

氏 名(本籍) さ 佐 と 藤 まもる 衛
学位の種類 博 士 (農 学)
学位記番号 農 第 6 2 6 号
学位授与年月日 平 成 12 年 9 月 14 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当

学位論文題目 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

論文審査委員 (主 査) 教 授 羽 柴 輝 良
教 授 金 濱 耕 基
教 授 江 原 淑 夫

論文内容要旨

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

序論

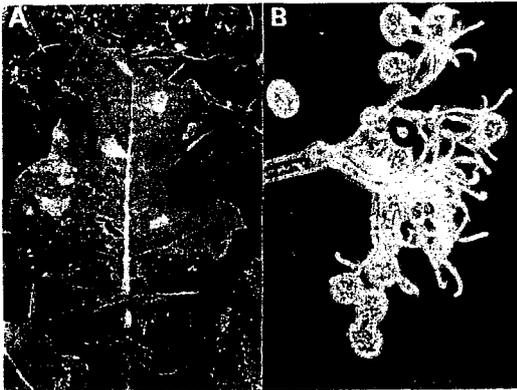
アブラナ科野菜のべと病は、全国的に発生する重要病害の一つである。べと病の病原菌 *Peronospora parasitica* は純寄生菌であり、人工培養できないことから、生態については明らかにされていない点が多い。現在までに、各国でアブラナ科べと病菌の寄生性の分化の研究も行われているが、研究ごとに菌株の寄生性の異なることが多い。その一因として、単孢子分離菌株が試験に供されていなかった点が考えられる。また、菌株の保存技術が確立していなかったため、過去に行われた試験を追試する事も困難である。本研究では、様々なアブラナ科に発生するべと病について、寄生性の分化の基礎資料を得るため、発病に関与する諸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研究を行った。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について研究した。

I. 新たに発見したアブラナ科野菜のべと病

我が国で、*P. parasitica* によるアブラナ科野菜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で報告があった。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いる。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り、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した。その結果、ブロッコリー、カリフラワー、カイランおよびタアサイ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 (第1図)、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 (第1表)。

II. べと病菌の分離および人工接種法による増殖

アブラナ科植物に寄生するべ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



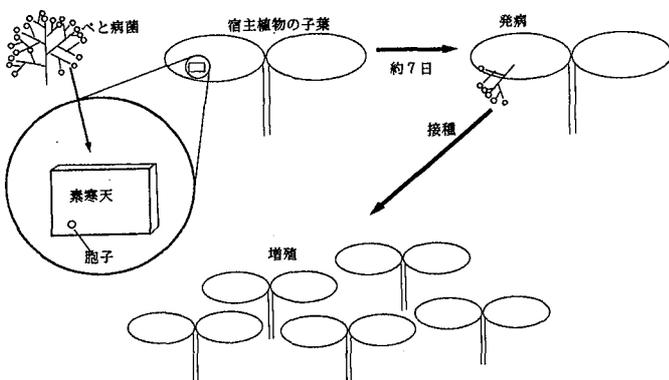
第1図 ブロッコリーべと病の病徴および病原菌
(A) 病徴, (B) 分生子および分生子柄

第1表 各べと病菌の形態

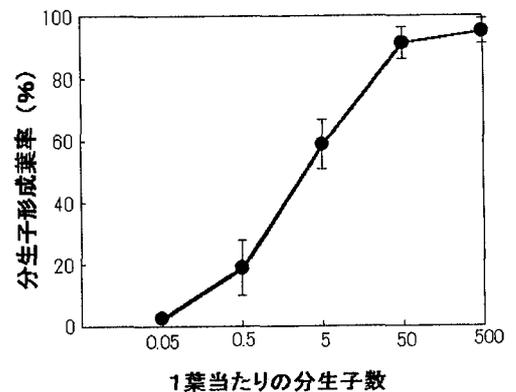
宿主植物	分生子柄	分生子		
		色	形	大きさ (μm)
ブロッコリー	数回叉状分岐	無色	円~卵~楕円	21~29×17~24
カリフラワー	数回叉状分岐	無色	円~卵~楕円	18~26×16~23
カイラン	数回叉状分岐	無色	円~卵~楕円	20~29×19~25
タアサイ	数回叉状分岐	無色	円~卵~楕円	16~24×18~30
キャベツ	4~8回叉状分岐	無色	楕円	22~30×22~28
ハクサイ	4~8回叉状分岐	無色	卵 or 広楕円	15~30×14~24

が、アブラナ科植物べと病菌においては、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った。

第2図に示した単孢子分離方法を確立し、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ことを明らかにした。また、温室に保ち 20 °C 付近で培養することが、べと病菌の最適発病環境であることを明らかにした。また、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、1 葉あたりでは分生子数 50 個以上必要であることを明らかにした (第3図)。



第2図 べと病菌の単孢子分離および単孢子接種法の概念図



第3図 分生子数と発病との関係

III. ベと病菌菌株の長期保存方法の確立

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。これらの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。

その結果、-20℃では3か月後にはすべての処理区において分生子の発芽はほとんど見られなかった(第2表)が、10%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルクまたは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℃で保存を行ったものでは、12ヶ月後においても病原性が認められ、また発芽も高く維持されていた(第3表)。

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、保存する際の労力も、分生子懸濁液を分散媒と混合するのみであること、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こと等から、最も簡便であると考えられた。この保存方法は、ブロッコリーべと病菌だけでなく、他の *P. parasitica* の病原体であるキャベツべと病菌、ハクサイべと病菌、カブべと病菌およびダイコンべと病菌の他、多くのアブラナ科べと病菌に対しても適用できた。

第2表 -20℃に保存後のブロッコリーべと病菌の発芽

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とした補正值

第3表 -20℃で24時間処理後-80℃に保存後のブロッコリーべ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
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℃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)

第4表 *Brassica oleracea* に属する植物からのべと病菌の病原性

接種植物				べと病菌の単胞子分離菌株																		
ゲノム	学名	作物名	品種名	キャベツべと病菌					ブロッコリーべと病菌					カリフラワーべと病菌	カイランべと病菌							
				CPP5		CPP6		CPP7		BPP1		BPP2		BPP3		CaPI	OAPI					
				a	b	c	d	e	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e	a	a		
A	<i>B. campestris</i> (Chinensis group)	タイサイ	雪白体菜	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	<i>B. campestris</i> (Japonica group)	キョウナ	白茎干筋京水菜	0	0	0	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	2	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	2	2	0	1	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	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	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	2	0	0	0
	<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	早生金町	0	0	1	0	1	2	0	0	1	2	0	0	0	1	3	0	0	1	1
C	<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	野崎早生	4	4	4	4	4	4	3	3	2	2	0	4	4	3	4	3	3	2	3
	<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	4	4	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	2	3	2	3	3	2	3	4	4	3	2
	<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	4
	<i>B. oleracea</i> (Italica group)	ブロッコリー	晩嶺	4	4	4	4	4	4	3	3	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
AB	<i>B. juncea</i> (Cernua group)	ブラシナ	葉からし菜	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AC	<i>B. napus</i> (Napobrassica group)	ルタバガ	グリーントップ	3	0	0	0	3	3	1	2	3	2	2	2	0	3	2	3	2	2	2
R	<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	官重	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

a)小文字アルファベット1字は単胞子分離菌株1菌株に相当。

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

IV. べと病菌の寄生性分化

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。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年に行われているにすぎない。これらの報告では、単胞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胞子分離菌株を用いて、寄生性の調査を行った。単胞子分離したべ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した。

キャベツをはじめとする *B. oleracea* から分離したべと病菌は、特異的に *B. oleracea* に寄生性を示し、きわめて均一に近い1系統に属していた。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(第4表)。 *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(第5表)。

第5表 キャベツおよびブロッコリーべと病菌の品種に対する病原性

接種植物		べと病菌の単胞子分離菌株							
作物名	品種名	キャベツべと病菌		ブロッコリーべと病菌		BPP3			
		CPP5	CPP6	BPP1	BPP2				
		d	e	a	b	a	c	b	d
カリフラワー	あきづき	4	4	4	4	4	4	4	4
カリフラワー	フライダル	4	4	4	4	4	4	4	4
カリフラワー	ア-リスノー-ボール A	3	3	4	4	3	4	4	3
カリフラワー	野崎早生	4	4	3	3	4	3	3	3
カリフラワー	スノーボール	4	4	4	4	4	4	4	4
カリフラワー	スノークラウン	4	4	3	3	2	3	3	3
キャベツ	デライトボール	4	4	4	4	4	4	4	4
キャベツ	ゴールデンベスト	0	0	0	0	0	0	0	0
キャベツ	黒葉サクセション	4	4	4	4	4	4	4	4
キャベツ	サボイキング	4	4	3	3	4	4	4	4
キャベツ	四季穫	4	4	4	4	4	4	4	4
キャベツ	YRさわみどり	0	0	0	0	0	0	0	0
ブロッコリー	晩嶺	4	4	3	3	4	4	4	4
ブロッコリー	ドンコ	4	4	3	3	4	4	4	4
ブロッコリー	緑洋	4	4	3	3	3	4	4	4
ブロッコリー	深海	4	4	4	4	4	4	4	4
ブロッコリー	天雷	4	4	4	4	4	4	4	4
ブロッコリー	スリーセブン	4	4	4	4	4	4	4	4

a)小文字アルファベット1字は単胞子分離菌株1菌株に相当。

b)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

第6表 *Brassica campestris* に属する植物からのべと病菌の病原性

ゲノム	学名	作物名	品種名	べと病菌の単胞子分離菌株																																								
				ハクサイべと病菌								カブべと病菌					ダアサイべと病菌																											
				ChP3		ChP4		ChP5		ChP7		ChP8		TPP3	TPP4	TPP5	TPP6	TaP1																										
A	<i>B. campestris</i> (Chinensis group)	タイサイ	雪白体菜	2 ⁰ 1	2	2	1	2	1	2	3	0	2	2	0	2	1	3	2	1	0	0	2	0	0	2	2	1	2	0	3	3	3	4	3	4	2	3	2	2	0	3	0	
	<i>B. campestris</i> (Japonica group)	キョウナ	白茎干筋京水菜	2	0	2	3	3	3	0	0	3	3	3	4	4	4	4	4	3	3	4	4	4	3	4	2	2	2	2	3	4	4	4	3	4	3	4	3	3	3	1	3	
	<i>B. campestris</i> (Narinosa group)	アブラナ	新晩生油菜	0	2	2	2	2	3	0	0	0	0	2	0	0	4	4	3	4	2	3	4	4	3	3	2	4	4	0	3	4	0	0	2	2	2	0	0	3	0	3	2	1
	<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	3	3	4	4	4	3	3	3	3	3	3	4	4	4				
	<i>B. campestris</i> (Pekinensis group)	ハクサイ	野崎2号	3	4	4	3	2	3	3	2	3	4	2	3	3	3	3	3	3	2	3	4	3	3	3	2	4	4	4	4	3	4	4	4	3	4	0	4	3	4	4		
	<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	日の菜	3	4	3	4	3	3	3	4	3	3	4	4	3	3	4	4	4	4	3	4	4	4	4	3	4	4	3	4	3	4	4	3	4	4	3	2	4	4	4		
	<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	小松菜	3	4	3	4	3	2	4	2	4	3	3	4	3	2	3	3	3	3	3	4	4	2	3	3	3	4	3	4	3	4	3	4	4	4	3	4	4	3			
	<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	早生金町	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	2				
C	<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	1	2	2	1	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	スノーボール	3	3	4	3	0	1	0	2	0	3	2	2	2	1	2	3	1	0	0	2	0	1	0	3	3	2	2	1	0	3	4	4	3	2	1	2	0	0	0	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	2	0	2	0	0	1	0	1	0	2	1	0	1	0	2	1	0	1	0	0	1	2	0	0	1	3	1	2	2	1	0	1	0	1	0	
	<i>B. oleracea</i> (Capitata group)	キャベツ	四季穫	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	1	3	0	0	0	0	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>B. oleracea</i> (Italica group)	ブロッコリー	晩穫	1	1	1	2	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2	1	3	2	1	2	2	1	1	1	1	2	0	
AB	<i>B. juncea</i> (Cernua group)	カラシナ	葉からし菜	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	1	4	4	4
AC	<i>B. napus</i> (Napobrassica group)	ルタバガ	グリーントップ	3	4	4	3	3	0	3	0	3	2	2	2	3	0	2	2	0	0	3	3	3	3	3	3	3	4	3	2	3	4	4	3	4	2	2	3	3	2	3	2	3
R	<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	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a)小文字アルファベット1字は単胞子分離菌株1菌株に相当, b)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

ハクサイをはじめとする *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。しかし, いくつかの単胞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, *B. juncea*, *B. oleracea* および *B. napus* に対しても寄生性に変動が見られた (第6表)。また, *B. campestris* の各品種への接種により, レースの存在が示唆された (第7表)。

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, それらの寄生性に変動が見られた (第8表)。

病原性の地理的な変動は認められないが, ハクサイ, カブ, タアサイおよびダイコンべと病菌は様々な寄生性を持った菌株の集まり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ったところ, 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系統のべと病菌に制限酵素断片長多型が認められた (第4図)。

第7表 ハクサイべと病菌の品種に対する病原性

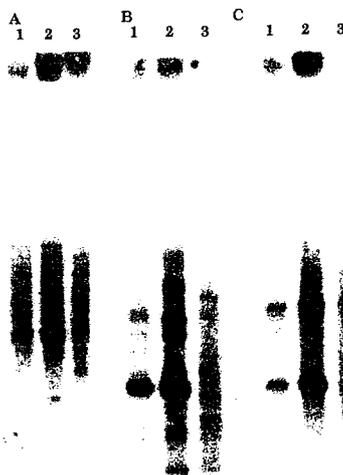
接種植物	品種名	べと病菌の単胞子分離菌株										
		ハクサイべと病菌						カブべと病菌				
		ChP3	ChP4	ChP5	ChP7	ChP8	TPP4	TPP5	TPP6			
ハクサイ	チーフ	4 ⁰ 4	3	4	4	4	4	3	4	4	4	4
ハクサイ	冬峠	1	3	1	1	3	4	1	3	3	4	4
ハクサイ	初風	0	1	1	1	1	1	1	1	4	4	3
ハクサイ	花心	4	4	4	3	3	3	4	3	4	4	3
ハクサイ	徳滝	2	0	0	0	1	0	3	0	2	3	4
ハクサイ	京都3号	3	4	2	2	3	2	2	4	3	4	4
ハクサイ	松島新2号	3	2	2	4	4	1	3	2	4	3	4
ハクサイ	野崎2号	4	3	3	3	3	3	2	3	3	4	4
ハクサイ	山東菜	4	4	3	4	2	4	3	4	3	4	4
カブ	日の菜	3	4	3	3	3	4	4	4	4	4	3
カブ	次年子	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
カブ	小松菜	3	4	2	4	3	3	3	4	4	3	4
カブ	野沢菜	3	2	0	2	3	2	4	0	3	3	4
カブ	耐病ひかり	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
カブ	天王寺	3	3	3	3	3	4	3	4	3	4	4
カブ	時無	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4
カブ	寄居	4	4	3	3	4	4	3	4	3	4	4
カブ	早生金町	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

a)小文字アルファベット1字は単胞子分離菌株1菌株に相当, b)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

第8表 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

ゲノム	接種植物		ダイコンベと病菌の単胞子分離菌株					
	学名	作物名	品種名	RPP1 a ^b c	RPP2 a d	RPP3 a b	RPP4 a b c d e	
A	<i>B. campestris</i> (Chinensis group)	タイサイ	雪白体菜	0 ⁰ 0	0 0	0 0	0 0 0 0 0	
	<i>B. campestris</i> (Japonica group)	キョウナ	白茎千筋京水菜	0 0	0 0	0 0	0 0 0 0 0	
	<i>B. campestris</i> (Narinososa group)	アブラナ	新晩生油菜	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	
	<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	
	<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	日の菜	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	
	<i>B. campestris</i> (Rapifera group)	カブ	早生金町	0 0	0 0	0 0	0 0 0 0 0	
	C	<i>B. oleracea</i> (Botrytis group)	カリフラワー	野崎早生	2 2	2 2	3 1	2 3 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 0 3 3
<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	2 2 0 1 1	
<i>B. oleracea</i> (Capitata group)		キャベツ	四季穫	3 1	3 3	3 1	3 3 3 2 2	
<i>B. oleracea</i> (Italica group)		ブロッコリー	晩嶺	0 0	1 0	1 0	2 0 0 1 1	
AB	<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	
AC	<i>B. napus</i> (Napobrassica group)	ルタバガ	グリーントップ	1 2	1 2	1 0	2 2 0 0 0	
R	<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	宮重	2 2	3 2	3 3	3 2 2 1 1	
	<i>R. sativus</i> (Daikon group)	ダイコン	練馬	2 0	3 2	2 4	3 2 1 2 2	

a)小文字アルファベット1字は単胞子分離菌株1菌株に相当。
 b)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: 分生子形成率 20%未満, 3: 分生子形成率 20%以上 50%未満, 4: 分生子形成率 50%以上



第4図 ベと病菌特異的プローブ(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*EII 処理
 レン1:ブロッコリーベと病菌株, レン2:カブベと病菌株,
 レン3:ダイコンベと病菌株。

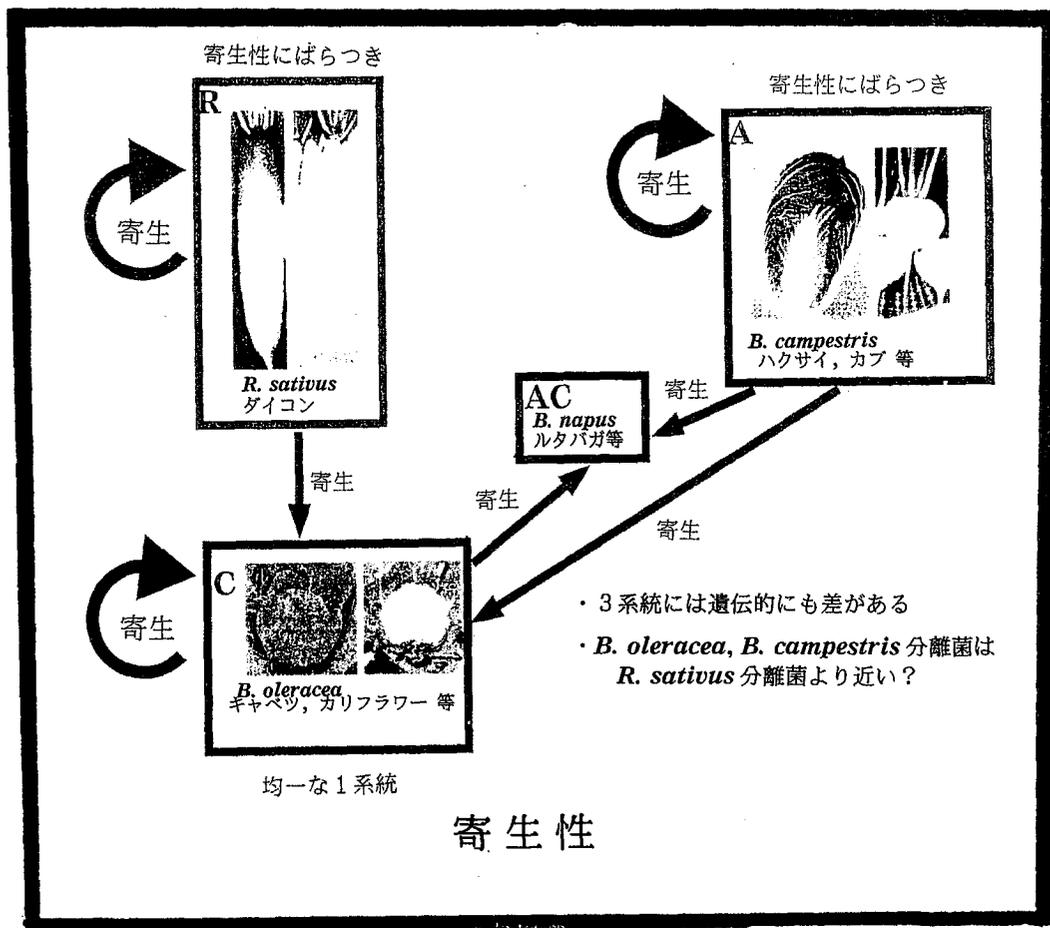
まとめ

本研究では, *Peronospora parasitica* によるアブラナ科植物に発生するべと病の寄生性の調査を目的とし, 試験を行った. その結果, ①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, タアサイべと病を発見し, 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, これまで報告のあるアブラナ科のべと病菌の形態とほぼ同じであり, 外見からは寄主植物を特定することは困難であった. ②これらべと病を引き起こす病原菌は, 純寄生菌でありながら, 純系統として取り扱うことのできる単胞子分離が可能となった. また, 各菌株とも約 20 °C 前後の冷涼で湿度の高い条件で生育しやすく, 1 葉あたり 50 個以上の分生子数でほ

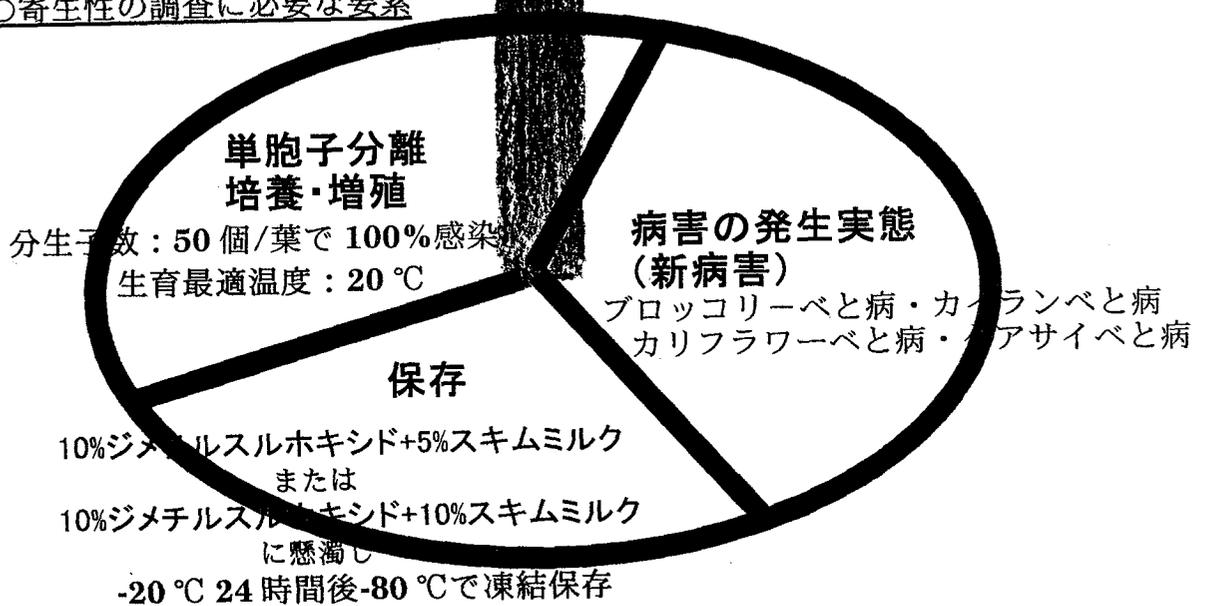
ば 100%の感染率を得ることができた。③純寄生菌であるが故に宿主植物上で保存しなければならず，純系統の菌株の病原性に変異を生じること，および菌株が混じり合うおそれがあるため，菌株の長期保存方法の確立を行い，10%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルクまたは10%ジメチルスルホキシド+10%スキムミルクに懸濁し，-20℃で予備凍結後-80℃で保存が可能であることを明らかにした。これらの成果により，アブラナ科植物に寄生するべと病菌の純系統による詳細な寄生性の分化の調査が初めて可能となった。

寄生性分化の調査の結果から，(1) *B. oleracea* から分離したべと病菌は，特異的に *B. oleracea* に寄生性を示し，きわめて均一に近い1系統に属した。(2) *B. campestris* から分離したべと病菌は，*B. campestris* および一部の *B. oleracea* に属する植物に対して寄生性を示すが，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，寄生性に変動が認められた。(3) *R. sativus* から分離したべと病菌は，*B. oleracea* および *R. sativus* に寄生性を示すが，それらの寄生性には変動が見られた。(4)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な寄生性を持った菌株の集まりではないかと考えられた。(5)アブラナ科べと病菌に特異的なプローブにより，3系統のべと病菌に制限酵素断片長多型が認められ，遺伝子レベルにおいても寄生性の分化が確認された。

第5図は本研究での *P. parasitica* によるアブラナ科植物べと病菌の寄生性の結果を模式化したものである。本研究により，我が国で考えられてきたアブラナ科植物のべと病菌の寄生性は，明らかに異なっていることが判明した。さらには，遺伝的にも寄生性が分化していることを掲げた研究は初めてである。今後，単孢子分離菌株を用いての寄生性の調査および遺伝的な解析の更なる知見の集積によって，病原性分化に関わる遺伝子の解明，抵抗性品種の育成，ひいては本病の安定的な防除法の確立につながるものと期待される。



○寄生性の調査に必要な要素



第5図 本研究での *Peronospora parasitica* によるアブラナ科植物べと病菌の寄生性

論文審査結果要旨

アブラナ科べと病の病原菌 *Peronospora parasitica* は純寄生菌であり、人工培養できないことから、生態については明らかにされていない点が多い。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かった点が考えられる。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。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研究を行った。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について研究した。

ブロッコリー、カリフラワー、カイランおよびタアサイで新たなべと病を発見し、病原菌を *Peronospora parasitica* (Persoon: Fries) Fries であると同定し、それぞれ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。

分離方法の検討および維持・増殖に適した条件の探索を行ったところ、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、試験に供することを可能にし、より精密な試験が行えることを明らかにした。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ことを明らかにした。さらには、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、1葉当たりでは分生子数50個以上であることを明らかにした。

分生子の保存方法の確立を試みたところ、10%ジメチルスルホキシド+5%スキムミルクまたは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℃に移すことによって、長期保存が可能であることを明らかにした。

単孢子分離菌株の寄生性を調査したところ、①キャベツをはじめとする *B.oleracea* から分離したべと病菌は、特異的に *B.oleracea* に寄生性を示し、きわめて均一に近い1系統に属していた。また、*B.napus* に対しても寄生性を示した。*B.oleracea* に属する品種に対する接種試験においては、キャベツ品種：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。②ハクサイをはじめとする *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。しかし、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、*B.juncea*, *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* に属する品種への接種により、レースの存在が示唆された。③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、それらの寄生性に変動が見られた。病原菌の地理的な変動は認められないが、ハクサイ、カブ、タアサイおよびダイコンべと病菌は様々な寄生性を持った菌株の集まりではないかと考えられた。また、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系統のべと病菌に制限酵素断片長多型が認められ、遺伝子レベルにおいても寄生性に分化が確認された。

本研究により、これまで我が国で考えられてきたアブラナ科植物に寄生するべと病菌の寄生性は、明らかに異なっていることが判明した。さらには、遺伝的にも寄生性が分化していることを掲げた研究は初めてである。今後、単孢子分離菌株を用いての寄生性の調査および遺伝的な解析の更なる知見の集積によって、病原性分化に関わる遺伝子の解明、抵抗性品種の育成、ひいては本病の安定的な防除法の確立につながるものと期待される。よって、審査員一同は、本論文は博士（農学）の学位を授与するのに値するものと判定した。