

2つの根こぶ病抵抗性遺伝子 (*Crr1*, *Crr2*) を有する ハクサイ中晩生 F₁ 品種 ‘CR 寒次郎’ の育成[†]

松元哲・畠山勝徳*・高下新二**・宮崎俊夫**・近藤友宏**

(平成 28 年 10 月 25 日受理)

Development of a Medium-Late Maturing Chinese Cabbage (*Brassica rapa* L.) F₁ Cultivar ‘CR Kanjiro’, Harboring Two Clubroot Resistance Genes, *Crr1* and *Crr2*

Satoru Matsumoto, Katsunori Hatakeyama, Shinji Takashita,
Toshio Miyazaki and Tomohiro Kondo

I 緒言

根こぶ病菌 (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) は原生動物界ネコブカビ門ネコブカビ綱に属し原生動物に分類されている。本病菌は土壤中に休眠胞子として長期間存在し、アブラナ科植物の根毛から感染し根にこぶを形成させる (内記, 1987; 吉川, 1976; 堀内, 1981)。アブラナ科植物が本病菌の宿主となり、300 種以上に根こぶをつくりといわれている (對馬, 2003)。罹病した植物は根が異常に肥大するために養水分の吸収が阻害され、著しい生育の遅延や被害が甚大であると枯死に至る。本病の発病により野菜やナタネ (*Brassica napus* L.) 等の農業生産においては著しい減収となるだけでなく、腐敗したこぶから大量の休眠胞子が土壤中に放出され、休眠胞子の濃度を高め、より発病しやすい状態となる。また休眠胞子は数年にわたり土壤中で生存するため、一旦発病すると防除が困難である。そのため野菜栽培では病害の発生を抑制することが困難な場合はアブラナ科以外の作目への変更などが行われることも珍しくない。

根こぶ病は 1736 年イギリスで発見されて以来、1878 年までにイギリス、ノルウェー、フィンランド、デンマーク、フランス、ドイツ、北アメリカ、ソ連南部、インドなどで発生し、亜寒帯から熱帯にまで定着しその被害は

年々増加の傾向にあるという (池上, 1978)。2003 年にはカナダでナタネでの発生も確認されている (Strelkov ら, 2006)。日本国内での発生は 1904 年頃とされており北海道、東北、関東、中部及び近畿地方ではすべての都道府県でみられ、中国地方では発生が少なく、九州では未発生と報告されていた (池上 1978)。しかし根こぶ病の発生は拡大し、福岡、長崎、熊本、大分、宮崎、鹿児島、のいずれの県でも発生が認められており、特に山口県 (Tanaka ら, 2006) ではハクサイ (*Brassica rapa* L.)、福岡県 (田中, 2015) ではキャベツ (*Brassica oleracea* L.)、鹿児島県 (樋口ら, 2016) ではキャベツと景観用のナバナ (*B. rapa* L.) で病原性の異なる菌が報告されている。

根こぶ病に対する防除は耕種的防除 (内記, 1987)、薬剤防除、抵抗性品種の導入を組み合わせた総合防除が推奨されている (堀内, 1981)。中でも抵抗性品種の育成と導入は、化学合成農薬による防除と共に防除の重要な柱である。ハクサイにおいては、抵抗性遺伝子の探索を進めた結果、従来のハクサイの中では見出せず、‘Siloga’、‘GerliaR’、‘Debra’、‘77b’ などヨーロッパの飼料用のカブに存在することが明らかとなり、簡易検定法の開発と遺伝様式の解明などが進み抵抗性品種の育成が開始された (吉川, 1976)。その成果として、飼料用カブに由来する抵抗性遺伝子を導入した‘はくさい中間母本

〒020-0198 岩手県盛岡市下厨川赤平 4
東北農業研究センター畑作園芸研究領域
元野菜育種・ゲノム研究領域

* 元野菜育種・ゲノム研究領域、岩手大学農学部

** 株式会社日本農林社

† 本研究の一部は日本育種学会第 127 回講演会において発表した。

農1～5号'が育成された(吉川, 1993). さらに実用品種として'空海65'(タキイ種苗株式会社), 'ストロングCR75'(株式会社渡辺採種場)等の抵抗性(Clubroot Resistant (CR))品種が上市されることとなった(釘貫2001). その反面, 抵抗性品種が短い期間で罹病化する事態が各地で報告された. 野菜・茶業試験場(現 農研機構野菜花き研究部門)が1989年3月に取りまとめた“根こぶ病抵抗性ハクサイ品種のり病化に関する緊急報告”では, CR品種の作付面積が総計1,327haと推計され, CR品種罹病化事例の多い県として宮城県, 山形県, 茨城県, 兵庫県(淡路島)があげられている. 罹病化の要因は, 根こぶ病菌の病原性が多様であるためと考えられている. 根こぶ病菌の病原型の判別には, Williams法(Williams, 1966)とECD(European Clubroot Differential)法(Buczackiら, 1975)が国際的には用いられているが, 日本国内での分類ではより正確かつ詳細に分類が可能なハクサイ抵抗性F₁品種を用いた判別法が提唱されている(Kuginukiら, 1999; Hatakeyamaら, 2004). 本法はCR品種が有する抵抗性に関与する主動遺伝子の反応性の違いによって判別を行うため, 抵抗の有無を判別しやすいことが特徴である. 本研究では, 2つの抵抗性F₁品種'CR隆徳'(株式会社渡辺採種場)と'SCRひろ黄'(住化農業資材株式会社)の反応性の違いにより4種類の病原型グループに判別するHatakeyamaら(2004)の手法を用いた(表-1).

日本で育成されたハクサイ抵抗性品種や系統を用いて, *Crr1*, *Crr2* (Suwabeら, 2003), *Crr3* (Hiraiら, 2004; Saitoら, 2006), *Crr4* (Suwabeら, 2006), *CRa* (Matsumotoら, 1998), *CRb* (Piaoら, 2004), *CRc*, *CRk* (Sakamotoら, 2008)など8個の抵抗性遺伝子座が同定されている(Hirai, 2006). 農研機構野菜・茶業研究所(現 農研機構野菜花き研究部門)では, 根こぶ病抵抗性遺伝子座*Crr1*と*Crr2*に座乗する2つの抵抗性遺伝子をDNAマーカーで選抜することができる'はくさい中間母本農9号'(以下PL9)を育成した. PL9は根こぶ病菌病原型グループ1, 2と4に対して抵抗性を示す(松元ら, 2012). 現在, 普及しているハクサイF₁品種の多くはCR品種であるが, 後述する'あきめき'を除きグループ1の病原型に対して抵抗性を有する品種は見当たらず, またグループ2に対して抵抗性を有する品種も少ない. そのため, 多様な根こぶ病菌に対応するには, 複数の抵抗性遺伝子を導入することが重要である. 野菜茶業研究所と株式会社日本農林社は, PL9を利用したマーカー選抜技術により, 抵抗性遺伝子を集積

表-1 根こぶ病抵抗性検定試験に供試した判別品種とその特性

判別品種	保有する抵抗性遺伝子	根こぶ病菌病原型への抵抗性の有無 ^a			
		G1	G2	G3	G4
あきめき	<i>Crr1</i> ^b , <i>Crr2</i> , <i>CRb</i>	R	R	R	R
はくさい中間母本農9号(PL9)	<i>Crr1</i> ^b , <i>Crr2</i>	R	R	S	R
SCRひろ黄	不明	S	R	S	R
CR隆徳	<i>CRa</i> または <i>CRb</i> ^c	S	S	R	R
無双	保有せず	S	S	S	S

a G:グループ, R:抵抗性, S:罹病性

b *Crr1*は*Crr1a*と*Crr1b*の2つの抵抗性遺伝子座に分かれることが明らかになっているが, 2つの座は極めて近傍にあるため2つをまとめて*Crr1*と標記した.

c 'CR隆徳'の抵抗性は, *CRb*遺伝子が同定された'CR新黄'とほぼ同じ抵抗性を示すこと(Hatakeyamaら(2004), Katoら(2013)), また*CRa*(Uenoら, 2012)と*CRb*(Hatakeyamaら, 2016)の抵抗性遺伝子の配列には違いがないため.

した実用品種'あきめき'の育成を共同で行った(松元ら, 2012). 'あきめき'の栽培面積は茨城県を中心に約400haと推定されており, その根こぶ病抵抗性は高く評価されている. その一方で, 'あきめき'は播種後75日程度で収穫可能な年内収穫向けの品種であり, 12月中旬以降に収穫を行う作型には不向きである.(株)日本農林社のハクサイF₁品種'寒次郎'は12月中旬から年明け以降の収穫に適する中晩生品種であるが, 根こぶ病抵抗性を有しないため, 産地からは根こぶ病抵抗性付与の要望が多い. そこで, 12月から1月以降に収穫可能で, 複数の根こぶ病菌系に抵抗性を有する'CR寒次郎'を育成したのでその経過と特性を報告する.

'CR寒次郎'の育成に関して, 農研機構野菜茶業研究所研究支援センター業務第1科の方々には育成品種ならびに選抜系統の栽培管理等に多大な業務支援をいただいた. ここに記して感謝の意を表す.

II 育成経過

1 DNAマーカーの選択

PL9が有する*Crr1*と*Crr2*の抵抗性遺伝子をハクサイF₁品種'寒次郎'の両親系統RKG42とTu3にマーカー選抜によって導入することを目的に, まず各遺伝子座に連鎖するDNAマーカーの中から選抜に用いる最適マーカーの検索を行った. 蛍光標識プライマーを用いて, 表-2に記載の各遺伝子座に連鎖するそれぞれ3個のDNAマーカーについてPL9と反復親(RKG42とTu3)の増幅断片長を調べ, その比較を行った. *Crr1*を詳細化すると2つ抵抗性遺伝子座*Crr1a*と*Crr1b*が存在し(Suwabeら, 2012; Hatakeyamaら, 2013),

Crr1a は単独で根こぶ病菌病原型グループ 2 と 4 の抵抗性付与に関与する。B359 は BAC クローン B359C3 の末端配列に存在する約 80bp の挿入 / 欠失のマーカであり、*Crr1a* 遺伝子の 3' 末端に位置する (Hatakeyama ら, 2013)。PL9 と 2 つの反復親の B359 の増幅断片長は、それぞれ 128bp と 208bp であり、アガロースゲル電気泳動でも十分に識別が可能であった (表-2, 図-1)。*Crr1b* と *Crr2* の抵抗性遺伝子が共存すると根こぶ病菌病原型グループ 1 に対して抵抗性が付与される。*Crr2* に連鎖する DNA マーカー BRMS-096 は、他の 2 つのマーカに比べて遺伝子座に近傍であるだけでなく PCR による増幅量も多く安定している。BRMS-096 の増幅断片長は、Tu3 では 193bp となり PL9 の 218bp と比較して十分に識別可能であったが、RKG42 は PL9 と同じ増幅断片長を示した。そのため RKG42 の戻し交雑後代の選

抜には、断片長差が大きく識別可能な 523A1R を主に用いた (表-2)。増幅断片を 2% アガロースゲル電気泳動 (AgaroseXP, ニッポンジーン) により分離した。各反復親で 2 つの根こぶ病抵抗性遺伝子をホモ接合体に固定した個体選抜に用いた電気泳動像を図-1 に示した。

2 選抜と育成

'CR 寒次郎' の育成系譜を図-2 に示した。育種素材として、'寒次郎' の両親 RKG42 と Tu3 を反復親、PL9 を 1 回親に用いた。2006 年 4 月に反復親を種子親、PL9 を花粉親にして最初の交配を行い、得られた F₁ に 6 回連続戻し交配を行った。マーカー選抜では、反復親と PL9 との F₁ 個体における *Crr1* と *Crr2* のマーカー遺伝子型がともにヘテロ型に検出されることを確認した。さらに BC₁F₁ 以降の分離世代では、幼苗時に 2 つの抵抗

表-2 根こぶ病抵抗性遺伝子座に連鎖する各マーカ-の増幅断片長^aの比較

系統名	属性	<i>Crr1</i>			<i>Crr2</i>		
		BRMS-088 0.2cM	B359 ^b <i>Crr1a</i> ^c	BRMS-173 0.2cM	BRMS-096 0.1cM	BRMS-100 0.2cM	523A1R ^b 0.3cM
PL9	(1 回親)	260	128	266	218	114	118
RKG42	(反復親 (♀))	231	208	263	218	124	139
Tu3	(反復親 (♂))	-	208	263	193	132	139

a 蛍光標識プライマーを用いて各系統の DNA を鋳型に PCR を行い、DNA シーケンサーで検出した増幅断片長であり、実際の塩基配列に基づく断片長ではない。

b B359 ; FP : CTCTCTCATGTTAATGGAAGCTGA, RP : CACTCAACGAGTAGGAAACAAAGA.
523A1R ; FP : AACGTAAGTCTTCGTATCCAG, RP : CGGGTATGGTCTTAACGATGCGT.
FP : Forward primer, RP : Reverse primer, その他のマーカ-の情報は、Suwabe ら (2003) を参照。

c B359 は *Crr1a* 遺伝子内に存在する挿入・欠失マーカー、他は抵抗性遺伝子座との推定組換え価。

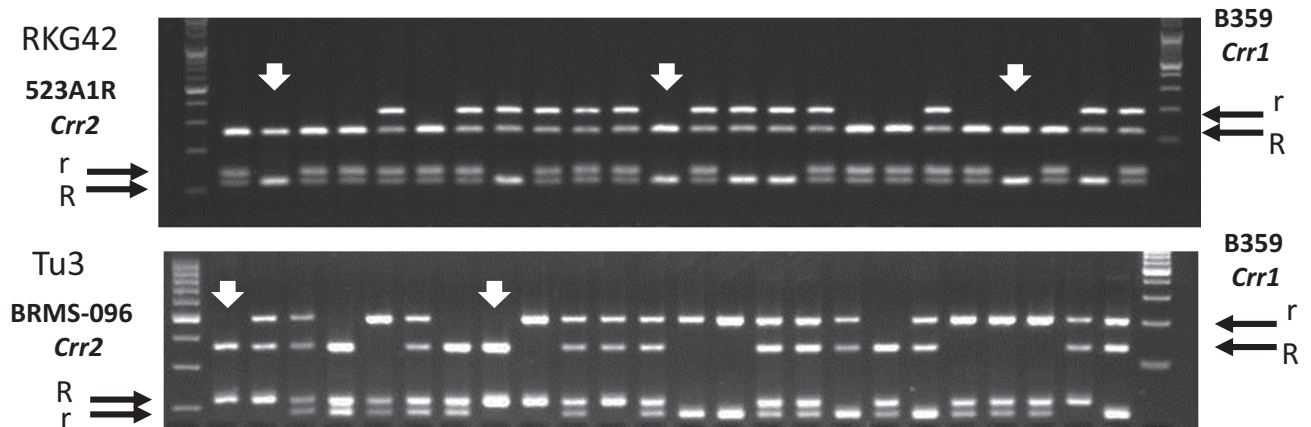


図-1 マーカー遺伝子型による個体選抜に用いた電気泳動像

1 回親 (PL9) と反復親 (RKG42, Tu3) の増幅断片をそれぞれ 'R' と 'r' で示した。

白抜き矢印は最終世代で選抜された 2 つの根こぶ病抵抗性遺伝子をホモ接合体に固定化した系統 (RR 型)。

上段は反復親 RKG42 の CMS 系統 RR 型個体の選抜に用いた電気泳動像。

最初に *Crr2* 連鎖マーカーの増幅断片をアガロースゲルにアプライし 135V15 分電気泳動後、次に同じ個体の B359 の増幅断片を同じウェルにアプライ後約 20 分間電気泳動を行い、増幅断片を分離した。両端のレーンは 100bp ラダーマーカーで、最左は 523A1R、最右は B359 の増幅断片と同時にアプライした。

Crr1 選抜マーカー (右側) は B359 (R : 128bp, r : 208bp), *Crr2* 選抜マーカー (左) は 523A1R (118bp と 139bp)。

下段は反復親 Tu3 の RR 型個体の選抜に用いた電気泳動像。

電気泳動の手法は上段と同様。両端レーンは 100bp ラダーマーカーで最左は BRMS-096、最右は B359 の増幅断片の比較に用いるが、最左の下のラダーマーカーのサイズは 200bp。

Crr1 選抜マーカー (右側) は B359 (R : 128bp, r : 208bp), *Crr2* 選抜マーカー (左) は BRMS-096 (R : 218bp, R : 193bp)。

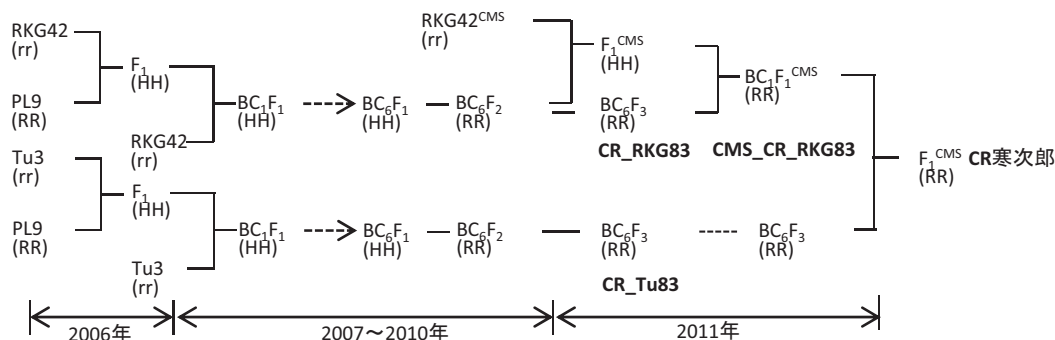


図-2 'CR 寒次郎'の育成系譜

RKG42: '寒次郎'の種子親、Tu3: 花粉親、PL9: *Crr1*と*Crr2*をホモに有する'はくさい中間母本農9号'

CR_RKG83, CMS_CR_RKG83, CR_Tu83: *Crr1*と*Crr2*の抵抗性遺伝子を付与した親系統

R: 根こぶ病抵抗性遺伝子をホモ接合体, H: ヘテロ接合体, r: なし

()内は根こぶ病抵抗性遺伝子: *Crr1*, *Crr2*の遺伝子型を順に標記し, RRは2種類の根こぶ病抵抗性遺伝子をホモ接合体に有する。

CMS: 細胞質雄性不稔

*Crr1*と*Crr2*の抵抗性が分離する世代では、マーカー遺伝子型により個体選抜した。

性遺伝子をともにヘテロに有する個体をマーカー遺伝子型により選抜した。各世代で選抜に用いた個体数は32～96であり、最終的に2個体を選抜し自殖と反復親への戻し交雑により世代を進めた。一方、抵抗性遺伝子が次代に確実に遺伝していることを確認するため、各世代の自殖後代の根こぶ病抵抗性の評価を病原型グループ1(表-1)に属するNo.5菌を用いて行った(データ略)。No.5菌に対しては、*Crr1*と*Crr2*の抵抗性遺伝子を共にホモ接合体で固定した個体のみが安定した抵抗性を発揮する。そのため、根こぶ病抵抗性検定に供試したすべての個体のマーカー遺伝子型を決定し、発病程度を比較し選抜された系統の抵抗性が機能していることを確認した(データ略)。

BC₅F₁世代では選抜系統を4系統に増やし育成系統間の試交F₁を作出し、実用形質について評価を行った。BC₆F₁世代の個体を自殖し、マーカー遺伝子型により2つの抵抗性遺伝子をともにホモに有する個体を選抜した(図-2下)。育成した親系統間での組み合わせ能力を評価するため、試交F₁の形質評価により組み合わせ能力に優れた両親(CR_RKG83, CR_Tu83)を選抜した。さらにRKG42の細胞質雄性不稔系統に戻し交雑を2回行い、2つの抵抗性遺伝子がホモ接合体である細胞質雄性不稔個体を得た(CMS_CR_RKG83)(図-2上)。そのF₁を'はくさい安日交2号'として品種登録出願に向けた各種試験に供試した。その結果、2015年4月13日に'CR 寒次郎'として品種登録出願を行った。

III 品種特性

1 試験概要

a 根こぶ病抵抗性検定

根こぶ病抵抗性を評価するため、病土挿入法による幼苗接種試験と根こぶ病菌汚染圃場での栽培試験を行った。幼苗接種試験に供試した判別品種とその特性を表-1に、また根こぶ病汚染圃場での栽培試験概要を表-3に示した。判別品種は4つの病原型グループすべてに抵抗性を発揮する'あきめき'、グループ1, 2と4に抵抗性のPL9, グループ2と4に抵抗性の'SCR ひろ黄'、グループ3と4に抵抗性の'CR 隆徳'およびすべてのグループに罹病する'無双'(タキイ種苗(株))を用いた。

4つの病原型グループに属する根こぶ病菌を用いた病土挿入法により、各グループに対する抵抗性程度を評価した(表-5～8)。病土挿入法による接種方法は吉川(1993)の方法に準じた。園芸培土を詰めた9cmジフィーポットに、根こぶ病休眠孢子5×10⁶/gを含む約10gの病土を挿入し、病土上にハクサイの種子を10粒播種した。発芽後、1ジフィーポットあたり8本に間引きした。16時間日長(昼温23℃/夜温18℃)に設定したファイトトロンの中で約6週間栽培し、その後根を洗い、病徴

表-3 根こぶ病多発圃場(根こぶ病菌汚染圃場)での栽培試験概要(2013年度)

播種日	定植日	調査日	栽培地名	根こぶ病菌の病原菌型
8/27	9/13	1/30	三重県四日市市平尾町	グループ2
9/1	9/22	1/28	兵庫県南あわじ市榎列大榎列	不明

畝間120cm, 株間40cm, 2条植え
対照品種: '寒次郎', 標準品種: '晴黄90'

表-5 'CR 寒次郎', その両親系統と対照品種, 標準品種および判別品種との根こぶ病菌病原型グループ1に対する抵抗性程度の比較

系統・品種名	発病指数別個体数				供試個体数	平均発病指数	発病株率 (%)
	0	1	2	3			
CR 寒次郎	16	1	0	0	17	0.1	5.9
CMS_CR_RKG83	16	1	0	0	17	0.1	5.9
CR_Tu83	12	1	0	0	13	0.1	7.7
寒次郎	0	0	0	16	16	3.0	100.0
晴黄 90	0	0	0	16	16	3.0	100.0
あきめき	17	1	0	0	18	0.1	5.6
PL9	12	0	0	0	12	0.0	0.0
SCR ひろ黄	0	0	0	15	15	3.0	100.0
CR 隆徳	0	0	0	17	17	3.0	100.0
無双	0	0	0	11	11	3.0	100.0

表-6 'CR 寒次郎', その両親系統と対照品種, 標準品種および判別品種との根こぶ病菌病原型グループ2に対する抵抗性程度の比較

系統・品種名	発病指数別個体数				供試個体数	平均発病指数	発病株率 (%)
	0	1	2	3			
CR 寒次郎	16	0	0	0	16	0.0	0.0
CMS_CR_RKG83	16	0	0	0	16	0.0	0.0
CR_Tu83	14	0	0	0	14	0.0	0.0
寒次郎	0	0	0	16	16	3.0	100.0
晴黄 90	1	2	0	14	17	2.6	94.1
あきめき	17	0	0	0	17	0.0	0.0
PL9	14	0	0	0	14	0.0	0.0
SCR ひろ黄	11	0	0	0	11	0.0	0.0
CR 隆徳	0	0	0	17	17	3.0	100.0
無双	0	0	0	7	7	3.0	100.0

表-7 'CR 寒次郎', その両親系統と対照品種, 標準品種および判別品種との根こぶ病菌病原型グループ3に対する抵抗性程度の比較

系統・品種名	発病指数別個体数				供試個体数	平均発病指数	発病株率 (%)
	0	1	2	3			
CR 寒次郎	0	0	0	16	16	3.0	100.0
CMS_CR_RKG83	0	0	0	17	17	3.0	100.0
CR_Tu83	0	0	0	17	17	3.0	100.0
寒次郎	0	0	0	17	17	3.0	100.0
晴黄 90	13	1	0	0	14	0.1	7.1
あきめき	18	0	0	0	18	0.0	0.0
PL9	0	0	0	8	8	3.0	100.0
SCR ひろ黄	0	0	0	12	12	3.0	100.0
CR 隆徳	12	0	0	1	13	0.2	7.7
無双	0	0	0	14	14	3.0	100.0

表-8 'CR 寒次郎', その両親系統と対照品種, 標準品種および判別品種との根こぶ病菌病原型グループ4に対する抵抗性程度の比較

系統・品種名	発病指数別個体数				供試個体数	平均発病指数	発病株率 (%)
	0	1	2	3			
CR 寒次郎	18	0	0	0	18	0.0	0.0
CMS_CR_RKG83	16	1	0	0	17	0.1	5.9
CR_Tu83	17	1	0	0	18	0.1	5.6
寒次郎	0	0	0	19	19	3.0	100.0
晴黄 90	13	0	0	0	13	0.0	0.0
あきめき	15	1	0	0	16	0.1	6.3
PL9	10	2	0	0	12	0.2	16.7
SCR ひろ黄	13	2	1	0	16	0.3	18.8
CR 隆徳	14	0	0	2	16	0.4	12.5
無双	0	0	0	6	6	3.0	100.0

対照品種：'寒次郎', 標準品種：'晴黄 90', 判別品種 (表-1 参照)：'あきめき', PL9 (はくさい中間母本農 9号), 'SCR ひろ黄', 'CR 隆徳', '無双'

根こぶ病菌：No.5 (グループ1), No.7 (グループ2), No.14 (グループ3), Ano-01 (グループ4)

接種方法：園芸培土を詰めた9cm ジフィーポットに、根こぶ病休眠胞子 $5 \times 10^6/g$ を含む約10gの病土を挿入し、病土上にハクサイの種子を10粒播種した。発芽後、1ジフィーポットあたり8本に間引きした。16時間日長 (昼温 23°C / 夜温 18°C) に設定したファイトトロンの中で約6週間栽培し、栽培後根を洗い、病徴を観察し発病指数として評価した。

発病指数：0：病徴なし，1：側根に小コブ，2：側根に1mm以上のコブが着生または発病指数1と3の中間，3：主根にコブが着生

平均発病指数： Σ (発病指数 x 個体数) / 個体数

発病株率：発病個体 (発病指数1~3) / 個体数 x 100

を観察し発病指数として評価した。なお病徴を以下のとおり指数化した。発病指数0:病徴なし、1:側根に小コブ、2:側根に1mm以上のコブが着生または発病指数1と3の中間、3:主根にコブが着生。

‘CR寒次郎’を三重県四日市市、兵庫県南あわじ市の根こぶ病菌汚染圃場で栽培し、抵抗性程度を評価した(表-3)。四日市市平尾町の圃場試験では、感染を確実にするため苗を根こぶ病菌液に浸した後に定植した。また使用した根こぶ病菌は平尾町で採取したグループ2に属する菌であった。南あわじ市榎列大榎列の圃場の菌が属する病原型グループは不明であった。圃場試験では対照品種に‘寒次郎’と標準品種に‘晴黄90’(タキイ種苗(株))を用いた(表-3)。

b 諸形質の比較

根こぶ病抵抗性以外の諸形質を評価するため、農研機構野菜茶業研究所(三重県津市)で2013年~2014年度に栽培試験を行い、年内と年明けの2回に分けて収穫調査を実施した(表-4)。対照品種を‘寒次郎’、標準品種を‘晴黄90’、‘黄ごころ90’(タキイ種苗(株))とした。2014年度には(株)日本農林社(茨城県稲敷郡阿見町)および周辺市町村の生産者に栽培を委託し収穫物調査を行った(表-4)。

2 試験成績

a 根こぶ病抵抗性検定試験

1) 4グループの根こぶ病菌を用いた病土挿入法による幼苗検定

根こぶ病菌病原型グループ1に属するNo.5菌の接種試験では、対照品種‘寒次郎’、標準品種‘晴黄90’と抵抗性遺伝子を有しない‘無双’および抵抗性品種(CR)‘SCRひろ黄’、‘CR隆徳’は供試したすべての個体の発病指数が3となり、いずれの品種も顕著に発病した。一方、‘寒次郎’の両親に2つの抵抗性遺伝子を導入したCMS_CR_RKG83、CR_Tu83およびそのF₁である‘CR

寒次郎’は、‘あきめき’やPL9と同じようにほとんどの個体が発病しないか、発病しても発病指数1程度であり、強い抵抗性を示した(表-5、図-3)。

グループ2に属するNo.7菌の接種試験では、‘寒次郎’、‘晴黄90’、‘CR隆徳’、‘無双’はいずれも顕著に発病したが、CMS_CR_RKG83、CR_Tu83および‘CR寒次郎’では発病個体はなく、‘あきめき’やPL9、‘SCRひろ黄’と同程度の強い抵抗性を示した(表-6)。

グループ3に属するNo.14菌の接種では、CMS_CR_RKG83、CR_Tu83および‘CR寒次郎’は、‘寒次郎’、‘無双’、PL9と‘SCRひろ黄’と同様にすべての供試個体の発病指数が3となり、顕著に発病した(表-7)。

グループ4に属するAno-01菌の接種では、抵抗性遺伝子を有しない‘寒次郎’、‘無双’で顕著な発病が認められた。CMS_CR_RKG83、CR_Tu83では、供試した1個体に微小なコブの着生があったものの、‘CR寒次郎’では病徴は観察されなかった(表-8)。

2) 根こぶ病汚染圃場での栽培試験

三重県四日市市の汚染圃場で栽培した‘寒次郎’と‘晴黄90’は、それぞれ85.0%と55.0%の発病率であり、平



図-3 根こぶ病菌病原型グループ1を接種源に用いた根こぶ病抵抗性検定試験における‘寒次郎’(左)と‘CR寒次郎’(右)の病徴の比較。

表-4 一般圃場での栽培試験概要

年度	栽培試験地	対照品種	標準品種	播種日	定植日	調査日
2013	三重県津市安濃町	寒次郎	晴黄90, 黄ごころ90	8/30	9/17	2013/12/6
				9/6	9/24	2014/1/29
2014	三重県津市安濃町	寒次郎	晴黄90, 黄ごころ90	8/29	9/16	2014/12/10
				9/5	9/23	2015/1/9
2014	茨城県稲敷郡阿見町	寒次郎	晴黄90	8/28	9/18	2015/1/5
	茨城県常総市崎房	寒次郎	-	8/23	9/18	2015/1/7
	茨城県結城郡八千代町	-	-	8/26	9/13	2015/1/7

三重県津市安濃町: 畝間150cm, 株間40cm, 2条植え, 白黒ポリマルチ栽培
その他の試験地: 株間×条間=50cm×60cm, 1条植え, 無マルチ

表-9 'CR 寒次郎' と対照品種, 標準品種との根こぶ病多発圃場での発病程度の比較

年度	栽培地名	品種名	発病指数別個体数				供試個体数	平均発病指数	発病株率 (%)
			0	1	2	3			
2013	四日市市	CR 寒次郎	20	0	0	0	20	0.0	0.0
		寒次郎	3	4	6	7	20	1.9	85.0
		晴黄 90	9	8	3	0	20	0.7	55.0
2013	南あわじ市	CR 寒次郎	24	0	0	0	24	0.0	0.0
		寒次郎	4	6	12	11	33	1.9	87.9
		晴黄 90	0	5	11	20	36	2.4	100.0

対照品種：'寒次郎', 標準品種：'晴黄 90'

平均発病指数： Σ (発病指数 x 個体数) / 個体数

発病株率：発病個体 (発病指数 1~3) / 個体数 x 100



図-4 兵庫県南あわじ市榎列の根こぶ病菌汚染圃場栽培での対照品種 '寒次郎' (左) と 'CR 寒次郎' (右) の根こぶ病発病状況。'寒次郎' は小さなコブから地下部全体がコブ状になった個体まで観察された。一方, 'CR 寒次郎' はコブはなく, 健全な根であった。

均発病指数はそれぞれ 1.9 と 0.7 であった (表-9)。一方, 南あわじ市の汚染圃場では, '寒次郎' の 87.9% と '晴黄 90' の全個体で病徴が観察され, 平均発病指数が 1.9 と 2.4 となり, 地下部全体が肥大した株や大小のこぶの着生が認められた (表-9, 図-4)。2 箇所の根こぶ病菌汚染圃場での栽培でも 'CR 寒次郎' ではコブの着生が全く観察されず, 安定した抵抗性を有することが明らかになった (表-9, 図-4)。

四日市市の汚染圃場での健全な株の収穫物調査では, '寒次郎' の収穫物が 3.12kg であったのに対して, 'CR 寒次郎' は 3.40kg と大きく, '晴黄 90' との比較でもわずかに重かった (表-10)。収穫球重の分布では, 3.5kg 以上の球の割合が 'CR 寒次郎' は '寒次郎' に比べて高かったが, '晴黄 90' とはあまり差がなかった (図-5)。「CR 寒次郎」と「寒次郎」および「晴黄 90」との間で球の肥大に総じて差がなかったのは被害の程度が低かったためと考えられた。一方で南あわじ市の汚染圃場では, '寒次郎' と '晴黄 90' の球重がそれぞれ 2.78kg, 2.41kg であったのに対して, 'CR 寒次郎' は 3.33kg と重く, 球長, 球幅の長さも長かった (表-10)。「寒次郎」と「晴黄 90」の

表-10 根こぶ病多発圃場における 'CR 寒次郎' と対照品種, 標準品種の球重量と球形状の比較

栽培地名	品種名	平均重量 (kg)	球長 (cm)	球幅 (cm)	しまり ^a
四日市市	CR 寒次郎	3.40 ± 0.7	30.6 ± 0.5	18.5 ± 1.2	3.0
	寒次郎	3.12 ± 0.5	29.5 ± 1.2	18.4 ± 1.0	3.0
	晴黄 90	3.28 ± 0.7	29.6 ± 0.8	18.0 ± 0.7	3.0
南あわじ市	CR 寒次郎	3.33 ± 0.5	31.2 ± 1.2	19.0 ± 0.9	3.0
	寒次郎	2.78 ± 1.5	27.8 ± 1.9	17.7 ± 1.5	3.0
	晴黄 90	2.41 ± 0.7	27.2 ± 1.5	16.8 ± 1.7	3.0

対照品種：'寒次郎', 標準品種：'晴黄 90'

球重の調査個体数は四日市市と南あわじ市で各品種それぞれ 20, 15 個体で, うち球長, 球幅, しまりについては 10 個体ずつ計測した。

a しまり：しまりの程度により 1 (ゆるい) ~ 3 (しまる) で評価

収穫球重の分布で最も高い割合は, それぞれ 2.0~2.5kg, 2.5~3.0kg であったのに対して, 'CR 寒次郎' は 3.5~4.0kg であり根こぶ病菌汚染圃場であるにも関わらず, 本来の品種特性が発揮されていた。南あわじ市の汚染圃場では発病程度が高く, 対照品種および標準品種の地上部の生育に大きく影響を及ぼしたと考えられた。

b 諸形質の比較

三重県津市における 'CR 寒次郎' と '寒次郎' の収穫重量の比較では, それぞれ 2.22kg と 2.41kg (2013 年内),

2.80kgと2.96kg(2013年明), 2.07kgと2.07kg(2014年内), 2.52kgと2.72kg(2014年明)であった(表-11)。4回の収穫調査を通じて, 'CR寒次郎'が'寒次郎'を上回る結果を得ることはできなかったが, その差は小さくほぼ同等とみなされた。茨城県での試験では, 2.77kgと2.63kg(阿見町), 4.49kgと3.76kg(常総市)と逆に'CR寒次郎'の方が重かった(表-11)。三重県津市における標準品種との球重量の比較では, 'CR寒次郎'は'晴黄90'よりやや軽く, '黄ごころ90'よりはやや重い傾向があった。一方, 茨城県阿見町での比較では'CR寒次郎'

の方が重かった(表-11)。

'CR寒次郎'の収穫球の球長はどの試験区においても30cm前後であり, 同一区で比較すると元品種である'寒次郎'と大差はなかった。また, 収穫球の球幅については, 概ね17~18cm前後で同一区での比較では大差はなかった(表-11)。球のしまりでは, 年内どりでは出荷可能な程度に3に届かない試験区もあったが, 対照品種'寒次郎'とほぼ同様な傾向であった。'CR寒次郎'の球内色は, '寒次郎'のそれと同様の黄色の黄芯であった。球の形状には, 'CR寒次郎'と'寒次郎'との間で顕著な

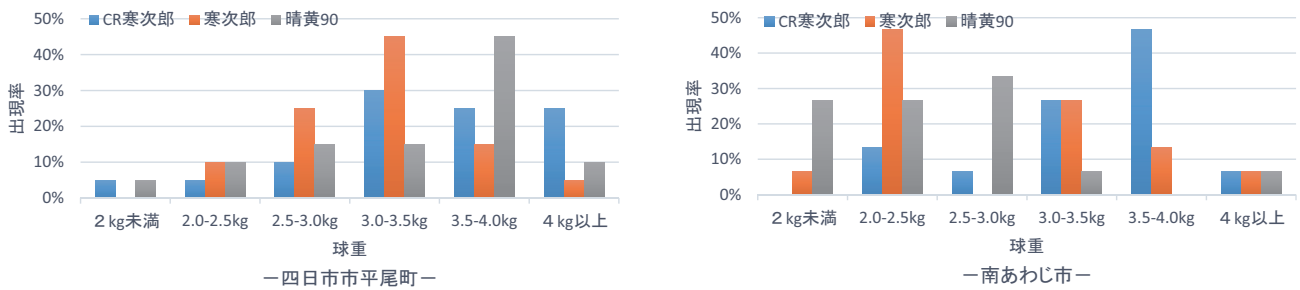


図-5 2箇所の根こぶ病菌汚染圃場栽培における'CR寒次郎'と対照品種('寒次郎')と標準品種('晴黄90')との収穫球重の分布比較

表-11 'CR寒次郎', 対照品種及び標準品種との一般圃場栽培での球形状の比較

年度	試験地	品種名	個体数	球重 (kg)	球長 (cm)	球幅 (cm)	しまり
2013 年内 ^a	1	CR寒次郎	8	2.22 ± 0.4	30.0 ± 0.8	17.6 ± 1.4	2.4
		寒次郎	8	2.41 ± 0.4	29.9 ± 1.0	17.9 ± 1.2	2.8
		晴黄90	8	2.34 ± 0.4	29.3 ± 1.4	18.0 ± 1.1	2.8
		黄ごころ90	8	2.10 ± 0.4	28.5 ± 1.4	16.9 ± 1.6	3.0
2013 年明 ^a	1	CR寒次郎	24	2.80 ± 0.4	27.9 ± 1.1	17.3 ± 3.2	3.0
		寒次郎	24	2.96 ± 0.5	27.8 ± 1.4	18.2 ± 4.3	3.0
		晴黄90	24	3.03 ± 0.5	27.2 ± 1.6	17.4 ± 3.4	3.0
		黄ごころ90	24	2.73 ± 0.5	26.8 ± 1.6	16.8 ± 2.7	3.0
2014 年内 ^b	1	CR寒次郎	20	2.07 ± 0.3	28.6 ± 0.9	16.7 ± 1.0	2.8
		寒次郎	20	2.07 ± 0.4	27.9 ± 1.5	16.6 ± 1.0	2.8
		晴黄90	20	2.17 ± 0.3	27.4 ± 1.5	16.4 ± 0.9	3.0
		黄ごころ90	20	1.91 ± 0.3	26.8 ± 1.0	15.6 ± 1.1	3.0
2014 年明 ^b	1	CR寒次郎	20	2.52 ± 0.6	27.9 ± 1.6	16.8 ± 1.4	2.8
		寒次郎	20	2.72 ± 0.6	28.2 ± 1.3	16.7 ± 1.3	2.9
		晴黄90	20	2.61 ± 0.5	27.5 ± 1.1	16.5 ± 1.1	3.0
		黄ごころ90	20	2.22 ± 0.3	26.9 ± 0.9	15.6 ± 0.9	3.0
2014 年明	2	CR寒次郎	10	2.77 ± 0.4	32.8 ± 0.9	16.1 ± 1.0	2.9
		寒次郎	10	2.63 ± 0.4	32.6 ± 0.5	16.8 ± 1.0	2.9
		晴黄90	10	2.53 ± 0.3	30.3 ± 0.8	15.9 ± 0.7	3.0
	3	CR寒次郎	20	4.49 ± 0.4	33.6 ± 1.0	20.6 ± 0.8	3.0
		寒次郎	20	3.76 ± 0.3	32.3 ± 0.7	20.0 ± 0.8	3.0
	4	CR寒次郎	20	3.16 ± 0.6	32.1 ± 1.2	18.2 ± 1.1	2.9

a 2013年9月16日の台風により, 全体的に被害を受け生育が抑制された。

b 2014年10月5日の台風により被害を受け, 生長不良株や結球しない株が目立ったため, 試験区40株の中から球重の重い上位20株を調査対象とした。

試験地, 1: 三重県津市安濃町, 2: 茨城県稲敷郡阿見町, 3: 茨城県常総市崎房, 4: 茨城県結城郡八千代町

差異はなく、形態的な特徴から識別することは困難であり、その違いは根こぶ病抵抗性のみと考えられた (図-6)。

IV 考察

ハクサイの CR 品種の罹病化は、根こぶ病菌の病原性の多様性に要因があることは多くの研究者が指摘している。多様な根こぶ病菌に対応するためには、抵抗性の反応が異なる抵抗性遺伝子を複数導入する必要がある。飼料用カブ 'Siloga' に由来する抵抗性系統 'G004' は *Crr1* と *Crr2* の抵抗性遺伝子を有し、グループ 1 と 2 の中間に位置する病原型の Wakayama 菌とグループ 4 に属する Ano-01 菌に対して抵抗性を発揮し (Suwabe ら, 2003)、この 2 つの根こぶ病抵抗性遺伝子を導入しハクサイの草姿に改良した PL9 は、グループ 1, 2, 4 に対して抵抗性を発揮する (松元ら, 2012)。以上のことから、*Crr1* と *Crr2* の抵抗性遺伝子を導入すればグループ 1, 2, 4 に対して抵抗性を付与できる。一方で、これまでこれら 2 つの遺伝子が PL9 や 'あきめき' を除いて品種育成に用いられなかったのは、その抵抗性が不完全優性形質もしくは劣性形質であるためだと考えられる。表現型による劣性形質の選抜では、戻し交雑個体を一旦自殖により当該遺伝子をホモ接合型に固定しなければならない。標的が 2 つの遺伝子であると 1/16 の割合でしか安定した抵抗性を有する個体は出現しないため、抵抗性検定においても多数の個体を扱う必要がある。また戻し交雑と自殖とを交互に行わなければならないため、世代促進にも時間を要する。さらに F₁ が主流のハクサイ品種では、両親系統に抵抗性遺伝子を導入する必要がある。そのため、これらの煩雑な選抜操作を何代にわたって両

親ともに確実に行わなければならない。以上のことが障害となって遺伝子資源として活用されなかったと考えられる。一方で、SSR などの共優性型のマーカー選抜では、劣性形質であってもヘテロ接合型による選抜が可能であり、潜在的に抵抗性を有している個体を見出すことができる。また 2 つの遺伝子であれば毎世代 1/4 の割合でヘテロ接合体個体が出現するため、本研究においても供試した個体数は毎代 16 ~ 96 程度の少ない個体数で可能であった。

本研究で選抜した個体の世代促進を進めるにあたり、自殖後代も作成し根こぶ病菌病原型グループ 1 に属する No.5 菌を用いた検定試験により抵抗性が確実に機能していることを確認した。これはマーカーと目的遺伝子座間の組換えや突然変異等予期せぬ事態に備えてのことであった。しかしマーカー選抜した個体の自殖後代のうち、2 つのマーカー遺伝子型が抵抗性ホモ接合型の個体はすべて抵抗性を示し、今回のマーカー選抜が極めて有用であったと言える。本研究で育成した、CMS_CR_RKG83 と CR_Tu83 およびその F₁ の 'CR 寒次郎' は、想定どおりの抵抗性を示した。*Crr1* 領域に関しては、遺伝子単離の過程で当該領域の BAC 情報 (Suwabe ら, 2012) および *Crr1a* 遺伝子情報が明らかにされている (Hatakeyama ら, 2013)。*Crr1* の抵抗性遺伝子の選抜に用いた B359 は *Crr1a* の 3' 末端に位置するため、組換えの可能性を排除できる。また *Crr2* の遺伝子単離は未達であるが、遺伝子座の詳細化は進んでいる (未公表データ)。原因遺伝子の単離は、組換えの恐れのない極めて効率的な選抜マーカーの開発につながる事が期待されている。

'寒次郎' は全ての病原型グループの根こぶ病菌に対して罹病性であるが、'晴黄 90' は表-5 ~ 8 の結果より、根こぶ病菌系グループ 3 と 4 に抵抗性を示した。四日市市の根こぶ病菌はグループ 2 に属する菌株であることは既知であったが、南あわじ市の菌は未知であった。南あわじ市の圃場試験において '晴黄 90' が著しく罹病したことから、この菌はグループ 1 または 2 に属する菌であると考えられた。グループ 2 に属する菌は茨城、宮城、和歌山、長野、山形、群馬、富山で確認されているが (Hatakeyama ら, 2004)、この菌系に対する抵抗性品種の数は元々少ない上に、中晩生品種に限るとさらにその数は減る。したがってグループ 2 に対する抵抗性を示す 'CR 寒次郎' は有用であると考えられる。

他方で 'CR 寒次郎' はグループ 3 への抵抗性を有しない (表-7)。Hatakeyama ら (2004) と Osaki ら (2008)



図-6 '寒次郎' (左) と 'CR 寒次郎' (右) との収穫物縦断面の比較

は日本各地から収集した根こぶ病菌株のうち、それぞれ18のうち3菌が、17のうち7菌がグループ3に属することを明らかにし、グループ3に属する菌が日本各地に分布していることを報告している。CRb 抵抗性遺伝子 (Piao ら, 2004) をヘテロ接合体で有する 'CR 新黄' はグループ3と4に抵抗性を有し (Hatakeyama ら, 2004), また Kato ら (2012) は '秋理想' の抵抗性遺伝子のゲノム上の位置関係が CRb に類似していることを明らかにしている。さらに108品種の日本のハクサイとカブ品種のうち50品種がグループ3への抵抗性を有していることと遺伝子座に近傍に複数の共優性型のマーカーが開発されている (Kato ら, 2013)。その中で '寒次郎' の CRb に連鎖するマーカーの遺伝子型がすべて罹病性型であることを明らかにしている (Kato ら, 2013)。さらに CRb は Ueno ら (2012) が単離した CRa と同じであることが明らかにされている (Hatakeyama ら, 2016)。したがって、CRb に関しては遺伝子情報と育種素材が極めて豊富であることに加え、優性形質であるため両親のどちらかに導入すればよいことから、抵抗性の付与は容易であると言える。

元品種の '寒次郎' は中晩生の大型のハクサイであり、本来の年明収穫では結球重量は3kgを超える。2011年、2012年度は雄性可稔の種子親との F₁ の 'CR 寒次郎' について試験したが、多くが3kg前後まで球が肥大した (データ略)。一方で三重県津市の2013、2014年度の栽培試験では3kgを超える個体は少なかった (表-11)。この2年の栽培試験では、定植後まもなく台風による強風のため苗の傷みが生じ一部に生育の大幅な遅延や不結球株が見出された。そのためこれらの結果は、本来の '寒次郎' の特性とは言いがたかった。同様に標準品種の '晴黄90' と '黄ごころ90' についても大型のハクサイとなる特性を有しているが、2カ年の三重県津市での栽培試験ではその特性を十分に発揮することはできなかった。2カ年4作を通じて 'CR 寒次郎' は、'寒次郎'、'晴黄90' と同等かやや軽く、'黄ごころ90' よりやや重い傾

向は共通していた。したがって三重県津市においても好適な栽培条件では、茨城県での栽培と同様に 'CR 寒次郎' は3kgを超える大型のハクサイとなると考えられた。

V 摘要

- 1) 年末から年明けにかけて収穫可能なハクサイ中晩性 F₁ 品種 '寒次郎' に複数の病原型グループの根こぶ病菌に対する抵抗性を付与するため、'寒次郎' の両親 (RKG42 と Tu3) に、'はくさい中間母本農9号' (PL9) が有する *Crr1* と *Crr2* の2つの根こぶ病抵抗性遺伝子を導入し CMS_CR_RKG83 と CR_Tu83 およびその F₁ の 'CR 寒次郎' を育成した。両親の育成には、6回の連続戻し交雑と DNA マーカーによる選抜を行った。
- 2) 選抜に用いた DNA マーカーは、*Crr1* が、RKG42 と Tu3 とともに *Crr1a* 抵抗性遺伝子末端に位置する B359 であり、*Crr2* は RKG42 が 523A1R、Tu3 が BRMS-096 であった。いずれのマーカーの増幅断片はアガロースゲル電気泳動により PL9 と反復親 (RKG42 と Tu3) 間で明確に識別可能であった。
- 3) 病土挿入法による根こぶ病抵抗性検定の結果、CMS_CR_RKG83 と CR_Tu83 およびその F₁ の 'CR 寒次郎' は、4つの根こぶ病菌病原型グループの中で、グループ3に属する菌系には罹病したが、グループ1, 2, 4に抵抗性を示した。
- 4) 2カ所の根こぶ病菌汚染圃場に栽培した結果、いずれの圃場でも対照となる品種は罹病株が観察されたが、'CR 寒次郎' は根こぶの着生が観察されず、圃場レベルでも安定した抵抗性を示した。
- 5) 'CR 寒次郎' の根こぶ病抵抗性以外の特性は、元品種の '寒次郎' のそれとよく似ており外観形質から判断することは困難であった。すなわち、'CR 寒次郎' は12月~1月どりに適しており、約3kg以上の球重と鮮やかな黄芯のハクサイであり、'寒次郎' の後継品種として期待できる。

引用文献

- 1) Buczacki, S. T., H. Toxopeus, P. Mattusch, T. D. Johnston, G. R. Dixon and L. A. Hobolth (1975). Study of physiological specialization in *Plasmiodiophora brassicae*: proposals for attempted rationalization through an international approach. *Trans. Br. mycol. Soc.* **65**: 295-303.
- 2) Hatakeyama, K., M. Fujimura, M. Ishida and T. Suzuki (2004): New classification method for *Plasmiodiophora brassicae* field isolates in Japan based on resistance of F₁ cultivars of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) to clubroot. *Breed. Sci.*, **54**, 197-201.
- 3) Hatakeyama, K., K. Suwabe, R. N. Tomita, T. Kato, T. Nunome, H. Fukuoka and S. Matsumoto (2013): Identification and characterization of *Crr1a*, a gene for resistance to clubroot disease (*Plasmiodiophora brassicae* Woronin) in *Brassica rapa* L.. *PLoS One* **8**: e54745.
- 4) Hatakeyama, K., T. Niwa, T. Kato, T. Ohara, T. Kakizaki and S. Matsumoto (2016): The tandem repeated organization of NB-LRR genes in the clubroot resistant *CRb* locus in *Brassica rapa* L. *Mol. genet. Genomics* doi: 10.1007/s00438-016-1281-1
- 5) 樋口康一・尾松直志・東幸男・白尾吏・長友誠・田中義弘・松元哲・井上栄明 (2016) 鹿児島県のキャベツおよび景観用菜の花に発生した根こぶ病. 九州病害虫研究会報, 56-63.
- 6) Hirai, M., T. Harada, N. Kubo, M. Tsukada, K. Suwabe and S. Matsumoto (2004): A novel locus for clubroot resistance in *Brassica rapa* and its linkage markers. *Theor. Appl. Genet.*, **108**: 639-643.
- 7) Hirai, M. (2006): Genetic analysis of clubroot resistance in *Brassica* crops. *Breed. Sci.*, **56**, 223-229.
- 8) 堀内誠三 (1981): 根こぶ病研究の現状と今後の課題. 植物防疫, **35**, 119-122.
- 9) 池上八郎 (1978): 最近におけるアブラナ科野菜根こぶ病の研究動向. 植物防疫, **32**, 53-61.
- 10) Kato, T., K. Hatakeyama, N. Fukino and S. Matsumoto (2012) Identification of a clubroot resistance locus conferring resistance to a *Plasmiodiophora brassicae* classified into pathotype group 3 in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.). *Breed. Sci.*, **62**, 282-287.
- 11) Kato, T., K. Hatakeyama, N. Fukino and S. Matsumoto (2013): Fine mapping of the clubroot resistance gene *CRb* and development of a useful selectable marker in *Brassica rapa* L.. *Breed. Sci.*, **63**, 116-124.
- 12) 釘貫靖久 (2001): *Brassica* 属野菜の根こぶ病抵抗性育種. 野菜茶試研報, **16**, 19-67.
- 13) Kuginuki, Y., H. Yoshikawa, M. Hirai (1999): Variation in virulence of *Plasmiodiophora brassicae* in Japan tested with clubroot-resistant cultivars of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *Eur. J. Plant Pathol.*, **105**, 327-332.
- 14) Matsumoto, E., C. Yasui, M. Ohi and M. Tsukada (1998): Linkage analysis of RFLP markers for clubroot resistance and pigmentation in Chinese cabbage. *Euphytica*, **104**: 79-86.
- 15) 松元哲・畠山勝徳・高下新二・宮崎俊夫・近藤友宏 (2012): DNA マーカー選抜による根こぶ病と黄化病に抵抗性のハクサイ新品種「あきめき」の育成. 研究ジャーナル, **35**, 61-64.
- 16) Osaki, K., S. Fujiyama, A. Nakayama, Y. Shimizu, S. Ito and S. Tanaka (2008): Relation between pathogenicity and genetic variation within *Plasmiodiophora brassicae*. *J. Gen. Plant Pathol.*, **74**, 281-288.
- 17) Piao, Z. Y., Y. D. Deng, S. R. Choi, Y. J. Park, and Y. P. Lim (2004): SCAR and CAPS mapping of *CRb*, a gene conferring resistance to *Plasmiodiophora brassicae* in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). *Theor. Appl. Genet.*, **108**, 1458-1465.
- 18) Saito, M., N. Kubo, S. Matsumoto, K. Suwabe, M. Tsukada and M. Hirai (2006): Fine mapping of the clubroot resistance gene, *Crr3*, in *Brassica rapa*. *Theor. Appl. Genet.*, **114**, 81-91.
- 19) Sakamoto, K., A. Saito, N. Hayashida, G. Taguchi and E. Matsumoto (2008): Mapping of isolate-specific QTLs for clubroot resistance in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *Theor. Appl. Genet.*, **117**, 759-767.
- 20) Strelkov, S. E., J. P. Tewari and E. Smith-Degenhardt (2006): Characterization of *Plasmiodiophora brassicae* populations from Alberta, Canada. *Canadian J. Plant Pathol.*, **28**, 467-474.
- 21) Suwabe, K., H. Tsukazaki, H. Iketani, K. Hatakeyama, M. Fujimura, T. Nunome, H. Fukuoka, S. Matsumoto and M. Hirai (2003): Identification of two loci for resistance to clubroot (*Plasmiodiophora brassicae* Woronin) in *Brassica rapa* L. *Theor. Appl. Genet.*, **107**, 997-1002.
- 22) Suwabe, K., H. Tsukada, H. Iketani, K. Hatakeyama, M. Kondo, M. Fujimura, T. Nunome, H. Fukuoka, M. Hirai and S. Matsumoto (2006): Simple sequence repeat-based comparative genomics between *Brassica rapa* and *Arabidopsis thaliana*: The genetic origin of clubroot resistance. *Genetics*, **173**, 309-319.
- 23) Suwabe, K., G. Suzuki, T. Nunome, K. Hatakeyama, Y. Mukai, H. Fukuoka and S. Matsumoto (2012): Microstructure of a *Brassica rapa* genome segment homoeologous to the resistance gene cluster on *Arabidopsis* chromosome 4. *Breed. Sci.*, **62**, 170-177.
- 24) 田中秀平 (2015): アブラナ科植物根こぶ病の病原性と病原力の多様性. 植物防疫, **69**, 625-629.
- 25) Tanaka, S., Mido H. and Ito S. (2006): Colonization by two isolates of *Plasmiodiophora brassicae* with differing pathogenicity on a clubroot-resistant cultivar of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. subsp. *pekinensis*). *J. Gen. plant Pathol.*, **72**, 205-209.
- 26) 對島誠也 (2003): 根こぶ病. 植物防疫, **57**, 233-236.
- 27) Ueno, H., E. Matsumoto, D. Aruga, S. Kitagawa, H. Matsumura and N. Hayashida (2012): Molecular characterization of the *CRa* gene conferring clubroot resistance in *Brassica rapa* L.. *Plant Mol. Biol.*, **80**, 621-629.
- 28) 内記隆 (1987): アブラナ科野菜根こぶ病菌の生活環からみた防除視点. 土と微生物, **29**, 23-36.
- 29) 吉川宏昭 (1976): アブラナ科野菜の根こぶ病抵抗性育種に関する諸問題. 農業および園芸, **51**, 1093-1098.
- 30) 吉川宏昭 (1993): アブラナ科野菜の根こぶ病抵抗性育種に関する研究. 野菜茶試研報, **A7**, 1-165.
- 31) Williams, P. H. (1966): A system for the determination of races of *Plasmiodiophora brassicae* that infect cabbage and rutabaga. *Phytopathology*, **56**, 624-626.
- 32) 野菜・茶業試験場 (1989): 根こぶ病抵抗性ハクサイ品種のり病化に関する緊急報告. 1-46.

Development of a Medium-Late Maturing Chinese Cabbage (*Brassica rapa* L.) F₁ Cultivar, 'CR Kanjiro' Harboring Two Clubroot Resistance Genes, *Crr1* and *Crr2*

Satoru Matsumoto, Katsunori Hatakeyama, Shinji Takashita, Toshio Miyazaki
and Tomohiro Kondo

Summary

Two clubroot resistance genes, *Crr1* and *Crr2*, derived from 'Hakusai Chukanbohon Nou 9 Go' (PL9) were introduced into both parents (RKG42 and Tu3) of the mid-late maturing Chinese cabbage cultivar 'Kanjiro', which lacked clubroot resistance, using marker-assisted selection. F₁ hybrids between each parent and PL9 were backcrossed with RKG42 or Tu3, and the progenies with two resistance genes were selected using B359, which is an InDel marker located on the in *Crr1* and *Crr2* linkage markers, 523A1R for RKG42 and BRMS-096 for Tu3. The DNA marker selection and backcrossing were repeated six times and progenies homozygous for the two introduced resistance genes were obtained by self-pollination. These resistance genes were also introduced into cytoplasmic male sterile (CMS) RKG42 using the BC₆F₂ selection line, CR_RKG83, as a pollen parent. Subsequently, new parent lines, CMS_CR_RKG83 and CR_Tu83, harboring the two clubroot resistance genes and the F₁ hybrid 'CR Kanjiro' were developed. The new parental lines and 'CR Kanjiro' showed resistance to three pathotypes, which were grouped based on differences in responses of the two CR cultivars, 'CR Ryutoku' and 'SCR Hiroki'. The new F₁ hybrid 'CR Kanjiro' showed high clubroot resistance in pot and field tests. Phenotypic characters of 'CR Kanjiro' were identical to those of 'Kanjiro' with medium-late maturation.