1	1 2	1 1	1 1
ハクサイ	花心	4 4	4 4	4 3	3 3	4 3
ハクサイ	倦竜	2 0	0 0	1 0	3 0	0 2
ハクサイ	京都3号	3 4	2 2	3 2	2 2	4 3
ハクサイ	松島新2号	3 2	2 4	4 1	3 2	4 3
ハクサイ	野崎2号	4 3	3 3	4 3	3 2	3 3
ハクサイ	山東菜	4 4	3 4	4 2	4 3	4 3
カブ	日の菜	3 4	3 3	3 3	4 4	4 4
カブ	次年子	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4
カブ	小松菜	3 4	2 4	3 3	3 3	4 3
カブ	野沢菜	3 2	0 2	3 2	4 0	3 3
カブ	耐病ひかり	4 4	4 4	4 4	4 3	4 4
カブ	天王寺	3 3	3 3	3 4	4 3	4 3
カブ	時無	4 4	3 4	4 4	4 4	4 4
カブ	寄居	4 4	3 3	4 4	4 3	4 3
カブ	早生金町	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4

- a)病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死,
 1: まれに分生子形成または大型壊死斑,
 2: 分生子形成葉 20%未滿,
 3: 分生子形成葉 20%以上 50%未滿,
 4: 分生子形成葉 50%以上

表 22 カブベと病の単胞子分離菌株の *Brassica* および *Raphanus* 属植物に対する病原性

学 名	作物名	品 種 名	べと病菌の単胞子分離菌株番号														
			TPP3			TPP4			TPP5			TPP6					
			a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c			
<i>B. campestris</i> (Chinensis group)	タイサイ	雪白体菜	2 ^{a)}	1	2	0	3	3	3	3	4	3	4	2	3	2	2
<i>B. campestris</i> (Japonica group)	キヨウナ	白茎千筋京水菜	2	2	2	2	3	4	4	4	3	4	4	3	4	3	3
<i>B. campestris</i> (Narinosa group)	アブラナ	新晩生油菜	2	4	4	0	3	4	0	2	2	2	2	0	0	3	0
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	花心	3	3	4	4	4	3	4	4	4	4	3	3	3	3	3
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	野崎 2 号	2	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	3	4	0	4
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	日の菜	3	4	4	3	4	3	3	4	4	4	3	4	3	2	4
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	小松菜	3	3	4	3	4	3	3	4	3	4	4	4	4	3	4
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	早生金町	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	3	4
<i>B. juncea</i> (Cernua group)	カラシナ	葉からし菜	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	2	0	0	1
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	野崎早生	1	2	2	1	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノーボール	3	3	2	2	1	0	3	4	4	4	3	2	1	2	0
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノークラウン	0	2	1	2	0	0	1	3	1	2	2	1	2	1	0
<i>B. oleracea</i> (Capitata group)	キャベツ	四季穫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
<i>B. oleracea</i> (Italica group)	ブロッコリー	晩嶺	2	1	2	1	2	1	1	3	2	1	2	2	1	1	1
<i>B. napus</i> (Napobrassica group)	ルタバガ	グリーントップ	3	3	3	4	3	2	3	4	3	4	3	4	2	2	3
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	宮重	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	練馬	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a)病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死, 1: まれに分生子形成または大型壊死斑, 2: 分生子形成葉 20% 未満, 3: 分生子形成葉 20% 以上 50% 未満, 4: 分生子形成葉 50% 以上

のばらつきが認められた。四季穫に対しては、ほとんどの菌株は病原力 0 を示したが、TPP6a 菌株：3 であった。ブロッコリーに対しては、病原力 1～3 を示し、病原性の有無については一概にいえな
い結果となった。*B. rapa* のルタバガにおいてはすべての菌株で病原力 2 以上を示した。*R. sativus* に対しては、すべての菌株は病原力 0 であった。

ii. *Brassica campestris* 内の品種に対する寄生性

供試したすべてのカブベと病菌の菌株では、すべての *B. campestris* 品種に対して病原力は 2～4 を示した (表 23)。

6) ダイコンベと病菌

ダイコンベと病菌の単孢子分離菌株の寄生性の結果は表 24 に示した。ほとんどの菌株は *R. sativus* をはじめとして *B. oleracea* のカリフラワーおよびキャベツには、0～4 とばらつきは認められたものの病原性を示した。*B. oleracea* のブロッコリーに対して 1 菌株および *B. napus* に対して 4 菌株で病原力は 2 を示した。*B. campestris* に属する作物ではわずかにハクサイ (品種：花心) に対して RPP2a 菌株：1 を示した以外は、病原力は 0 であった。

7) カイランベと病菌

カイランベと病菌の単孢子分離菌株の寄生性の結果は表 25 に示した。1 菌株の調査であるが、*B. oleracea* および *B. napus* に対して病原力 3 以上を示した。*B. campestris* に対しては金町で 1 を示すの

表 23 カブべと病菌の品種に対する病原性

接種植物		べと病菌の単孢子分離菌株番号		
作物名	品種名	TPP4	TPP5	TPP6
		b d	a d	a b
ハクサイ	チーフ	4 ^{a)} 4	4 4	4 4
ハクサイ	冬峠	4 4	4 4	4 4
ハクサイ	初風	4 4	4 4	3 4
ハクサイ	花心	4 4	4 4	3 3
ハクサイ	倦竜	2 3	4 4	4 3
ハクサイ	京都 3号	4 4	4 4	4 4
ハクサイ	松島新 2号	3 4	4 4	3 4
ハクサイ	野崎 2号	4 4	4 4	3 4
ハクサイ	山東菜	3 4	4 4	4 4
カブ	日の菜	4 4	3 4	4 3
カブ	次年子	4 4	4 4	4 4
カブ	小松菜	4 4	3 4	4 4
カブ	野沢菜	4 4	4 4	4 4
カブ	耐病ひかり	4 4	4 3	4 4
カブ	天王寺	4 4	4 4	4 4
カブ	時無	4 4	4 4	4 4
カブ	寄居	4 4	4 4	4 4
カブ	早生金町	4 4	4 4	4 4

a)病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死,
 1: まれに分生子形成または大型壊死斑,
 2: 分生子形成葉 20%未滿,
 3: 分生子形成葉 20%以上 50%未滿,
 4: 分生子形成葉 50%以上

表 24 ダイコンベと病の単胞子分離菌株の *Brassica* および *Raphanus* 属植物に対する病原性

学名	作物名	品種名	べと病菌の単胞子分離菌株番号															
			RPP1		RPP2		RPP3		RPP4		RPP4							
			a	c	a	d	a	b	a	b	a	b	c	d	e			
<i>B. campestris</i> (Chinensis group)	タイサイ	雪自体菜	0 ⁰	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. campestris</i> (Japonica group)	キヨウナ	白茎千筋京水菜	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. campestris</i> (Narinosa group)	アブラナ	新晩生油菜	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	花心	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	野崎2号	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	日の菜	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	小松菜	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	早生金町	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. juncea</i> (Cernua group)	カラシナ	葉からし菜	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	野崎早生	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノーボール	4	0	4	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノークラウン	2	0	1	2	3	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>B. oleracea</i> (Capitata group)	キャベツ	四季穫	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>B. oleracea</i> (Italica group)	ブロッコリー	晩嶺	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
<i>B. napus</i> (Napobrassica group)	ルタバガ	グリーントップ	1	2	1	2	1	2	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	宮重	2	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	練馬	2	0	3	2	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4

a)病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死, 1: まれに分生子形成または大型壊死斑, 2: 分生子形成葉 20%未満, 3: 分生子形成葉 50%以上, 4: 分生子形成葉 50%以上

表 25 カイランベと病菌の単胞子分離菌株の *Brassica* および *Raphanus* 属植物に対する病原性

学名	接種植物		OAPIa
	作物名	品種名	
<i>B. campestris</i> (Chinensis group)	タイサイ	雪白体菜	0 ^{a)}
<i>B. campestris</i> (Japonica group)	キヨウナ	白茎千筋京水菜	0
<i>B. campestris</i> (Narinosa group)	アブラナ	新晩生油菜	0
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	花心	0
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	野崎 2 号	0
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	日の菜	0
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	小松菜	0
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	早生金町	1
<i>B. juncea</i> (Cernua group)	カラシナ	葉からし菜	0
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	野崎早生	3
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノーボール	4
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノークラウン	2
<i>B. oleracea</i> (Capitata group)	キャベツ	四季穫	4
<i>B. oleracea</i> (Italica group)	ブロッコリー	晩嶺	3
<i>B. oleracea</i> (Albograbra group)	カイラン	白心	4
<i>B. napus</i> (Napobrassica group)	ルタバガ	グリーントップ	2
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	宮重	0
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	練馬	0

a) 病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死, 1: まれに分生子形成または大型壊死斑,
 2: 分生子形成葉 20% 未満, 3: 分生子形成葉 20% 以上 50% 未満,
 4: 分生子形成葉 50% 以上

みであった。*B. juncea*, *R. sativus* に対しては病原性は 0 であった。

8) タアサイベと病菌

タアサイベと病菌の単孢子分離菌株の寄生性の結果は表 26 に示した。*B. campestris* において雪白体菜に対して TaP1a,1c 菌株 : 0 , タアツアイに対して TaP1c 菌株 : 1 , 白茎千筋京水菜に対して TaP1b 菌株 : 1 を示した以外は病原力 2 以上であった。*B. oleracea* では晩嶺に対して TaP1b 菌株 : 2 を示した。*B. napus* のグリーントップに対しては各菌株の病原力は 1 ~ 3 であった。*B. juncea*, *R. sativus* に対しては病原性は 0 であった。

(3) 考 察

べと病菌および他の純寄生菌は様々なレベルで宿主特異的な寄生性を示している。多くの研究では、宿主の属^{13,20,26,40,65,67,73,76}、種^{22,51,94-96,103}および品種^{77,84,94,95,113,114}レベルで宿主特異性が調べてられている。日本においては、べと病菌の寄生性の分化についての試験は 1934 年⁴⁰に行われているのみで、近年は Satou and Fukumoto^{94,95}の行った試験以外はなされていない。本研究および Satou and Fukumoto^{94,95}は単孢子分離を行ってから、アブラナ科植物における宿主範囲を調査したのに対して、Mehta and Saharan⁶⁷は単コロニーから分離して試験を行った以外、すべての研究において圃場から分離してきた菌をそのまま、あるいは増殖して接種試験に用いている。この結果、分離源親集団内で各分離菌株が同じような寄生性を示すのか、異なった寄生性を示し補完的に広がりのある寄生性を示すのかが明かとなった。

表 26 タアサイベと病の単胞子分離菌株の *Brassica* および *Raphanus* 属植物に対する病原性

学 名	作物名	品 種 名	TaP1		
			a	b	c
<i>B. campestris</i> (Chinensis group)	タイサイ	雪白体菜	0 ^{a)}	3	0
<i>B. campestris</i> (Japonica group)	キヨウナ	白茎千筋京水菜	3	1	3
<i>B. campestris</i> (Narinososa group)	タアサイ	タアツアイ	3	2	1
<i>B. campestris</i> (Narinososa group)	アブラナ	新晩生油菜	4	4	4
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	花心	3	4	4
<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	野崎2号	4	4	4
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	日の菜	4	4	3
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	小松菜	3	3	2
<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	早生金町	4	4	4
<i>B. juncea</i> (Cernua group)	カラシナ	葉からし菜	0	0	0
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	野崎早生	0	0	0
<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	スノークラウン	0	1	0
<i>B. oleracea</i> (Capitata group)	キャベツ	四季穫	0	0	0
<i>B. oleracea</i> (Italica group)	ブロッコリー	晩嶺	1	2	0
<i>B. napus</i> (Napobrassica group)	ルタバガ	グリーントップ	3	2	3
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	宮重	0	0	0
<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	練馬	0	0	0

a)病原性; 0: 分生子形成無しまたは壊死, 1: まれに分生子形成または大型壊死斑,
2: 分生子形成葉 20%未滿, 3: 分生子形成葉 20%以上 50%未滿,
4: 分生子形成葉 50%以上

本研究において、キャベツ、ブロッコリー、カリフラワーおよびカイランから分離したべと病菌は、*B. oleracea* に寄生性を示した。また、*B. napus* に対しても寄生性を示すことが明らかとなった。この結果より、*B. oleracea* から分離したべと病菌は高い宿主特異性を示すことが明らかとなった。また、各菌株とも寄生性がほぼ一致していること、寄生する植物に対しての病原力もほぼ一致していたため、きわめて均一に近い1系統に属することが明らかとなった。*B. oleracea* 内の品種に対する接種試験では、キャベツのゴールデンベストおよび YR-さわみどりの2品種が、供試した全ての菌株に対して抵抗性を示したが、他の品種では感受性を示した。この結果においても *B. oleracea* から分離したべと病菌はきわめて均一に近い1系統に属することが明らかとなった。さらに、ゴールデンベストおよび YR-さわみどりの2品種は有用なべと病抵抗性育種の素材になりうるものと考えられた。しかし、アメリカでは^{113,114)}、抵抗性品種に感染する新しいレースが出現している。我が国でも *B. oleracea* のべと病菌に将来新しいレースが出現するものと考えられ、そのような場合、これら2品種が抵抗性を示すか不明である。

ハクサイ、カブおよびタアサイから分離したべと病菌は、*B. campestris* に属する各植物に対して寄生性を示した。しかし、一方で、いくつかの *B. campestris* 植物に対して寄生性を示さないべと病菌も見いだされた。さらに、*B. juncea*、*B. oleracea* および *B. napus* に対しての寄生性の変動が大きいものが見出された。例えばハクサイおよびカブから分離したべと病菌は *B. campestris* および *B. napus* に寄生性を示したが、*B. oleracea* に対しては菌株によって病原性に顕著な差を示し、寄生性は菌株により異なっていた。また、*B. juncea*

に対しては病原力が1以下の菌株がほとんどであったため、寄生性を示さないものと考えられる。ハクサイおよびカブ品種に対する寄生性の調査では、冬峠、初風、倦竜、野沢菜等において、カブ分離菌株は寄生性を示したのに対し、ハクサイ分離菌株は寄生性を示さない菌株が存在した。つまり、べと病抵抗性であるハクサイ、カブ品種をさらに犯す菌系統が存在していることが明かとなった。したがって、ハクサイ、カブ分離菌株には、レースが存在するのではないかと考えられた。また、品種に対する病原性も菌株ごとに、ばらつきが認められた。これらから、ハクサイおよびカブべと病菌は、菌株によって植物および品種に対する寄生性にばらつきがあり、圃場内での病斑にも寄生性の異なる菌株が混在していると考えられる。また、レースの存在の可能性が示唆されたことから、新たな抵抗性品種のスクリーニングを行う必要がある。

ダイコンから分離したべと病菌は、*R. sativus*のみならず *B. oleracea*, *B. napus* に対して寄生性を示した。しかし、その寄生性には菌株によってかなり変動が見られた。このことから、ダイコンべと病菌はハクサイおよびカブべと病菌と同様に、菌株によって植物に対する寄生性にばらつきがあり、圃場内での病斑にも寄生性の異なる菌株が混在していると考えられる。

ハクサイ、カブ、タアサイおよびダイコンべと病菌の単孢子分離菌株間では寄生性の変動が大きく、キャベツおよびブロッコリーべと病菌の単孢子分離菌株間では寄生性に変動は認められない点に関しては、以下の理由が考えられる。

①べと病菌は、アブラナ科植物が原産地等から持ち込まれた時に一緒に日本へ侵入した。カブ⁹⁾およびダイコン¹⁰⁾は8世紀には既に

日本での記載があることから、カブおよびダイコンのべと病菌はおそらくそれ以前から存在していた。

- ②カブ、ダイコンは現在では様々な在来品種が見受けられ、品種が分化している。
- ③品種の分化に伴って、べと病菌の寄生性にもわずかではあるが分化が伴った。
- ④これらの菌株が長期間にわたって、交配や変異を繰り返し、寄生性・病原力に変動を生じた。
- ⑤ハクサイ⁸⁸⁾は日本には1870年代に導入された野菜であるが、カブと同じ *B. campestris* に属しており、カブべと病菌には都合のよい宿主であった。
- ⑥ *B. oleracea* 植物が日本に導入され、栽培されたのは1850年代であり¹¹⁰⁾、それほど多くの年月は経過しておらず、キャベツべと病菌に対して我が国で寄生性・病原力に変動は進んでいない。
- ⑦カブおよびダイコンべと病菌の中には、新たに導入されたキャベツ等に対しても寄生しうる病原性を持った菌株が存在する可能性がある。
- ⑧したがって、カブおよびダイコンべと病菌の中には、キャベツ等に寄生性を有する菌株が存在する。

以上のことから、日本においてカブおよびダイコンとそれぞれのべと病菌がそれぞれに分化を繰り返し、共進化をしてきたと考えられる。

アメリカでは *B. oleracea* のべと病菌にはレースが見られる等の変動が見られる^{113,114)}。アメリカでは、日本よりも古くから、多くの *B. oleracea* 植物が存在していたか、あるいは導入されたと考えられる。

日本でも栽培年月が長くなれば *B. oleracea* のべと病でも寄生性の異なる菌株が見られると考えられる。

また、日本では *R. sativus*⁸⁴⁾ のべと病菌に、アメリカでは *B. oleracea*^{113,114)} のべと病菌に、いくつかのレースの存在が報告されている。このことから推測すると、*B. campestris* のべと病菌にも、いくつかのレースが存在すると考えられる。実際、*B. campestris* のべと病菌で、レースの存在を示唆する報告¹²⁵⁾もあり、また、本研究でも *B. campestris* の各品種への接種により、その可能性が示唆された。

B. campestris および *R. sativus* のべと病菌は、各単胞子分離菌株ごとに寄生性に変動が見られたが、この変動が次世代以降にも見られるものかを、菌株ごとにさらに単胞子分離を試みて調べる必要がある。また、遺伝子の変異が寄生性に関係しているのかどうかを調べる必要がある。

3. 遺伝子レベルから見た寄生性の分化

(1) 制限酵素断片長多型 (RFLP)

実験方法

第III章にならい、ブロッコリーべと病菌 (BPP1a 菌株)、カブべと病菌 (TPP4a 菌株) およびダイコンべと病菌 (RPP2a および RPP4b 菌株) を増殖した。増殖したべと病菌の分生子を蒸留水で洗浄し、その後、5,000 - 10,000 rpm. (クボタ KR-20000T RA-6) で30分遠心分離を行った。遠心分離後、沈殿した分生子を集め、再び少量の蒸留水に懸濁し、分生子を凍結乾燥した。凍結乾燥後は、Doyle and Doyle²¹⁾の方法に従って DNA を抽出した。べと病菌以外にアブラナ科野菜に

寄生する病原菌として，表 27 に示すカブ黒斑病菌〔*Alternaria brassicae* (Berkeley) Saccardo〕，ワサビダイコン黒斑病菌〔*Alternaria brassicae* (Berkeley) Saccardo〕，キャベツ灰色かび病菌〔*Botrytis cinerea* Persoon: Fries〕，コマツナ炭そ病菌〔*Colletotrichum higginsianum* Saccardo〕，ダイコン萎黄病菌〔*Fusarium oxysporum* Schlechtendahl: Fries f. sp. *raphani* Kendrick et Snyder〕，ブロッコリーピシウム腐敗病菌〔*Pythium ultimum* Trow var. *ultimum*〕，ダイコン根腐病菌〔*Rhizoctonia solani* Kühn〕，タイサイ菌核病菌〔*Sclerotinia sclerotiorum* (Libert) de Bary〕，キャベツ白絹病菌〔*Sclerotium rolfsii* Saccardo〕およびハクサイ（ツケナ）黄化病菌〔*Verticillium dahliae* Klebahn〕からも，同様の方法で DNA を集めた．各菌株は，ジャガイモ煎汁培地に接種して 20-25 °C で振とう培養し，菌糸および分生子を集め，-80 °C で凍結させ，乳鉢および乳棒で磨砕した．磨砕後は，べと病菌の DNA 抽出と同様に Doyle and Doyle²¹⁾の方法に従って，各菌株ごとに DNA を抽出した．また，表 28 に示した植物からも DNA を集めた．滅菌土に播種し，20 °C，5,000 lux，12 時間照明下の陽光定温器内で約一週間育て，展開した子葉を集め，-80 °C の低温下で凍結させ，乳鉢および乳棒で磨砕した．磨砕後は，Doyle and Doyle²¹⁾の方法に従って，各植物ごとに DNA を抽出した．

これ以降の実験は，Sambrook *et al*⁹¹⁾，柘植ら¹¹⁶⁾，渡辺・杉浦¹²²⁾の方法に従って，実験を行った．ブロッコリーべと病菌（BPP1a 菌株）から抽出した DNA を制限酵素 *Hind* III で処理し，クローニングベクター pUC19 に組み込んだ．クローニングされたインサートは，増殖・分離を経て DNA 回収用フィルター付遠心チューブ SUPREC-01（タカラ）を用いて，回収，精製を行った．これらの精製べと病菌

表 27 DNA 抽出に供試したアブラナ科の病原菌

菌株番号 ^{a)}	病名	学名
712079	カブ黒斑病	<i>Alternaria brassicae</i>
712096	ワサビダイコン黒斑病	<i>Alternaria brassicae</i>
BC ^{b)}	キャベツ灰色かび病	<i>Botrytis cinerea</i>
305635	コマツナ炭そ病	<i>Colletotrichum higginsianum</i>
727517	ダイコン萎黄病	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>raphani</i>
PU ^{c)}	ブロッコリーピシウム腐敗病	<i>Pythium ultimum</i> var. <i>ultimum</i>
712096	ダイコン根腐病	<i>Rhizoctonia solani</i>
712098	タイサイ菌核病	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
SR ^{d)}	キャベツ白絹病	<i>Sclerotium rolfsii</i>
728505	ハクサイ (ツケナ) 黄化病	<i>Verticillium dahliae</i>

a) 農林水産省農業生物資源研究所保存菌株 (MAFF collection)

b) 著者分離菌株

c,d) 農林水産省野菜・茶業試験場環境部病害研究室保存菌株

表 28 DNA 抽出に供試したアブラナ科野菜

植物名	品種名
ブロッコリー	晩嶺, エクセル, 緑盃, スリーセブン, 早生緑
キャベツ	中早生3号, サボイエース, 四季穫, グリーンボール, 黒葉サクセセッション
カリフラワー	スノーマーチ, あきづき, バイオレットクイン, 新雪, アーリースノーボールA
ハクサイ	初風, 倦竜, 山東菜, 耐病60日, 松島新2号
カブ	野沢菜, 本紅赤丸, 金町, 時無, 津田
ダイコン	練馬, 耐病総太り, おろし, 宮重
メキャベツ	早生子持
コーララビ	グラントデューク, サンバード
カイラン	白心
ケール	ハイクロップ

DNA 断片は，Dig DNA ラベリングキット(ベーリンガー・マンハイム)を用いて，ジゴキシゲニン標識，精製を行い，各抽出 DNA とのハイブリダイゼーションを行った．ナイロンメンブレン，プラスチック(ベーリンガー・マンハイム)に，各 DNA 500ng をドットプロットし，紫外線を当てメンブレンに固定した．これを 50%ホルムアミド，0.5%ラウリル硫酸ナトリウム，0.1% *N*-ドデカノイルサルコシン酸ナトリウム，1%ブロッキングリジェント(ベーリンガー・マンハイム)，900mM 塩化ナトリウム，50mM リン酸水素二ナトリウム，5mM EDTA，pH ≒ 7 中に入れ，42℃で2時間振とうした．ジゴキシゲニン標識された DNA 断片を 100℃に10分置き，0℃で急冷させた後，メンブレンを振とうさせている溶液に入れ，42℃で一晩振とうした．振とう後，60℃の360mM 塩化ナトリウム，20mM リン酸水素二ナトリウム，2mM EDTA，0.1%ラウリル硫酸ナトリウム，pH ≒ 7 で2回，180mM 塩化ナトリウム，10mM リン酸水素二ナトリウム，1mM EDTA，0.1%ラウリル硫酸ナトリウム，pH ≒ 7 で2回，0.1M マレイン酸，0.15M 塩化ナトリウム，0.3%ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノラウレート，pH7.5 で1回洗浄した．この後，0.1M マレイン酸，0.15M 塩化ナトリウム，1%ブロッキングリジェントに移し，室温で30分振とう後，DIG 発光検出キット(ベーリンガー・マンハイム)を用いて，ジゴキシゲニンに反応をさせ，メンブレンにX線フィルムを約2時間密着させた後，現像した．そこで，べと病菌菌株とのみ反応を示すクローンを選抜し，プローブとした．

さらに，各べと病菌(BPP1a, TPP4a および RPP4b 菌株)から抽出した DNA を用い，RFLP の調査を行った．様々な制限酵素で処理

し、アガロースゲルで電気泳動を行い、LKB 2016 VacuGene 核酸プロッティングシステム（ファルマシア）を用いて、ナイロンメンブレンに DNA を転写し、紫外線を当て固定した。これらと先の試験で選抜したプローブとのハイブリダイゼーションを行った。

結果

ジゴキシゲニンラベルしたベト病菌の DNA 断片の中から、各 3 系統（BPP1a, TPP4a, RPP2a または RPP4b 菌株）ともに反応を示すもののみを選抜した。ベト病菌以外のアブラナ科野菜に寄生する病原菌から抽出した DNA とは反応せず（図 9）、また様々なアブラナ科野菜品種から抽出した DNA とも反応しない（図 10）クローンが 1 つ見つかり、BH10659 と名付けた。この BH10659 をプローブとして用いた RFLP の調査では、*Bgl* II, *Mlu* I および *BstE* II 処理したものでは BPP1a, TPP4a および RPP4b 菌株とも異なるハイブリダイゼーションパターンを示した（図 11）。

（2）考 察

RFLP については、様々な菌株を用いて試験が行われている^{5,12,15,16,24,25,42,43,49,52,53,61,63,72,80,90,100,109,112,117,127}。さらには、これらの多型を探るだけではなく、病原菌に特異的な塩基配列を得て検出への利用も試みられている^{10,15,28-30,37,57,58,62,99,123}。また、無作為増幅多型 DNA (RAPD) 法を行って、より簡単で迅速な多型の検出も行われている^{23,54,119}。BH10659 プローブは、アブラナ科ベト病菌とは反応し、各アブラナ科植物の各品種に対しては反応しなかった。したがって、ベト病菌を増殖する

A B C D E F G H

1
2
3
4
5



図9 BH10659 プロローブとのハイブリダイゼーション

- A: ダイコン; 2:練馬, 3:耐病総太り, 4:おろし, 5:宮重.
B: ハクサイ; 1:初風, 2:耐病60日, 3:巻菴, 4:山東菜, 5:松島新2号.
C: カブ; 1:野沢菜, 2:本紅赤丸, 3:時無, 4:金町, 5:津田.
D: ベと病菌菌株; 1: BPP1a, 2: TPP4a, 3: RPP4b.
E: プロックリー; 1:晩嶺, 2:エクセル, 3:緑盃, 4:スリーセブン, 5:早生緑.
F: キャベツ; 1:中早生3号, 2:サボイエース, 3:四季穫, 4:黒葉サクセション, 5:グリーンボール.
G: カリフラワー; 1:スノーマーチ, 2:新雪, 3:バイオレットクイン, 4:あきづき, 5:アーリースノーボールA.
H: その他; 1:メキャベツ; 品種:早生子持, 2:コールラビ; 品種:グラランドデューク,
3:コールラビ; 品種:サンバード, 4:ゲール; 品種:ハイクロップ, 5:カイラン; 品種:白新.

A B C D E F G

1

2

図 10 BH10659 プロローブとのハイブリダイゼーション

A2 : *Alternaria brassicae* (712079), B1 : *A. brassicae* (712096), B2 : *Botrytis cinerea* (BC),
C1 : *Colletotrichum higginsianum* (305635), C2 : *Sclerotium rolfsii* (SR), D1 : *Peronospora parasitica* (BPP1a),
D2 : *P. parasitica* (TPP4a), E1 : *P. parasitica* (RPP2a), E2 : *Verticillium dahliae* (728505),
F1 : *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* (727517), F2 : *Pythium ultimum* var. *ultimum* (PU),
G1 : *Rhizoctonia solani* (712078), G2 : *Sclerotinia sclerotiorum* (712098).

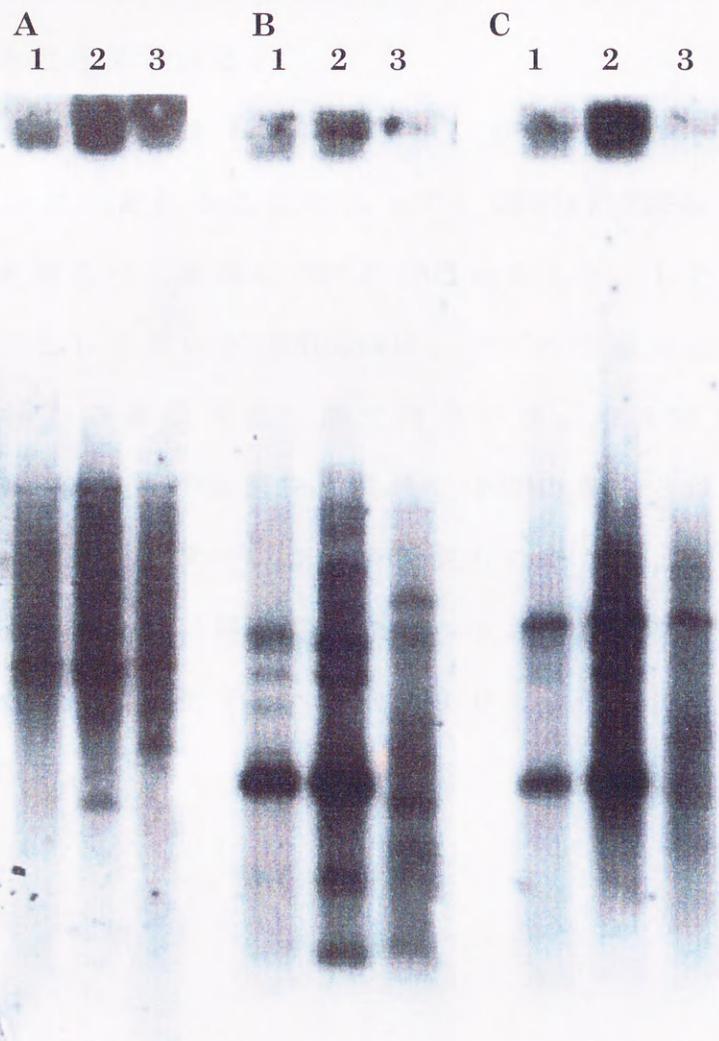


図 11 BH10659 とのハイブリダイゼーション
 A)制限酵素 *Bgl*II 処理, B)*Mlu* I 処理, C)*Bst*E II 処理
 レン 1: BPP1a 菌株, レン 2: TPP4a 菌株, レン 3: RPP4b 菌株

際に宿主植物の DNA が混じってしまう可能性があったが，この BH10659 プローブの DNA 断片部分は，べと病菌由来のものと考えられる．また，BH10659 プローブは，べと病菌以外のアブラナ科の病原菌とは反応しなかったため，アブラナ科べと病菌に特異的なプローブであると考えられる．

Bgl II，*Mlu* I または *BstE* II 処理して BH10659 プローブとハイブリダイゼーションを行うことによって，BPP1a，TPP4a および RPP4b 菌株の 3 系統のべと病菌に RFLP が認められた．したがって，ここでプローブとして用いた BH10659 は，アブラナ科べと病菌の寄生性の分化に関わる遺伝子の一部ではないかと考えられた．また，BPP1a 菌株および TPP4a 菌株に共通で RPP4b 菌株とは異なるハイブリダイゼーションパターンが，多く見られたため，アブラナ科べと病菌の寄生性の分化に関して，キャベツおよびカブに寄生するべと病菌はダイコンに寄生するべと病菌よりも遺伝的に近い関係にあると考えられる．

第 VII 章． 総合考察

我国で *Peronospora parasitica* によってアブラナ科の有用植物に発生するべと病には，キャベツべと病，ハクサイべと病，カブべと病，その他のアブラナ科類べと病，ナタネべと病，ダイコンべと病，ハボタンべと病等がある．これらべと病を引き起こす病原菌は，各菌株とも約 20℃前後の冷涼で湿度の高い条件で生育しやすく，数回叉状に分岐する分生子柄上に，無色で卵～楕円～円形の分生子を形成し，これによって伝搬される．

近年，我が国では新たな野菜が導入されており，べと病の報告の無い野菜も多いため，病原菌の同定および病名の命名を行った．その結果，ブロッコリーべと病，カリフラワーべと病，カイランべと病，タアサイべと病を報告し，それぞれの病原菌は *P. parasitica* であると同定した．これらべと病菌は，形態的にもこれまで報告のあるアブラナ科のべと病菌とほぼ同じであり，外見からは寄主植物を特定することは困難であった．

これらべと病の病原菌には分離される宿主植物によって寄生性に差異が見られる寄生性の分化が知られている (8,13,14,20,22,26,40,51,59,60,65,67,68,73,77,84,85,94-96,103,113,114,125)．しかし，この病原菌は分離される宿主植物による形態の差異は認められず，外見から寄生性の分化を知ることが困難である．また，この寄生性の分化についての研究は，最近ではほとんど調査がなされていない．そこで，アブラナ科植物に対するべと病菌の生態を解明するため，寄生性の調査を試みた．菌株の分離に当たっては，純粋な一系統として取り扱うことのでき

るよう単孢子分離を行った。他の人工培養の可能な植物病原糸状菌においては、単孢子分離を行ってから試験に供する事は当然のことであるが、本研究で取り扱ったアブラナ科べと病菌は人工培養のできない純寄生菌であるため、これまでは単孢子分離を行ってから試験を行っている例はなく、わずかに単コロニーから分離しての接種試験のみであった⁶⁷⁾。

また、本菌は人工培地上では生育できない純寄生菌であるため、寄生性の調査に先立って、菌株が混じり合わずに多数を扱えるようにするため、菌株の長期保存方法の確立を行った。さらには、寄生性の分化が、遺伝子と関わっているかどうかの試験も行った。

植物病原糸状菌の保存方法については、様々な方法が試みられており、実際に利用されている^{4,11,17,18,33,35,36,38,89,92,111,115)}。 *Bremia*, *Peronospora*, *Plasmopara*, *Pseudoperonospora*, *Sclerospora* 等のべと病菌科 (*Peronosporaceae*) に属する菌の保存も試みられている。べと病菌は人工培養のできない純寄生菌であるため、安定的に実験に用いるためには、維持・増殖の技術が必須であり、多くの菌株の比較試験を行うとなればこの手間暇だけで多くの労力をさくこととなる。これらべと病菌の保存方法には液体窒素を用いての超低温保存や葉片のままの凍結保存が用いられている^{11,18,33,111,115)}。これらの方法により保存は可能であるが、液体窒素を用いての保存などは、十分な設備が無くては行うことができないため、超低温フリーザーレベルで十分に保存できる方法が求められる。また、解凍後により簡便に接種・増殖のできる方法も望ましい。そこで、より簡便な保存方法の開発を行った。その結果、べと病菌の分生子を 10%ジメチルスルホキシド + 5%スキムミルクあるいは 10%ジメチルスルホキシド + 10%スキ

ムミルクに懸濁し，-20℃で予備凍結後-80℃で長期保存が可能であることが明らかとなった．また，これまでの保存方法¹³⁾と比較して，分生子の発芽率が高いことおよび簡便に取り扱いが可能であることなどにおいて，より優れた保存方法であることが明らかとなった．この保存方法は，ブロッコリーベと病菌だけではなく，他の *P. parasitica* による病原体であるキャベツベと病菌，ハクサイベと病菌，カブベと病菌およびダイコンベと病菌他，多くのアブラナ科ベと病菌に対しても有用であると考えられる．

これら菌株を用いて寄主範囲の調査を行った．まず，単孢子分離した菌株がどのような寄生性を示すのか調査を行った．さらには，分離源親集団内で各分離菌株が同じような寄生性を示すのか，異なった寄生性を示すのかの調査も行った．寄生性の調査には子葉を用い，接種源にはベと病菌の分生子数が1葉あたり50個以上となるように調製した．

我が国では，アブラナ科野菜に寄生するベと病菌の寄生性の分化は，Hiura & Kanegae⁴⁰⁾をはじめとする古くからの研究を基に，次のように考えられてきた．

- 1：ダイコンから分離された菌：ダイコン，ハクサイ，コマツナに寄生するが，タイサイ，キャベツに寄生しない
- 2：ハクサイ，タイサイからの菌：ハクサイ，カブ，コマツナ，タイサイに寄生するが，ダイコン，キャベツに寄生しない
- 3：キャベツから分離された菌：ダイコン，ハクサイを侵す菌とは異なる

ところがこれまでの寄生性についての報告では，このベと病菌の寄生性とは一致しない部分も多くみうけられる．本研究においては，

B. oleracea から分離したべと病菌は，*B. oleracea* に寄生性を示し，きわめて均一に近い 1 系統に属することが明らかとなった．また，*B. napus* に対しても寄生性を示した．*B. oleracea* 品種に対する接種試験においては，ゴールドンベストおよび YR-さわみどりの 2 品種が抵抗性を示したが，他品種では感受性を示した．この結果においても *B. oleracea* から分離したべと病菌はきわめて均一に近い 1 系統に属することが明らかとなった．しかし，アメリカ^{113,114)}におけるように，抵抗性品種に感染する新しいレースが出現した場合には，この 2 品種もべと病に感染する可能性がある．日本においてもこれら新しいレースに対しての研究が必要となるであろう．

B. campestris から分離したべと病菌は，*B. campestris* に属する各植物に対して寄生性を示した．一方で，いくつかの単孢子分離菌株には寄生性を示さないものが見出された．さらには，*B. juncea*，*B. oleracea*，*B. oleracea* および *B. napus* に対しても寄生性に変動のあるものが見出された．また，*R. sativus* から分離したべと病菌は，*B. oleracea*，*B. napus* および *R. sativus* に寄生性を示し，それらの寄生性には変動が見られた．病原性の地理的な変動は認められず，ハクサイ，カブ，タアサイおよびダイコンべと病菌は，様々に寄生性の変動を持つ菌株が，補完的に寄生性の広がりを持っている集まりなのではないかと考えられた．

B. campestris，*R. sativus* のべと病菌の単孢子分離菌株間の寄生性に変動が認められる点に関しては前述したように，以下のようなことが理由の 1 つとして考えられる．カブおよびダイコンべと病菌はアブラナ科植物が 8 世紀に海外から持ち込まれた^{6,106)}時に一緒に日本へ侵入，あるいは，既に存在していたべと病菌が，それぞれダイコ

ン，カブに適應した．ダイコン，カブは現在では様々な在来種に分かれており，品種の分化に伴って，べと病菌も分化や交配を繰り返してきたのではないかと考えられる．さらには，カブおよびダイコンが日本に導入されてから後も新たな海外の品種が導入される機会があったに違いなく，それとともに海外で分化を進めたべと病菌が侵入できる機会も多かったはずである．これらの菌株が長い年月にわたって，交配し，混じり合い，分布を広げ，寄生性に變動を生じたのではないだろうか．ハクサイは日本には近年に導入⁸⁸⁾された野菜であるが，カブと同じ *B. campestris* に属しており，カブべと病菌の宿主となったものと考えられる．一方，*B. oleracea* のべと病菌に関しては次の点が考えられる．*B. oleracea* 植物が日本に導入されたのは近年¹¹⁰⁾であり，これらのべと病菌に関しては分化が進んでいるとは考えにくい．したがって，カブおよびダイコンべと病菌は，宿主と病原菌がそれぞれに分化を繰り返し，共進化をしてきたのではないかと考えられる．アメリカにおいては *B. oleracea* のべと病菌に變動が見られる．アメリカでは，日本よりも古くから多くの *B. oleracea* 植物が存在していたのであろう．日本においても栽培年月が長くなれば *B. oleracea* のべと病においても寄生性について様々な變動が見られてくるのではないだろうか．また，*R. sativus* および *B. oleracea* のべと病菌にはいくつかのレースが存在する^{84,113,114)}という報告がある．この報告から推測すると，*B. campestris* のべと病菌にもいくつかのレースが存在するのではないかと考えられる．実際，本研究の *B. campestris* の各系統への接種により，レースの存在の可能性が示唆されるため，さらなる研究が必要となるであろう．

また，アブラナ科に寄生するべと病菌に特異的に反応するプロ-

ブを探索した結果，1クローンが見つかった．このクローンは，ブロッコリー，カブおよびダイコンベと病菌から抽出した DNA とは反応したが，アブラナ科野菜から抽出した DNA とは反応しなかったため，宿主 DNA の混入はなかったと考えられた上，ベと病菌以外のアブラナ科植物に寄生する病原菌から抽出した DNA とも反応しなかった．したがって，このクローン DNA はベと病菌の DNA から得られ，ベと病菌にのみ特異的に反応するものと考えられた．さらには，各ベと病菌 DNA には RFLP が見られた．ベと病菌の DNA を切断する制限酵素を変えることによって，様々なハイブリダイゼーションパターンが見られたが，ほとんどの場合は，ブロッコリーベと病菌とカブベと病菌においては同じパターンを示し，ダイコンベと病菌は異なったパターンを示した．このことから，ブロッコリーベと病菌とカブベと病菌は遺伝的にダイコンベと病菌よりも近いことが考えられる．これらの実験から得られた結果を総合すると，アブラナ科ベと病菌の寄生性の分化および遺伝変異の流れのモデルの一つとして，次のようなものが考えられる（図 12）．

アブラナ科ベと病菌の寄生性はダイコン系およびカブ系に分かれた後，後者が更にキャベツベと病菌，カブベと病菌へと枝分かれした可能性があるのではないかと考えられる．寄生性分化の調査によって，枝分かれする際にダイコン系，カブ系のベと病菌はともにキャベツをはじめとする *B. oleracea* に対する寄生能力を持ち得たまま分かれたと考えられ，現在でも *B. oleracea* に対しては寄生性を示すものが現れるのではないかと考えられる．また，RFLP 分析によって，カブベと病菌とブロッコリーベと病菌に共通のバンドが多く見られ，ダイコンベと病菌より遺伝的な近縁性が確認された．したが

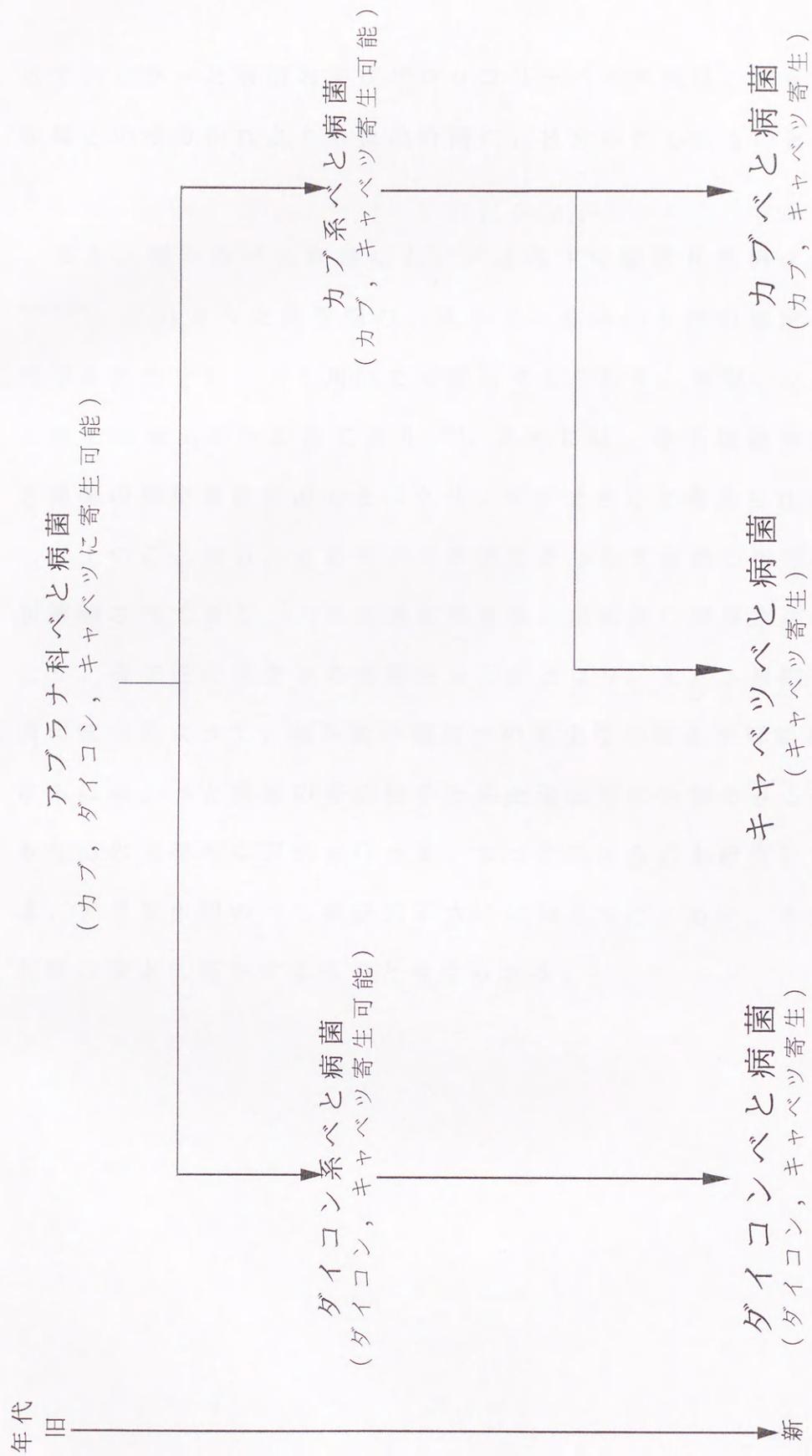


図 12 我が国におけるアブラナ科ベと病菌の寄生性および遺伝変異の流れ

って、カブベと病菌およびブロッコリーベと病菌は、ダイコンベと病菌との枝分かれよりも後の時期に、枝分かれしたものと考えられる。

また、様々なベと病菌においては種子伝染性が指摘されている^{38,44,46,121}。このような病原菌の、種子での感染の有無の検定等がここで得られたプローブを用いて可能と考えられる。実際、ソルガムベと病では検出が行われており¹²³、さらには、宿主植物体内でのベと病菌の感染進展状況のモニタリングができると考えられる。

以上のことから、これまで不確実であった本病菌の生態的諸性質が解明されてきた。人工培養のできない本病菌の保存方法の確立により、寄生性の調査での再現性が可能となり、また、単孢子分離方法の確立によって、純系統の菌株での寄生性の調査が可能となった。さらには、ベと病菌の寄生性の分化を遺伝的に分類できるようにするための先導的な研究も行った。よってこれらの本研究による成果は、アブラナ科のベと病研究に大いに役立つとともに、本病の防除対策の確立に寄与するものと考えられる。

第VIII章． 摘 要

アブラナ科野菜のべと病は，全国で発生する重要病害の一つである．このべと病の病原菌は純寄生菌であり，人工培養できないことから，その生態については明らかにされていない点が多く，したがって生態や寄生性についても詳細は不明である．本研究では，様々なアブラナ科に発生するべと病について，寄生性の分化の基礎資料を得るため，発病に関与する諸要因を解析するとともに保存方法の確立を行い，病原菌を単孢子分離し純系統での寄生性の調査を試みた．さらに，べと病菌の寄生性と遺伝子との間に相関関係があるかどうかを調査した．得られた結果の概要は下記の通りである．

(1) 新たなべと病の発見および命名

ブロッコリー，カリフラワー，カイランおよびタアサイに我が国で未知の病害を発見し，病原菌を *Peronospora parasitica* (Persoon: Fries) Fries であると同定し，それぞれの病名をブロッコリーべと病，カリフラワーべと病，カイランべと病およびタアサイべと病と命名した．

(2) べと病菌の保存

短時間および長期間の様々な凍結処理の結果，10%ジメチルスルホキシド+ 5%スキムミルク，10%ジメチルスルホキシド+ 10%スキムミルクに懸濁し，-20℃で予備凍結後-80℃で保存を行ったものでは，12ヶ月後においても病原性は認められ，また発芽も高く維持

されていた。したがって、 -20°C で24時間予備凍結後 -80°C に移すことによって、長期保存が可能であると考えられた。分散媒には、10%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルクあるいは10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクが最適であると考えられた。

また、他の方法と比較した結果、本法が発芽においてかなり優れていた。さらには、保存する際の労力という点においても、分生子懸濁液を分散媒と混合するのみである点、解凍して接種する際にもそのまま懸濁液を植物に接種するのみでよい点等から、最も簡便であると考えられた。この保存方法は、ブロッコリーベと病菌だけではなく、他の *P. parasitica* の病原体であるキャベツベと病菌、ハクサイベと病菌、カブベと病菌およびダイコンベと病菌他、多くのアブラナ科ベと病菌に対しても有用である。

(3) 寄生性の分化

単胞子分離したベと病菌がどのような宿主範囲を持っているのかの調査を試み、さらには、分離源親集団内で各分離菌株が同じような寄生性を示すのか、異なった寄生性を示し補完的に広がりのある寄生性を示すのかも合わせて調査を行った。

キャベツをはじめとする *B. oleracea* から分離したベと病菌は、特異的に *B. oleracea* に寄生性を示し、きわめて均一に近い1系統に属し、また、*B. napus* に対しても寄生性を示すことが明らかとなった。*B. oleracea* の様々な品種に対する接種試験においては、キャベツ品種：ゴールデンベストおよび YR-さわみどりの2品種が抵抗性を示したが、他の品種では感受性を示した。

ハクサイをはじめとする *B. campestris* から分離したベと病菌は、*B.*

campestris に属する各植物に対して寄生性を示した。一方で、いくつかの単孢子分離菌株には寄生性を示さないものが見出された。さらには、*B. juncea*, *B. oleracea*, *B. oleracea* および *B. napus* に対しても寄生性に変動が見られた。また、*B. campestris* の各品種への接種により、レースの存在の可能性が示唆された。

ダイコン：*R. sativus* から分離したべと病菌は、*B. oleracea*, *B. napus* および *R. sativus* に寄生性を示したが、それらの寄生性には変動が見られた。

病原性の地理的な変動は認められず、ハクサイ、カブおよびダイコンべと病菌は、様々に変動した寄生性を持った菌株が、補完的に寄生性の広がりを持っている集まりなのではないかと考えられた。

また、アブラナ科べと病菌に特異的なプローブを作成し、べと病菌の DNA を制限酵素 *Bgl* II, *Mlu* I または *BstE* II 処理してハイブリダイゼーションを行うと、ブロッコリーべと病菌、カブべと病菌およびダイコンべと病菌の 3 系統のべと病菌に RFLP が認められた。したがって、寄生性の分化が、遺伝子レベルにおいても確認された。

第 IX 章 . 引用文献

1. Abd-Elrazik, A. A. and Lorbeer, J. W. (1980). A procedure for isolation and maintenance of *Peronospora destructor* on onion. *Phytopathology* 70:780-782.
2. 我孫子和雄 (1988). その他のアブラナ科野菜べと病. 作物病害事典 (岸國平ほか編). 全国農村教育協会. 東京 p.385.
3. Achar, P. N. (1995). Tissue culture technique to determine the viability of *Peronospora parasitica* in *Brassica oleracea*. *J. Phytopathol.* 143:647-649.
4. 明智洸一郎 (1983). キュウリおよびブドウべと病菌遊走子のうの凍結保存. 日植病報 49:99.
5. Alahakoon, W. P., Brown, A. E. and Sreenivasaprasad, S. (1994). Genetic characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates obtained from mango. *Internat. J. Pest Manag.* 40:225-229.
6. 青葉高 (1988). 園芸植物大事典 1 (塚本洋太郎ほか編). 小学館. 東京 pp.485-499.
7. Asada, Y. and Ohguchi, T. (1981). Behavior of downy mildew fungus of Japanese radish on modified Knop's medium. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 47:71-74.
8. Bains, S. S. and Jhooty, J. S. (1983). Host range and morphology of *Peronospora parasitica* from different sources. *Indian J. Mycol. Pl. Pathol.* 13:372-375.
9. Bhat, S. S. and Gowda, P. S. B. (1985). An efficient method for culturing downy mildew fungi on host callus. *Trans. Br. mycol. Soc.* 84:161-162.
10. Bridge, P. D., Hopkinson, L. A. and Rutherford, M. A. (1995). Rapid mitochondrial probes for analysis of polymorphisms in *Fusarium oxysporum* special forms. *Letters in Appl. Microbiol.* 21:198-201.
11. Bromfield, K. R. and Schmitt, C. G. (1967). Cryogenic storage of conidia of

- Peronospora tabacina*. Phytopathology 57:1133.
12. Carder, J. H. and Barbara, D. J. (1991). Molecular variation and restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) within and between six species of *Verticillium*. Mycol. Res. 95:935-942.
 13. Chang, I. H., Shih, N. L. and Chiu, W. F. (1964). A preliminary study on the physiological differentiation of the downy mildews (*Peronospora parasitica* (Pers.) Fr.) of Chinese cabbage and other cruciferous vegetables in the vicinity of Peking and Tientsin. Acta Phytopathol. Sin. 7:33-44.
 14. Channon, A. G. (1981). Downy mildew of Brassicas. In The downy mildews. (Spencer, D. M. et al. eds.) Academic Press, London, pp.321-339.
 15. Chen, W., Hoy, J. W. and Schneider, R. W. (1992). Species-specific polymorphisms in transcribed ribosomal DNA of five *Pythium* species. Experiment. Mycol. 16:22-34.
 16. Christiansen, S. K. and Giese, H. (1990). Genetic analysis of the obligate parasitic barley powdery mildew fungus based on RFLP and virulence loci. Theor. Appl. Genet. 79:705-712.
 17. Cohen, Y. and Eyal, H. (1984). Infectivity of conidia *Peronospora hyoscyami* after storage on tobacco leaves. Plant Dis. 68:688-690.
 18. Dahmen, H., Staub, Th., and Schwinn, F. J. (1983). Technique for long-term preservation of phytopathogenic fungi in liquid nitrogen. Phytopathology 73:241-246.
 19. de Bruyn, H. L. G. (1935). Heterothallism in *Peronospora parasitica*. Phytopathology 25:8.
 20. Dickinson, C. H. and Greenhalgh, J. R. (1977). Host range and taxonomy of *Peronospora* on crucifers. Trans. Br. mycol. Soc. 69:111-116.
 21. Doyle, J. J. and Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15.
 22. Dzhanzhakov, A. (1962). Specialization and variability of certain *Peronospora*

- fungi. Bot. Zh. USSR 47:862-867.
23. Fabre, J. V., Julien, J, Parisot, D. and Dron, M. (1995). Analysis of diverse isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* infecting common bean using molecular markers. Mycol. Res. 99:429-435.
24. Förster, H., Kinscherf, T. G., Leong, S. A. and Maxwell, D. P. (1988). Estimation of relatedness between *Phytophthora* species analysis of mitochondrial DNA. Mycologia 80:466-478.
25. Föster, H., Oudemans, P. and Coffey, M. D. (1990). Mitochondrial and nuclear DNA diversity within six species of *Phytophthora*. Experiment. Mycol. 14:18-31.
26. Gäumann, E. (1926). Über die Spezialisierung des falsechen Mehltaus (*Peronospora brassicae* Gm.) auf dem Kohl und seinen Verwandten. Landw. Jbr. der Schweiz. 40:463-468.
27. Glushchenko, V. I. (1980). The seed transmission downy mildew of onion. Zashchita Rastenii 8:31.
28. Goodwin, P. H., Enlish, J. T., Neher, D. A., Duniway, J. M. and Kirkpatrick, B. C. (1990). Detection of *Phytophthora parasitica* from soil and host tissue with a species-specific DNA probe. Phytopathology 80:277-281.
29. Goodwin, P. H., Kirkpatrick, B. C. and Duniway, J. M. (1989). Cloned DNA probes for identification of *Phytophthora parasitica*. Phytopathology 79:716-721.
30. Goodwin, P. H., Kirkpatrick, B. C. and Duniway, J. M. (1990). Identification of *Phytophthora citrophthora* with cloned DNA probes. Appl. Environ. Microbiol. 56:669-674.
31. Gram, E. and Rostrup, S. (1924). Oversigt over Sygdomme hos Landbrugets og Havebrugets Kulturplanter i 1923. Rev. Appl. Mycol. 3:506-507.
32. Grøntoft, M. (1993). A rapid screening method for testing the resistance of cotyledons to downy mildew in *Brassica napus* and *B. campestris*. Plant

- Breed. 100:207-211.
33. Gulya, T. J., Masirevic, S. and Thomas, C. E. (1993). Preservation of air-dried downy mildew sporangia in liquid nitrogen without cryoprotectants or controlled freezing. *Mycol. Res.* 97:240-244.
 34. 萩原廣 (1988). ダイコンべと病. 作物病害事典 (岸國平ほか編). 全国農村教育協会. 東京 p.362.
 35. 浜屋悦次 (1987). 植物病原糸状菌微生物の長期保存法 - 農林水産関連 - (農林水産省農林水産技術会議事務局・農業環境技術研究所編). 農林水産技術会議事務局・農業環境技術研究所. 東京 pp.117-135.
 36. 濱屋悦次 (1989). 植物病原菌の保存. 凍結及び乾燥研究会会誌 35:62-65.
 37. Henson, J. M. (1989). DNA probe for identification of the take-all fungus, *Gaeumannomyces graminis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:284-288.
 38. Hill, A. V. (1962). Longevity of conidia of *Peronospora tabacina* Adam. *Nature* 195:828.
 39. Hill, C. B. and Williams, P. H. (1983). Evaluation of rapid-cycling crucifers for resistance to selected pathogens. *Phytopathology* 73:817.
 40. Hiura, M. and Kanegae, H. (1934). Studies on the downy mildews of cruciferous vegetables in Japan 1. *Trans. Sapporo Nat. Hist. Soc.* 13:125-133.
 41. 本間宏基・飯嶋宏幸 (1993). キャベツに対するブロッコリー及びハボタンのべと病菌の感染と発病に関する接種試験. 関東東山病虫研報 40:77-80.
 42. Hulbert, S. H., Ilott, T. W., Legg, E. J., Lincoln, S. E., Lander, E. S. and Michelmore, R. W. (1988). Genetic analysis of the fungus, *Bremia lactucae*, using restriction fragment length polymorphisms. *Genetics* 120:947-958.
 43. Hulbert, S. H. and Michelmore, R. W. (1987). DNA restriction fragment length polymorphism and somatic variation in the lettuce downy mildew

- fungus, *Bremia lactucae*. Mol. Plant Microbe Interact. 1:17-24.
44. Inaba, T., Takahashi, K. and Morinaka, T. (1983). Seed transmission of spinach downy mildew. Plant Dis. 67:1139-1141.
45. Jang, P. and Safeeulla, K. M. (1990). Seedborne nature of *Peronospora parasitica* in *Raphanus sativus*. Proc. Indian Acad. Sci. 100:255-258.
46. Jang, P. and Safeeulla, K. M. (1990). Modes of entry, establishment and seed transmission of *Peronospora parasitica* in radish. Proc. Indian Acad. Sci. 100:369-373.
47. Jones, W. (1944). Downy mildew disease of cauliflower seed plants. Rev. Appl. Mycol. 23: 247.
48. 梶原敏宏 (1988). ナタネベと病. 作物病害事典 (岸國平ほか編). 全国農村教育協会. 東京 p.215.
49. Kim, D. H., Martyn, R. D. and Magill, C. W. (1992). Restriction fragment length polymorphism groups and physical map of mitochondrial DNA from *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. Phytopathology 82:346-353.
50. 木曾皓・田代定良 (1988). キャベツベと病. 作物病害事典 (岸國平ほか編). 全国農村教育協会. 東京 p.372.
51. Kluczewski, S. M. and Lucas, J. A. (1983). Host infection and oospore formation by *Peronospora parasitica* in agricultural *Brassica* species. Trans. Br. mycol. Soc. 81:591-596.
52. Koch, E., Song, K., Osborn, T. C. and Williams, P. H. (1991). Relationship between pathogenicity and phylogeny based on restriction fragment length polymorphism in *Leptosphaeria maculans*. Mol. Plant Microbe Interact. 4:341-349.
53. Kohn, L. M., Petsche, D. M., Bailey, S. R., Novak, L. A. and Anderson, J. B. (1988). Restriction fragment length polymorphisms in nuclear and mitochondrial DNA of *Sclerotinia* species. Phytopathology 78:1047-1051.
54. Kolmer, J. A., Liu, J. Q. and Sies, M. (1995). Virulence and molecular

- polymorphism in *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in Canada. *Phytopathology* 85:276-285.
55. Kontaxis, D. G. and Guerrero, P. (1978). Downy mildew Epiphytotic on broccoli -A new disease in imperial valley, California. *Plant Dis. Repr.* 62:170-171.
56. LeBeau, F. J. (1945). Systemic invasion of cabbage seedlings by the downy mildew fungus. *J. Agric. Res.* 71:453-463.
57. Lee, S. B., White, T. J. and Taylor, J. W. (1993). Detection of *Phytophthora* species by oligonucleotide hybridization to amplified ribosomal DNA spacers. *Phytopathology* 83:177-181.
58. Lévesque, C. A. Vrain, T. C. and De Boer, S. H. (1994). Development of species-specific probe for *Pythium ultimum* using amplified ribosomal DNA. *Phytopathology* 84:474-478.
59. Lucas, J. A., Crute, I. R., Sherriff, C. and Gordon, P. L. (1988). The identification of a gene for race-specific resistance to *Peronospora parasitica* (downy mildew) in *Brassica napus* var. *oleifera* (oilseed rape). *Plant Pathol.* 37:538-545.
60. Lucas, J. A., Hayter, B. R. and Crute, I. R. (1995). The downy mildews: host specificity and pathogenesis. *In* Pathogenesis and host specificity in plant diseases. histopathological, biochemical, genetic and molecular bases. Volume II : Eukaryotes. (Singh, U. S. *et al eds.*) Elsevier Science Ltd. Oxford pp.217-238.
61. Manicom, B. Q., Bar-Joseph, M., Kotze, J. M. and Becker, M. M. (1990). A restriction fragment length polymorphism probe relating vegetative compatibility groups and pathogenicity in *Fusarium oxisporum* f. sp. *dianthi*. *Phytopathology* 80:336-339.
62. Martin, F. N. (1991). Selection of DNA probes useful for isolate identification of two *Pythium* spp. *Phytopathology* 81:742-746.

63. McDonald, B. A. and Martinez, J. P. (1990). DNA restriction fragment length polymorphisms among *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) isolates collected from a single wheat field. *Phytopathology* 80:1368-1373.
64. McMeekin, D. (1960). The role of the oospores of *Peronospora parasitica* in downy mildew of crucifers. *Phytopathology* 50:93-97.
65. McMeekin, D. (1969). Other hosts for *Peronospora parasitica* from cabbage and radish. *Phytopathology* 59:693-696.
66. McMeekin, D. (1971). Measuring systemic infection of crucifers by downy mildew. *Plant Dis. Rptr.* 55:877-878.
67. Mehta, N. and Saharan, G. S. (1994). Morphological and pathological variations in *Peronospora parasitica* infecting *Brassica* species. *Indian Phytopathol.* 47:153-158.
68. Michelmore, R. W. Iltott, T., Hulbert, S. H. and Farrara, B. (1988). The downy mildews. *In Advances in plant pathology. Volume 6. Genetics of plant pathogenic fungi. (Ingram, D. S. et al eds.) Academic Press, London pp.53-79.*
69. Moss, N. A., Crute, I. R. and Lucas, J. A. (1994). Laboratory production of oospores of *Peronospora parasitica* (crucifer downy mildew) and the recovery and characterization of sexual progeny from crosses between isolates with different host specificity. *Plant Pathol.* 43:713-725.
70. Moss, N. A. and Lucas, J. A. (1991). Sources of seedling resistance to *Peronospora parasitica* (downy mildew) in *Brassica oleracea*. *Ann. Appl. Biol.* 118(Supplement):94-95.
71. Moss, N. A. and Lucas, J. A. (1991). Response of oilseed rape (*Brassica napus*) cultivars to infection by *Peronospora parasitica* (downy mildew) at the seedling stage. *Ann. Appl. Biol.* 118(Suppliment):98-99.
72. Mouyna, I, Renard, J. L. and Brygoo, Y. (1996). DNA polymorphism among *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* populations from oil palm, using a

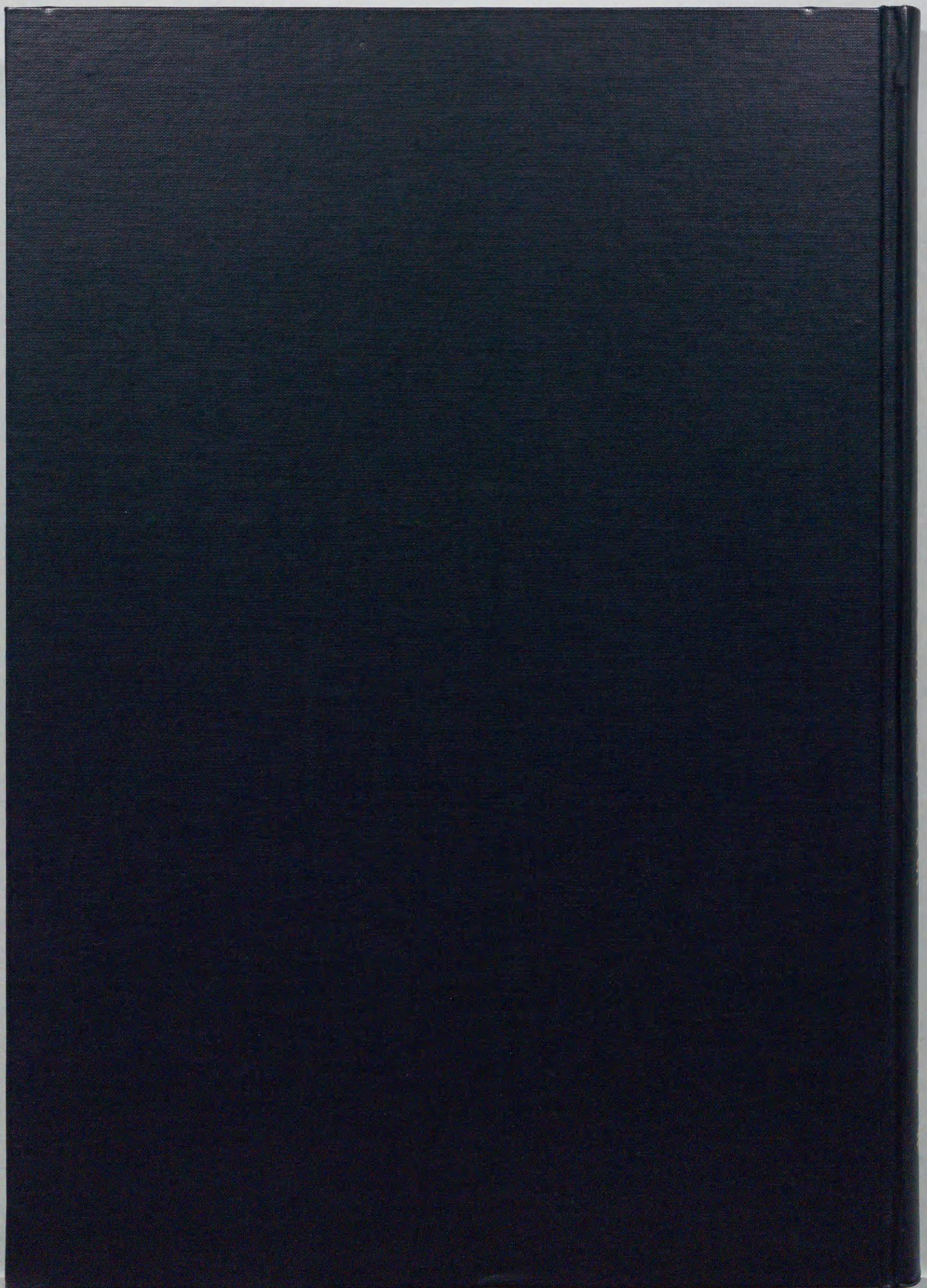
- repeated and dispersed sequence "Palm". *Curr. Genet.* 30:174-780.
73. 中村広明 (1964). アブラナ科植物べと病菌の寄生性について. *日植病報* 29:64.
74. 中田覚五郎 (1965). 改訂・最新作物病害図編 (吉井甫ら改訂). 養賢堂. 東京 pp.285-287.
75. Nashaat, N. I. and Awasthi, R. P. (1995). Evidence for differential resistance to *Peronospora parasitica* (downy mildew) in accessions of *Brassica juncea* (mustard) at the cotyledon stage. *J. Phytopathol.* 143:157-159.
76. Natti, J. J. (1958). Resistance of broccoli and other crucifers to downy mildew. *Plant Dis. Rptr.* 42:656-662.
77. Natti, J. J., Dickson, M. H. and Atkin, J. D. (1967). Resistance of *Brassica oleracea* varieties to downy mildew. *Phytopathology* 57:144-147.
78. 日本植物病理学会 (1993). 日本有用植物病名目録 第2巻 (野菜および草花) 第3版. 東京.
79. 農林水産省経済局統計情報部 (1998). 平成8年産 野菜生産出荷統計. 農林統計協会. 東京.
80. O'dell, M., Wolfe, M. S., Flavell, R. B., Simpson, C. G. and Summers, R. W. (1989). Molecular variation in populations of *Erysiphe graminis* on barley, oats and rye. *Plant Pathol.* 38:340-351.
81. Ohguchi, T. and Asada, Y. (1981). Oospore formation of Japanese radish downy mildew fungus. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.* 47:75-77.
82. 大口富三・浅田泰次 (1989). 種々の培地上でのダイコンべと病菌の挙動 I. 分生子からの培養. *愛媛大学農学部紀要* 33:189-200.
83. 大口富三・浅田泰次 (1989). 種々の培地上でのダイコンべと病菌の挙動 II. 罹病組織からの培養. *愛媛大学農学部紀要* 33:201-211.
84. 大口富三・永松昌二・浅田泰次 (1990). ダイコンべと病菌のレース. *愛媛大学農学部紀要* 34:349-363.
85. Ohguchi, T., Nagao, Y. and Yoshida, K. (1991). Massive hypha formation of

- downy mildew fungus on Japanese radish. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.
57:702-705.
86. 大口富三・吉田克志・Mohd. Yunus Ismail・浅田泰次 (1989). ダイコン
幼苗の子葉および本葉を用いたべと病菌の室内増殖法. 日植病報
55:561-566.
87. 大畑貫一 (1995). 作物病原菌研究技法の基礎 - 分離・培養・接種 -
(大畑貫一・荒木隆男・木曾皓・工藤晟・高橋廣治編). 日本植物
防疫協会. 東京 pp. 1-22.
88. 大井美知男 (1988). 園芸植物大事典 3 (塚本洋太郎ほか編). 小学
館. 東京 pp.560-563.
89. 大久保博人 (1995). 糸状菌・酵母の保存. 植物病理学事典 (日本植
物病理学会編). 養賢堂. 東京. pp.947-949.
90. Okoli, C. A. N., Carder, J. H. and Barbara, D. J. (1994). Restriction fragment
length polymorphisms (RFLPs) and the relationships of some host-adapted
isolates of *Verticillium dahliae*. Plant Pathol. 43:33-40.
91. Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. (1989). Molecular Cloning.
A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
92. Satou, M. and Fukumoto, F. (1993). Preservation of conidia of broccoli downy
mildew fungus with cryogenic protectants by freezing at -80 °C. Ann.
Phytopathol. Soc. Jpn. 59:492-499.
93. 佐藤衛・福本文良 (1995). カイランべと病 (新称). 関西病虫研
報 37:37-38.
94. Satou, M. and Fukumoto, F. (1996). The host range of downy mildew,
Peronospora parasitica, from *Brassica oleracea*, cabbage and broccoli crops.
Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 62:393-396.
95. Satou, M. and Fukumoto, F. (1996). The host range of downy mildew,
Peronospora parasitica, from *Brassica campestris*, Chinese cabbage and turnip
crops and *Raphanus sativus*, Japanese radish crop. Ann. Phytopathol. Soc.

- Jpn. 62:402-407.
96. 佐藤衛・萩原康彰・石井正義・福本文良 (1991). ブロッコリーべと病 (新称). 関西病虫研報 33:67-68.
 97. 佐藤衛・堀内誠三 (1999). カリフラワーのべと病 (新称). 日植病報. 65:639-642.
 98. 佐藤衛・堀内誠三・山内智史 (1999). タアサイべと病 (新称). 北日本病虫研報 50:62-64.
 99. 佐藤衛・寺見文宏・福本文良 (1997). アブラナ科べと病菌に特異的なプローブの探索. 日植病報. 63:207-208.
 100. Satou, M., Terami, F., Fukumoto, F. and Horiuchi, S. (1998). A DNA probe for differentiating three strains of *Peronospora parasitica*. 7th International Congress of Plant Pathology, Abstracts of invited & offered papers, 3.3.2.
 101. Sherriff, C. and Lucas, J. A. (1989). Cytogenetic study of heterothallic and homothallic isolates of *Peronospora parasitica*. Mycol. Res. 92:302-310.
 102. Sherriff, C. and Lucas, J. A. (1989). Heterothallism and homothallism in *Peronospora parasitica*. Mycol. Res. 92:311-316.
 103. Sherriff, C. and Lucas, J. A. (1990). The host range of downy mildew, *Peronospora parasitica*, from *Brassica* crop species. Plant Pathol. 39:77-91.
 104. 清水寛二 (1988). カブべと病. 作物病害事典 (岸國平ほか編). 全国農村教育協会. 東京 pp.379-380.
 105. Silué, D., Nashaat, N. I. and Tirilly, Y. (1996). Differential responses of *Brassica oleracea* and *B. rapa* accessions to seven isolates of *Peronospora parasitica* at the cotyledon stage. Plant Dis. 80:142-144.
 106. 高野泰吉 (1988). 園芸植物大事典 3 (塚本洋太郎ほか編). 小学館. 東京 pp.126-129.
 107. 竹内昭士郎 (1998). その他のアブラナ科類べと病. 日本植物病害大事典 (岸國平編), 全国農村教育協会. 東京 p.365.
 108. 竹内昭士郎 (1988). ハクサイべと病. 作物病害事典 (岸國平ほか

- 編) . 全国農村教育協会 . 東京 p.368.
109. Tanabe, K., Tsuge, T. and Nishimura, S. (1989). Potential application of DNA restriction fragment length polymorphisms to the ecological studies of *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 55:361-365.
110. 田中正武 (1988). 園芸植物大事典 2 (塚本洋太郎ほか編). 小学館 . 東京 pp.63-66.
111. Tetsuka, Y. and Katsuya, K. (1983). Storage of sporangia of hop and vine downy mildews in liquid nitrogen. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 49:731-735.
112. Tham, F. Y., Lucas, J. A. and Wilson, Z. A. (1994). DNA fingerprinting of *Peronospora parasitica*, a biotrophic fungal pathogen of crucifers. *Theor. Appl. Genet.* 88:490-496.
113. Thomas, C. E. and Jourdain, E. L. (1990). Evaluation of broccoli and cauliflower germplasm for resistance to race 2 of *Peronospora parasitica*. *Hortscience* 25:1429-1431.
114. Thomas, C. E. and Jourdain, E. L. (1992). Resistance to race 2 of *Peronospora parasitica* in U.S. plant introductions of *Brassica oleracea* var. *capitata*. *Hortscience* 27:1120-1122.
115. 土屋行夫 (1987). 植物病原細菌・糸状菌の保存法 . 植物防疫 . 41:239-242.
116. 柘植尚志・草場基章・足立嘉彦 (1992). 植物病原糸状菌の RFLP . 植物防疫 . 46:315-319.
117. 柘植尚志・草場基章・足立嘉彦 (1993). *Alternaria* 属菌の RFLP 解析 . 平成 5 年度感染生理談話会講演集 - 分子植物病理学最新の進歩 - . 日本植物病理学会 pp.123-133.
118. 梅原吉広・田村実 (1962). *Peronospora brassicae* の卵胞子について . 日植病報 27:68.
119. van der Vlugt-Bergmans, C. J. B., Brandwagt, B. F., Van't Klooster, J. W.,

- Wagemakers, C. A. M. and Van Kan, J. A. L. (1993). Genetic variation and segregation of DNA polymorphisms in *Botrytis cinerea*. Mycol. Res. 97:1193-1200.
120. Viégas, A. P. and Teixeira, A. R. (1945). Alguns fungos do Brasil (Phycomycetos). Rev. Appl. Mycol. 24:207
121. Vishunavat, K. and Kolte, S. J. (1993). *Brassica* seed infection with *Peronospora parasitica* (Pers. ex Fr.) Fr. and its transmission through seed. Indian J. Mycol. Plant Pathol. 23:247-249.
122. 渡辺格・杉浦昌弘 (1989). クローニングとシークエンス - 植物バイオテクノロジー実験マニュアル - . 農村文化社 . 東京 .
123. Yao, C. L., Frederiksen, R. A. and Magill, C. W. (1990). Seed transmission of sorghum downy mildew: detection by DNA hybridisation. Seed Sci. & Technol. 18:201-207.
124. 横山竜夫 (1978). 菌類図鑑 (上) (宇田川俊一ほか編) . 講談社 . 東京 pp. 252-253.
125. Yuen, J., E. (1991). Resistance to *Peronospora parasitica* in Chinese cabbage. Plant Dis. 75:10-13.
126. Yuen, J. E., and Lorbeer, J. W. (1981). Maintaining *Bremia lactucae* on washed seedlings of *Lactuca sativa* in deep petri dishes. Phytopathology 71:1232-1234.
127. Zeller, K. A. and Levy, M. (1995). Intraspecies differentiation in the powdery mildew *Erysiphe cichoracearum* determined with rDNA RFLPs. Molcul. Ecol. 4:277-283.

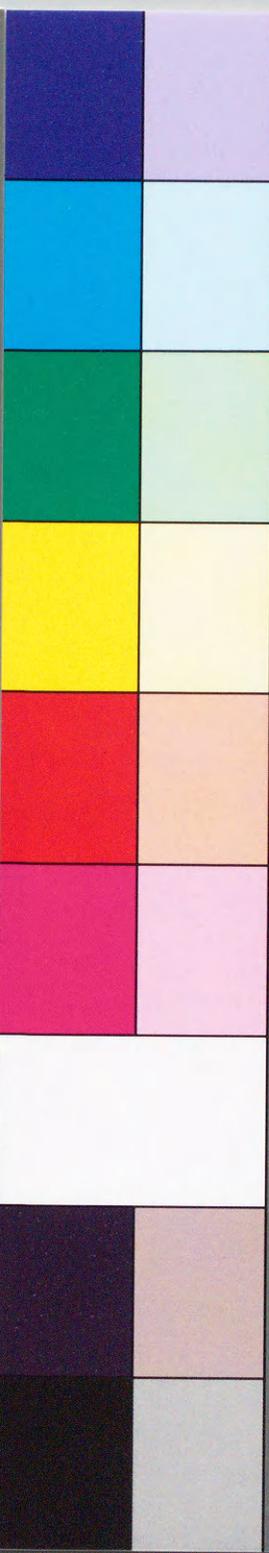


Inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

