

兵庫県・丹波黒栽培地域におけるダイズ茎疫病菌のレースの分布 及び抵抗性育種母本の選定

杉本琢真*・吉田晋弥*・相野公孝*・渡辺和彦**・入江和己***

要 約

兵庫県の丹波黒栽培地域においてダイズ茎疫病の被害が増加傾向にある。そこで本稿では兵庫県の丹波黒栽培地域における茎疫病の発生状況と茎疫病菌のレース分布を明らかにし、抵抗性品種育成のための育種母本の選定を実施した。

- 1 2002～2005年にかけて県内5地域における茎疫病の発生状況を調査した結果、4か年の発病株率の平均値は13.2%となった。分離菌の形態は既報の*Phytophthora sojae*の形態と一致した。
- 2 茎疫病菌のレース検定手法として寒天培地接種法を開発した。本接種方法は既存の方法に比べ、簡便かつ省力であり、検定に要する期間を大幅に短縮できた。
- 3 県内5地域から分離した68菌株のレース検定を行った結果、県内には8レースが存在し、主要レースはEであり、次いでAが多く存在した。
- 4 県内で有効な育種母本の探索を行った結果、全68菌株に抵抗性を示すゲデンシラズ1号、PI103091、64菌株に対して抵抗性を示す黄宝珠が有望であることを明らかにした。

Racial diversity of *Phytophthora sojae* in *Glycine max* cv. Tanbakuro producing areas in Hyogo, and selection of parental soybean(s) for breeding new resistant cultivars

Takuma SUGIMOTO, Shinya YOSHIDA, Masataka AINO, Kazuhiko WATANABE, and Kazumi IRIE

Summary

Phytophthora stem rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merr. cv. Tanbakuro), caused by *Phytophthora sojae* Kaufman and Gerdemann, has been increasing in Hyogo. This study investigated the disease occurrence of Phytophthora stem rot of soybean in cv. Tanbakuro producing areas in Hyogo during 2002-2005, pathogenic races of *P. sojae*, and parental lines for developing Phytophthora stem rot-resistant cultivars.

The incidence of Phytophthora stem rot disease in five regions in Hyogo was 13.2% from 2002 to 2005. The morphological characteristics of *P. sojae* isolates in Hyogo were identical to those of *P. sojae*.

A novel inoculation technique of 'the agar medium inoculation method' was developed. The evaluation period was from 10 to 15 days earlier than the conventional flooding inoculation method.

Sixty-eight isolates represented eight different virulence phenotypes. Race E was the most prevalent in Hyogo in 2002-2005, followed by race A.

Cultivars 'Gedenshirazu-1' and 'PI103091', which were strongly resistant to all 68 isolates, and cv. 'Ohojyu', which was resistant to 64 of all the 68 isolates, were selected as parental lines for breeding new resistant cultivars having the desirable traits of cv. Tanbakuro.

2009年8月31日受理

*兵庫県立農林水産技術総合センター農業技術センター

**兵庫県立農林水産技術総合センター農業大学校，東京農業大学

***元兵庫県立農林水産技術総合センター，現明治製菓株式会社

キーワード：ダイズ茎疫病，丹波黒，抵抗性遺伝子，*Phytophthora sojae*，レース分布

緒 言

ダイズ茎疫病 (*Phytophthora stem and root rot disease* [以下，茎疫病]) は *Phytophthora sojae* (Kaufmann and Gerdemann) を病原とする土壌伝染性の難防除病害である。茎疫病は1951年に米国オハイオ州において初発が確認され¹⁴⁾，その後，世界各国 (アルゼンチン，オーストラリア，ブラジル，カナダ，中国，ハンガリー，イタリアなど) のダイズ栽培地域において発生が認められている²⁵⁾。

茎疫病に感染したダイズは生育初期では苗立枯症状 (図1-1) を示し，生育中後期においては主茎の地際部に褐色で水浸状の病斑を形成するとともに茎枯症状を呈し (図1-2)，感染後約1週間程度で萎凋・枯死する。圃場における茎疫病菌の発生拡大は降雨や水入れ後に土壌中での耐久生存器官である卵胞子が短期間に発芽して遊走子のうを形成し，多量の遊走子が放出されること，または罹病株に形成された遊走子のうから多数の遊走子が放出されることに起因する²³⁾。

茎疫病は日本においては1977年に北海道池田町で初発が確認された³²⁾。その後，静岡³⁰⁾，山形²²⁾，秋田⁸⁾，佐賀¹³⁾，富山¹⁹⁾などで発生が認められた。兵庫県においては1987年に本県の地域特産物である丹波黒において初発が確認され¹²⁾，現在も発生拡大が進んでいるが，1990年以降の発生状況に関する詳細な報告はない。また，兵庫県に存在する茎疫病菌の形態，培養特性 (生育温度等)，病原性などの調査もこれまで行われていなかった。

茎疫病菌にはダイズ品種に対する病原性の異なる系統 (レース) が報告されており，米国においては13種類の茎疫抵抗性遺伝子 (*Rps1a*，*1b*，*1c*，*1d*，*1k*，*Rps2*，*Rps3a*，*3b*，*3c*，*Rps4*，*Rps5*，*Rps6*，*Rps7*) に対する病原性型 (pathotypes) に基づいて55レースが分離・同定されている¹⁷⁾。日本では北海道において国産ダイズ6品種 (イスズ，中生光黒，キタムスメ，トヨスズ，黄宝

珠，ゲデンシラス1号) を判別品種として10レース (A～J) が同定されたが³⁴⁾，その他の地域においては報告例がなかった。兵庫県における茎疫病菌の防除対策を確実なものにするためには，県内に存在する茎疫病の特徴を明らかにし，抵抗性育種母本を探索する上で県内の茎疫病菌のレース分布の把握が不可欠であると考えた。

これまで日本で利用されてきたレース検定手法としては爪楊枝接種法³⁴⁾，土壌接種法³³⁾などがあるが，検定に比較的長期間を要する上，菌株によって再現性が低い事例が報告された³¹⁾。この原因としては接種部位の湿度の低下，雑菌のコンタミネーションが考えられた。このため，高精度なレース検定手法の確立が必要であった。

本稿ではまず 兵庫県における茎疫病菌の発生状況と分離菌の形態調査を行い，次に 効率的なレース検定法を実施する目的で寒天培地接種法を開発した。この手法を用いて 兵庫県の丹波黒栽培地域におけるレース検定を実施し，抵抗性品種育成のための育種母本の選定を実施した。これらについて現時点までの取り組みをまとめる。

1. 兵庫県における茎疫病菌の発生状況と茎疫病菌の同定材料及び方法

1) 茎疫病菌の発生状況

2002～2005年にかけて兵庫県内の主要な丹波黒栽培地域 (篠山，加西，西脇，和田山，豊岡) の合計82圃場において茎疫病菌の発生状況を調査した。罹病株は枯死または地際部の水浸状の病斑形成を肉眼で判定し，各圃場内の5か所 (1か所当たり連続20株)，合計100株中の罹病株数を8月上旬～9月下旬にかけて計数し，その平均値から発病株率を算出した。

2) 茎疫病菌の分離

罹病したダイズを現地から株ごと持ち帰り，褐変した罹病部分をナイフで切り取った。この罹病組織を水洗後，70% アルコールで1分間表面殺菌し，1.0% NaOCl 溶液で5分間殺菌し，水道水で3回洗浄した。この組織をメスで細断して疫病菌選択成分BNPRA-HMI¹⁸⁾ (培地1リットル当たり，20mg benomyl，25mg nystatin，25mg PCNB，10mg rifampicin，500mg ampicillin，25mg 3-hydroxy-5-methylisoxazole) を含んだポテトデキストロース (PDA) 培地 (培地1リットル当たり2.7g potato dextrose powder，15g sugar，10g agar，日水製薬製) に27℃で5日間置床した。菌糸の伸長を確認した後，その先端を同成分の培地に再



図1 ダイズ茎疫病菌の病徴
1-1 苗立枯症状 (品種はエンレイ)
1-2 茎枯症状 (品種は丹波黒)

度移植し、この作業を2回繰り返した。

3) 茎疫病菌の形態調査

分離した菌株のうちの51菌株についてはPDA又はコーンミール(CMA)培地(培地1リットル当たり2.0g corn meal powder, 15g sugar, 15g agar, 日水製薬製)で7日間培養後、卵孢子、遊走子のう、蔵精器の大きさ、形状、生育最適温度を2~3反復で測定した。ただし、生育最適温度に関しては、23, 25, 27, 29の各温度で菌そうの直径を測定した。以上の試験には農林水産省ジーンバンクコレクションに保存されている北海道産茎疫病分離菌株(MAFF 235802, MAFF 235803, MAFF 235804)を形態観察のための標準菌株として入手し、同時に調査を行った。

結果と考察

1) 茎疫病の発生状況

2002年, 2003年, 2004年, 2005年の平均発病株率はそれぞれ14.3%, 17.8%, 9.3%, 11.3%で4か年の平均値は13.2%となった。2002~2005年の地域別の平均発病株率は篠山13.1%, 加西8.1%, 西脇14.9%であり, 和田山と豊岡は2005年だけのデータで7.3%, 20.0%であった(表1)。

2) 茎疫病菌の分離

表1に示した兵庫県内の82圃場から68菌株を分離した。

3) 茎疫病菌の形態調査

2002~2006年に採集した兵庫県産の茎疫病分離菌株の形態を図2, 表2に示した。菌糸は隔膜を持たず菌糸幅が不均一で中間部には膨らみが見られた。蔵卵器は球状で直径32.0~41.0 μm (平均36.0 μm), 蔵精器はほとんどが側着で長さ12.5~20.0 μm (平均15.4 μm) \times 幅9.4~20.0 μm (平均11.1 μm)であった。遊走子のうは洋なし型又は球形で長さ35.0~48.0 μm (平均41.0 μm) \times 幅21.0

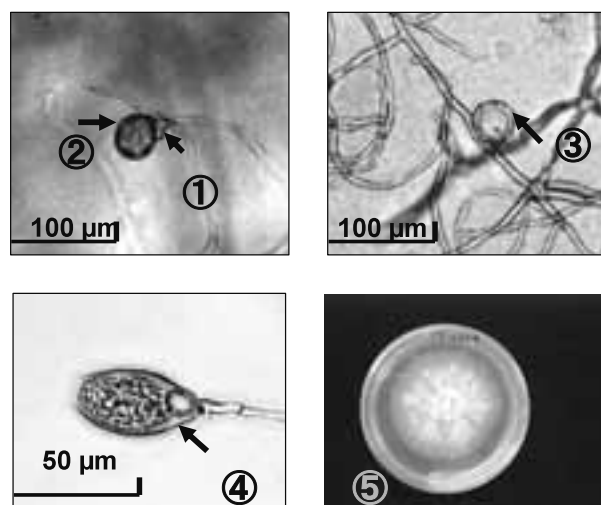


図2 ダイズ茎疫病菌の形態

蔵精器, 蔵卵器, 卵孢子, 遊走子のう, 菌そう

表1 丹波黒栽培地域における茎疫病の発生状況^a

年		調査地域					総計
		篠山	加西	西脇	和田山	豊岡	
2002	発病株率(%)	16.4	9.0	17.7	-	-	14.4
	調査圃場数	5	3	6	-	-	14
	分離菌株数	5	3	6	-	-	14
2003	発病株率(%)	14.9	-	20.7	-	-	17.8
	調査圃場数	11	-	3	-	-	14
	分離菌株数	11	-	3	-	-	14
2004	発病株率(%)	12.2	4.7	11.1	-	-	9.3
	調査圃場数	13	3	7	-	-	23
	分離菌株数	13	3	7	-	-	23
2005	発病株率(%)	8.8	10.7	10.0	7.3	20.0	11.4
	調査圃場数	12	6	8	4	1	31
	分離菌株数	4	4	5	3	1	17
総計	発病株率(%)	13.1	8.1	14.9	7.3	20.0	13.2
	調査圃場数	41	12	24	4	1	82
	分離菌株数	33	10	21	3	1	68

^a発病調査は各圃場内の5か所(1か所当たり連続20株), 合計100株中の罹病株数を8月上旬~9月下旬にかけて計数し, その平均値から発病株率を算出した。

- : 調査未実施

～27.5μm（平均24.0μm）であり，乳頭突起は確認できなかった．生育最適温度に関しては菌株により若干の相違がみられ，22～25 であった．

一方，北海道産茎疫病分離菌株（MAFF235802，MAFF 235803，MAFF 235804）の形態は次の通りであった（表2）．菌糸の形態は兵庫県産分離菌株と同様であった．蔵卵器は球状で直径29.0～40.0μm（平均34.0μm），蔵精器は側着で長さ11.0～21.0μm（平均13.0μm）×幅9.0～15.0μm（平均12.0μm）であった．遊走子のうは洋なし型で長さ28.0～43.0μm（平均35.0μm）×幅23.0～25.0μm（平均22.0μm）であり乳頭突起は確認できなかった．生育最適温度に関しては23～24 であった．以上の結果から兵庫県産分離菌株と北海道産茎疫病分離菌株の形態的な特徴の間には明確な差は認められず，既報の *Phytophthora sojae* の形状¹¹⁾ と一致したため，本病原菌はダイズ茎疫病菌と判断した．

2. 茎疫病菌のレース検定手法の開発

材料及び方法

1) 土壤接種法

既報の土壤接種法³³⁾ によって茎疫病菌の病原性を確認するために図3に示す手順で検定を行った．まず，丹波黒（兵系黒3号）種子を水洗し70% アルコールで30秒間表面殺菌した後，1.0% NaOCl 溶液に8分間浸漬させ種子消毒処理を行った．これを育苗用滅菌培養土（サカタ種苗・プライムミックス）とパーミュキュライトを1：2に混合した滅菌土壌にあらかじめ播種した．播種後約10日目に初生葉を確認後，検定苗として準備した．この検定苗を病土に移植し，直ちに地際部から1cmの湛水処理を行い，10日間ビニールシールで被覆した上で23℃，16L-8D条件に設定したインキュベーター（三洋電機製 グロースキャビネット MLR-350）内で保湿管

理した．ただし，病土は検定苗を準備したものと同一の滅菌土壌約1000mlに対し，PDA培地上で23℃，20日間培養した5菌株（PJ-H02，PJ-H04，PJ-H05，PJ-H09，PJ-H10）（直径約9cm，高さ3mmの菌そう1枚）をそれぞれよく混和し，滅菌水を注入して十分に湿度を含ませた後，50穴のプラグトレイに敷き詰めた．対照として滅菌土壌のみの無処理区も設けた．調査は無処理区と比較して枯死または地際部の水浸状の病斑形成を肉眼で判定し，発病株率を算出した．

2) 寒天培地接種法

効率的な接種法を検討するために図4に示す手順で検定を行った．検定用培地として次の2種類を用意した．

様々な無機元素が入った植物組織培養用B5成分⁹⁾入りシヨ糖寒天培地100ml（シヨ糖1.0%，寒天1.0%）（以下，B5培地），蒸留水のみが入ったシヨ糖寒天培地100ml（同濃度）（以下，シヨ糖寒天培地）を大型マヨネーズ瓶（容量900ml；直径8cm，高さ20cm）に入れ，121℃，15分間オートクレーブ処理をして作成した．これに土壤接種法と同条件で種子消毒処理した丹波黒（兵系黒3号）種子又は中生光黒種子を5-8粒播種し，23℃の恒温器内で発芽させた．播種後約10日目に初生葉を確認後，23℃で約20日間培養した3mm角の菌そうをダイズ胚軸最下部（地際部）を覆う程度に2個置床し，土壤接種法で用いたインキュベーターと同じ条件下で管理した．接種10日後及び20日後に土壤接種法と同条件で発病個体を毎日計数した．供試菌株は土壤接種法と同一とした．

結果と考察

1) 土壤接種法

土壤接種法は病原菌を寒天培地とともに土壌に混和し，湛水処理によって遊走子のうが水媒伝染する性質を利用した方法で，自然の発病条件に比較的近いと考えら

表2 兵庫県内で採集したダイズ茎疫病菌と既存菌株の形態の比較

分離地域	菌糸の形状	蔵卵器		蔵精器	
		形状	(μ m)	形状	(μ m)
兵庫県	隔膜なし	球状	32.0～41.0	側着	12.5～20.0×9.4～20.0
北海道（MAFF）	隔膜なし	球状	29.0～40.0	側着	11.0～21.0×9.0～15.0
米国*	隔膜なし	球状	24～46	側着	13×15

* (Hildebrand, 1959)

大きさ (μ m)	遊走子のう		生育最適温度 ()
	形状	乳頭突起	
35.0～48.0×21.0～27.5	洋なし型	無	22～25
28.0～43.0×23.0～25.0	洋なし型	無	23～24
32～52.5×23～35	洋なし型	無	25

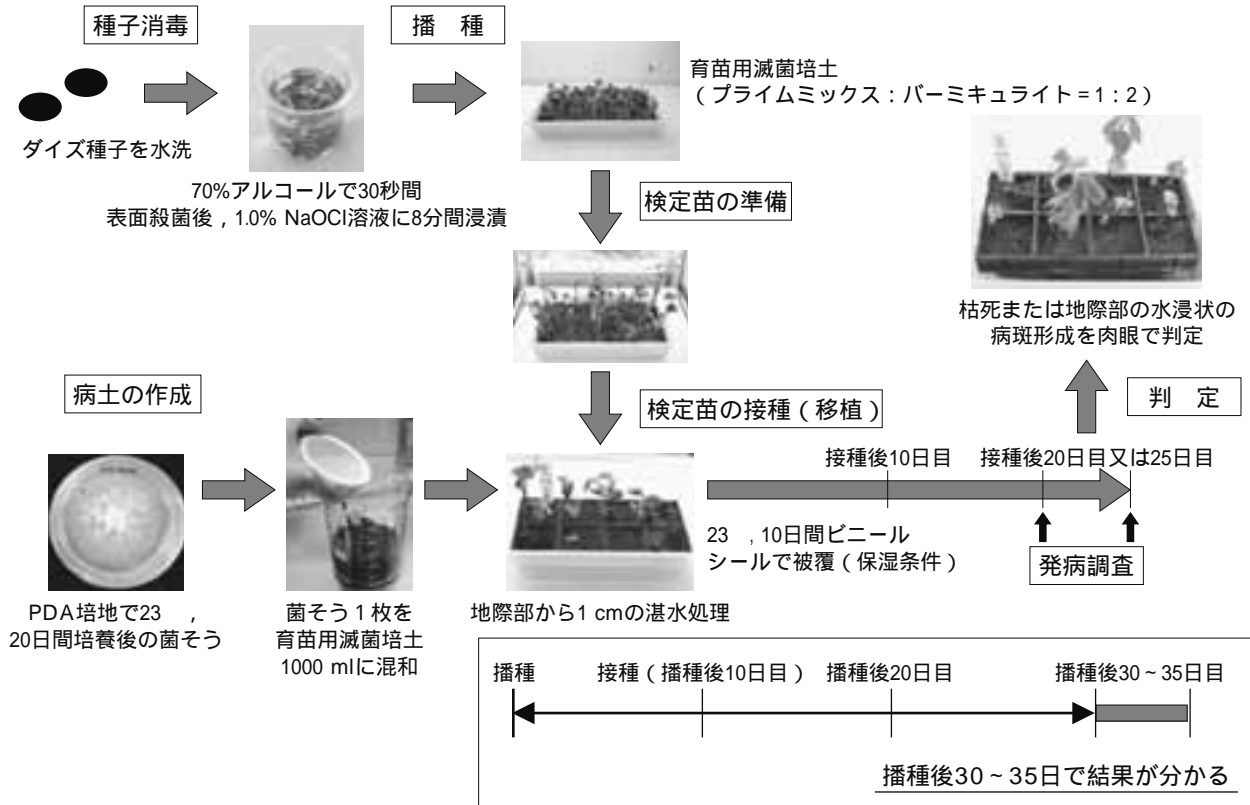


図3 土壌接種法の手順（23℃, 16L-8D条件）

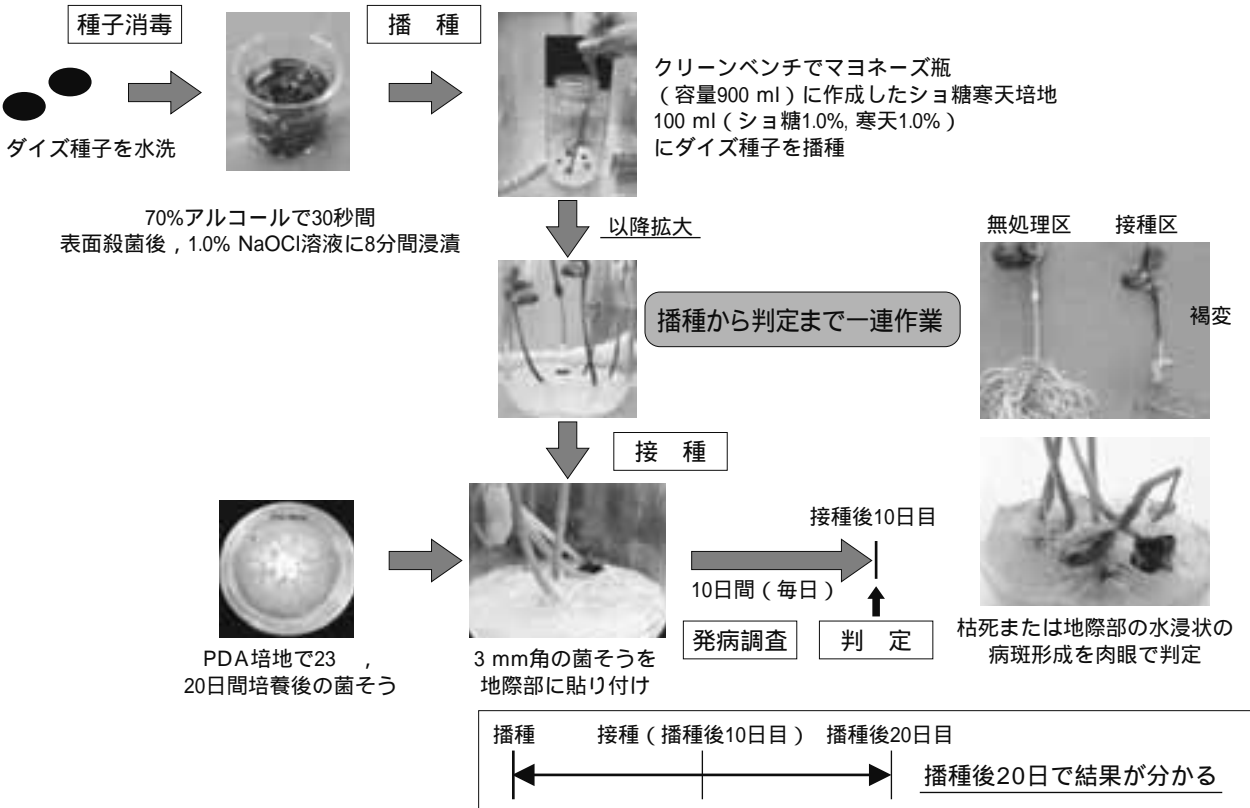


図4 寒天培地接種法の手順（23℃, 16L-8D条件）

表3 土壌接種法による茎疫病菌の病原性判定

菌株名	PJ-H02		PJ-H04*		PJ-H05*		PJ-H09*		PJ-H10	
接種後日数(日)	10	20	10	25	10	25	10	25	10	20
発病数/供試数	0/7	5/7	0/7	6/7	0/8	6/8	0/4	2/4	0/8	8/8
発病株率(%)	0	71	0	86	0	75	0	50	0	100
病原性の有無	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+

供試品種：丹波黒(兵系黒3号)*3菌株については2回目の判定を接種25日後に行った。

表4 寒天培地接種法による茎疫病菌の病原性判定

菌株名	PJ-H02		PJ-H04		PJ-H05		PJ-H09		PJ-H10	
病徴発現日数(日)	4.2		7.5		5.4		5.3		5.6	
接種後日数(日)	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20
発病数/供試数	5/5	5/5	8/10	10/10	5/5	5/5	4/5	5/5	3/5	5/5
発病株率(%)	100	100	80	100	100	100	80	100	60	100
病原性の有無	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

供試品種：丹波黒(兵系黒3号), 病徴発現日数：菌を接種してから初発確認までの平均日数

れていた³³⁾。土屋(1988)はアズキ茎疫病菌の検定において土壌接種法による室内幼苗検定と圃場検定とを比較しており、両検定の相関の高さを報告している。以上のことから有傷接種でない慣行法として土壌接種法を試みた。その結果、菌接種後10日目では病徴を全く確認できず、20日、25日後にはじめて確認することができたが、発病株率が相対的に低く、100%に達した区はPJ-H10を用いたときのみであった。また検定には長期間を要したため、新たな検定手法の確立が必要と考えられた(表3)。

2) 寒天培地接種法

接種判定に要する期間を短縮する目的で寒天培地接種法を試みた。B5培地上で生育させたダイズの接種検定の結果、発病株率は接種後7日目では23.0%、16日目では40.0%となった(図5)。この培地からB5成分を除去したシヨ糖寒天培地を用いた時の発病株率は接種後7日

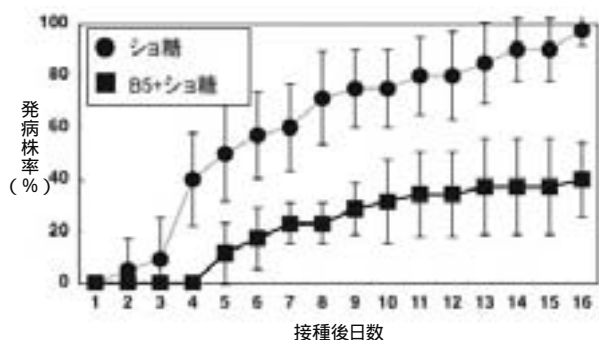


図5 B5-シヨ糖寒天培地とシヨ糖寒天培地を用いた茎疫病の検定

目で61.9%、16日目で97.6%となりほとんどの植物を感染させることに成功した(図5, 6)。このB5培地に含まれる発病阻害物質については無機多量要素に含まれる硝酸カリウム、塩化カルシウムであることが後の研究で明らかとなった²⁸⁾。

このシヨ糖寒天培地を用いて5種類の茎疫病菌の病原性を検定した結果、最短で4.2日、遅くとも10日、平均5.6日で発病を確認でき高精度な検定方法であることが確認できた(表4)。

以上のように、シヨ糖のみを含む寒天培地接種法は土壌接種法に比べて10~15日判定期間を短縮することができた。これは寒天培地接種法では密閉した培養容器を用いるため、土壌接種法に比べて相対湿度が高く、菌糸の



図6 寒天培地接種法による発病検定(レースE接種後16日目)

生育がより良好であったためと考えられる。また、本方法は滅菌した寒天、培養容器および殺菌処理をした種子を使用するため、雑菌のコンタミネーションは最小限に抑えることが可能である。さらに爪楊枝接種法³⁴⁾のように接種部位を脱脂綿で覆う手間も省け、省力化にもつながる²⁶⁾。以上のことから本接種法はレース検定だけでなくダイズ品種の真性抵抗性遺伝子を探索する上でも利用可能と考えられた。

3. 兵庫県における茎疫病菌のレース分布の解明と育種母本の選定

材料及び方法

1) 兵庫県における茎疫病菌のレース分布

供試菌は2002～2005年に丹波黒主要産地の82圃場から分離した合計68菌株を用いた。レース検定には北海道立上川農業試験場においてレース判別品種として利用されている6品種(イスズ, 中生光黒, キタムスメ, トヨスズ, ゲデンシラズ1号及び黄宝珠)を北海道立植物遺伝資源センターより入手し、1品種当たり10本以上を試験に供試し2反復で試験を行った。検定方法は寒天培地接種法を用い、発病株率が20%以上のものをS(罹病性)、20%未満をR(抵抗性)とし、これら6品種の反応パターンを既報の結果³⁴⁾(表5)と比較することでレースを判定した。ダイズ品種に対する菌株の反応がこれまでの報告に該当しない場合は生物検定をさらに3回追試し、再現性を確認した上で新レースとした。各菌株のレース判別の結果は丹波黒栽培地域におけるレース分布を把握するため、地図上に反映した。以上の試験には罹病性品種として丹波黒(兵系黒3号)、真性抵抗性遺伝子を持たないWilliams(*rps*)を供試した。播種方法、播種用器具、接種方法、発病調査は寒天培地接種法と同条件で実施した。

2) 育種母本の選抜

兵庫県に存在する主要茎疫病菌レースに対して有

効な抵抗性育種母本を探索するため、米国の判別品種[PI103091(*Rps1d*)⁵⁾, Altona(*Rps6*)³⁾, Harosoy63(*Rps1a+Rps7*)¹⁶⁾]及び北海道で茎疫病に強いと考えられているワセシロゲ³⁴⁾、日本産黄ダイズ3品種(エンレイ, サチユタカ, フクユタカ)、圃場抵抗性遺伝子を持つとされるConrad(*rps*)⁶⁾、抵抗性遺伝子が決定されていないSloan⁶⁾をUSDA(アメリカ農務省)から導入し、合計15品種を用い高度な抵抗性を示す品種を探索した。以上の試験には罹病性品種として兵系黒3号, Williams(*rps*)を供試した。播種方法、播種用器具、接種方法、発病調査は寒天培地接種法と同条件で実施した。

結果と考察

1) 兵庫県における茎疫病菌のレース分布

国内のレース判別品種を用いて寒天培地接種法によるレース検定を行った結果を表5、6及び図6、7に示す。罹病性品種である兵系黒3号、真性抵抗性遺伝子を持たないWilliamsは全ての菌株に対して高い発病(90～100%)を示した。2002～2006年にかけて分離した茎疫病菌68菌株のレース検定の結果、兵庫県には既報³⁴⁾の4レース(A, C, D, E)の他、4種類の新レース(K, L, M, N)の存在が明らかとなり、レースEが主要レースであることが判明した(表5、6、図7)。すなわち、全体の64.7%(44/68)はレースEであり、次いで多く見られたレースはAで20.6%(14/68)、レースCは1.5%(2/68)、レースDは1.5%(1/68)、既報の10レースに該当しない新レースは全体の11.8%(8/68)であった。また北海道で確認されたレースB, F, G, H, I及びJは検出できなかった(表5)。一方、北海道の主要レースはDであり、次いでA, Jが存在することが報告されていることから³⁴⁾、兵庫県と北海道におけるレース分布には相違が認められた。

本試験で同定した新レースのうち、篠山地域から分離

表5 日本で報告されているダイズ茎疫病菌のレース

判別品種	茎疫病菌のレース ^{a)}													
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
イスズ	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R
中生光黒	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R
キタムスメ	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R
トヨスズ	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S	R	R	R	R
ゲデンシラズ1号	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R
黄宝珠	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R

^{a)} A～Jは土屋らの報告(1990)、K～Nは杉本らの報告(2006)による。

したレースKはイスズと黄宝珠に病原性を示したが，中生光黒，キタムスメ，トヨスズ，ゲデンシラス1号には病原性を示さなかった．西脇，篠山地域から分離したレースLはイスズにのみ病原性を示した．これら2種類のレースはキタムスメに対して病原性が認められなかったため，国内で初めて確認されたタイプであった．加西地域から分離したレースMはキタムスメにのみ病原性を示した．また，3種類の新レース（K，L，M）は他レース（A，C，D，E）に比べて病原性が低い傾向であった．一方，西脇地域から分離したPJ-H12菌株は全ての判別品種に対して病原性を示さなかったが，兵系黒3号とWilliamsには病原性を示した．このことから本菌株は茎疫病菌と考えられ，レースNと同定した．

2002～2005年までの調査においては主要レースEの変遷は確認できなかった．一方，国外における研究ではダイズ栽培地域によるレース分布の相違とレースの年次変化について報告がある．この変化の要因の一つとして抵抗性遺伝子を保有するダイズ品種の栽培が年によって変更されることに伴い，品種に親和性の菌と非親和性の菌の割合が変化することに起因すると考えられている^{2,20}．このことから，2002～2005年にかけて兵庫県的主要レースに変化が見られなかった理由としては，兵庫県においては単一の品種（丹波黒）が栽培されていたためであると考えられた．この点については今後も長期的な継続調査が必要である．

菌株採集地域別のレース分布を調査した結果，篠山地域ではレースEが81.8%（27/33）と主要であった．一方，



図7 兵庫県におけるダイズ茎疫病菌のレース分布

西脇地域ではレースAが全体の50.0%（10/20）を占めた．加西地域においてはレースEが多く存在し，レースの地域分布に相違が認められた（図7）．この結果からそれぞれの菌株（レース）は個々の地域で進化してきた可能性，また主要レースが存在する一方で，圃場には様々なレースが混在していることが判明した．この傾向は米国オハイオ州²⁴，インディアナ州¹⁶，アイオワ州³⁵，オーストラリア²⁰においても報告されている．以上の結果から，茎疫病抵抗性品種の育成についてはそれぞれの地域の主要レースを把握した上で，その地域に対応した品種の育成と導入が重要である．

表6 兵庫県の丹波黒栽培地域における茎疫病菌のレース分布

年	地域	菌株数	レース（菌株数）													
			A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
2002	篠山	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	西脇	6	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	加西	3	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2003	篠山	11	2	0	0	1	7	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	西脇	3	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2004	篠山	13	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	西脇	7	3	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	加西	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
2005	篠山	4	1	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	西脇	4	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	加西	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	和田山	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	豊岡	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
集計		68	14	0	1	1	44	0	0	0	0	0	2	2	3	1
割合（%）		-	20.6	0	1.5	1.5	64.7	0	0	0	0	0	2.9	2.9	4.4	1.5

以上の結論として兵庫県の茎疫病菌の主要レースはE及びAであることが判明したが、より有望な抵抗性品種を導入するためにも今後も継続してレース変化を調査する必要がある。

2) 育種母本の選抜

兵庫県における主要レースはレースE及びAであったため、この2レースに対するダイズ15品種の反応を調査した結果、ゲデンシラズ1号、黄宝珠、PI103091 (*Rps1d*) は両菌株に対して抵抗性を示した(表7)。これらの品種については確認のため、全68菌株に対する反応を調査した結果、ゲデンシラズ1号、PI103091は全68菌株に対して完全な抵抗性を示し、黄宝珠は68菌株中64菌株に抵抗性を示した。*Rps1d*遺伝子に関しては世界的に見ても多くの茎疫病菌レースに対して有効であることが報告されており、本試験の結果と一致した^{1, 27)}。北海道で抵抗性が「強」と考えられているワセシロゲ³⁴⁾は主要レースEに対して罹病性反応を示した。このことからレースAが分布する西脇地域の圃場においては利用の可能性があると考えられた(表7)。国産黄ダイズ3品種(エンレイ、サチユタカ、フクユタカ)に関しては両レースに罹病性反応を示したため、育種母本として利用できない

表7 ダイズ茎疫病菌レースE及びAに対する各種大豆の反応

大豆品種	抵抗性遺伝子	Race E	Race A
イスズ	ND	S	S
中生光黒	ND	S	R
キタムスメ	ND	S	S
ゲデンシラズ1号	ND	R	R
黄宝珠	ND	R	R
トヨスズ	ND	S	R
ワセシロゲ	ND	S	R
エンレイ	ND	S	S
サチユタカ	ND	S	S
フクユタカ	ND	S	S
Altona	<i>Rps6</i> ³⁾	S	S
PI103091	<i>Rps1d</i> ⁵⁾	R	R
Harosoy 63	<i>Rps1a+Rps7</i> ¹⁶⁾	R/S	R
Conrad	ND(圃場抵抗性) ⁶⁾	S	S
Sloan	ND ⁶⁾	S	S
Williams	<i>rps</i>	S	S
丹波黒(兵系黒3号)	ND	S	S

ND: 抵抗性遺伝子が未同定, R: 抵抗性, S:: 罹病性

2) Buzzell and Anderson(1992), 3) Athow and Laviolette(1982)

6) Dorrance et al(2003), 16) Laviolette and Athow(1981)

と判断した。

Altona (*Rps6*) は両レースに罹病性反応を示した。Harosoy63 (*Rps1a+Rps7*) はレースAに対しては抵抗性反応を示したが、レースEに対しては抵抗性反応及び罹病性反応を示す菌株が存在し、レースEに関してはレースE-1、レースE-2に分類する必要があると考えられた(表7)。このことから、日本には最低15レース(北海道10レース+本県新レース4+E-2)が存在すると推察できた。圃場抵抗性を持つとされるConrad, Sloanは両レースに対して罹病性反応を示した。以上の結果から、PI103091 (*Rps1d*) とゲデンシラズ1号、黄宝珠が育種母本として有望であると考えられ、この観点から現在はPI103091 (*Rps1d*) 又はゲデンシラズ1号と兵系黒3号との交配系統から抵抗性黒ダイズ系統を育成中である²⁹⁾。

しかし、近年になって単一の抵抗性遺伝子のみを持ったダイズ栽培を続けた場合、茎疫病菌が病原性を変化させることによりその抵抗性遺伝子が打破される可能性がある²⁵⁾。このことを回避するため、新レースが出現する以前に、新たな遺伝資源を探索しておく必要がある。例えばダイズ品種Kingwaに存在する*Rps1k*は世界的に有望な抵抗性遺伝子であることが報告されている¹⁾。また、近年ではPI399073に存在する*Rps8*^{10, 21)}は世界的に最も優れた抵抗性遺伝子として報告されており、こうした遺伝資源は兵庫県産茎疫病菌に対しても有効な可能性があるため、本邦に導入後、検討する必要がある。同時に既報の抵抗性遺伝子を持ったダイズだけでなく、様々なダイズ遺伝資源から新たな育種母本を探索することが重要な課題であると考えられる。これまでの研究によって世界各国から様々なダイズ系統が収集され抵抗性検定が実施された。その結果、韓国または中国由来のダイズが新たな茎疫病抵抗性遺伝子を保有している可能性が報告されている^{4, 7, 15)}。遺伝的多様性を持ったこれらの地域あるいは日本各地からダイズを収集し検定を行うことで*Rps1d*以外に有効な抵抗性遺伝子を発見できる可能性がある。丹波黒(兵系黒3号)に対するこのような抵抗性遺伝子の利用に関しては*Rps1d*、あるいはゲデンシラズ1号やワセシロゲなど、他の抵抗性遺伝子を単独ないし、複数個を組み合わせ導入することも重要と考えられる。

謝 辞

本試験を開始するにあたり、故樋本英司氏には茎疫病発生圃場の把握、調査などにおいて大変お世話になった。この場をかりて感謝の意を述べる。

引用文献

- Abney, T. S. , J. C. Melgar, T. L. Richards, D. H. Scott, J. Grogan and J. Young (1997) : New races of *Phytophthora sojae* with Rps1-d virulence. Plant Dis. 81, 653-655
- Anderson, T. R. and R. I. Buzzell (1992) : Inheritance and linkage of the Rps7 gene for resistance to *Phytophthora* rot of soybean. Plant Dis. 76, 958-959
- Athow, K. L. , and F. A. Laviolette (1982) : *Rps6*, a major gene for resistance to *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* in soybean. Phytopathology 72, 1564-1567
- Burnham K. D. , D. M. Francis, A. E. Dorrance, R. J. Fioritto, and S. K. St. Martin (2002) : Genetic diversity patterns among *Phytophthora* resistant soybean plant introductions based on SSR markers. Crop Sci. 42, 338-343
- Buzzell, R. I. , and T. R. Anderson (1992) : Inheritance and race reaction of a new soybean *Rps1* allele. Plant Dis. 76, 600-601.
- Dorrance, A. E. , S. A. McClure, and S. K. St. Martin (2003) : Effect of partial resistance on *Phytophthora* stem rot incidence and yield of soybean in Ohio. Plant Dis. 87, 308-312
- Dorrance, A. E. , and A. F. Schmitthenner (2000) : New sources of resistance to *Phytophthora sojae* in the soybean plant introductions. Plant Dis. 84, 1303-1308
- 古屋廣光・松本勤・神谷清之助 (1982) : 八郎瀧干拓地内の水田転換畑に発生したダイズ幼苗の立枯症 : 日植病報48, 348
- Gamborg, O. L. , R. A. Miller and K. Ojima (1968) : Nutrient requirement suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50, 151-158
- Gordon, S. G. , S. K. St. Martin and A. E. Dorrance (2006) : *Rps8* maps to a resistance gene rich region on soybean molecular linkage group F. Crop Sci. 46, 168-173
- Hildebrand, A. A. (1959) : A root rot and stalk rot of soybeans caused by *Phytophthora megasperma* Drechsler var. *sojae* var. nov. Can. J. Bot. 37, 927-957
- 入江和己・相野公孝・衣笠哲生 (1990) : 兵庫県における黒大豆の立枯性病害の発生について : 関西病虫研報 32, 52
- 菅正道・横尾浩明・松崎正文 (1984) : ダイズ茎疫病菌によるダイズの苗立枯れ症 : 九州病虫研報 30, 36-37
- Kaufmann, M. J. and J. W. Gerdemann (1958) : Root and stem rot of soybean caused by *Phytophthora sojae* n. sp. Phytopathology 48, 201-208
- Kyle, D. E. , C. D. Nickell, R. L. Nelson and W. L. Pedersen (1998) : Response of soybean accessions from provinces in southern China to *Phytophthora sojae*. Plant Dis. 82, 555-559
- Laviolette, F. A. and K. L. Athow (1981) : Physiologic races of *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* in Indiana, 1973-1979. Plant Dis. 65, 884-885
- Leitz, R. A. , G. L. Hartmann, W. L. Pedersen and C. D. Nickell (2000) : Races of *Phytophthora sojae* on soybean in Illinois. Plant Dis. 84, 487.
- Masago, H. , M. Yoshikawa, M. Fukuda and N. Nakanishi (1977) : Selective inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plants. Phytopathology 67, 425-428
- 向島博之・梅沢順子 (2002) : 2002年に富山県で確認されたダイズ茎疫病の発生について : 日植病報 69, 60-61
- Ryley, M. J. , Obst, N. R. , Irwin, J. A. G. , and Drenth, A. 1998. Changes in the racial composition of *Phytophthora sojae* in Australia between 1979 and 1996. Plant Dis. 82 : 1048-1054.
- 夏 菱 Sandhu, D. , K. G. Schallock, N. Rivera-Velez, P. Lundeen, S. Cianzio and M. K. Bhattacharyya (2005) : Soybean *Phytophthora* resistance gene *Rps8* maps closely to the *Rps3* region. J. Hered. 96, 536-541
- 夏 佐藤利也・小林紀彦・駒田旦 (1981) : ダイズ茎疫病に対する品種抵抗性の差異について : 北日本病虫研報 32, 115-116
- 夏 菱 Schmitthenner, A. F. (1985) : Problems and progress in control of *Phytophthora* root rot of soybean. Plant Dis. 69, 362-368
- 夏 菱 Schmitthenner, A. F. , M. Hobe and R. G. Bhat (1994) : *Phytophthora sojae* races in Ohio over a 10- year interval. Plant Dis. 78, 269-276
- 夏 菱 Schmitthenner, A. F. (1999) : *Phytophthora* Rot of Soybean. Pages 39-42 in: Compendium of soybean

- diseases. G. L. Hartman, J. B. Sinclair, and J. C. Rupe, eds. 4th ed., The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- 嬰 杉本琢真・吉田晋弥・相野公孝・大西稔治・塩飽邦子(2003): ダイズ茎疫病菌のレース検定のための寒天培地接種法の開発: 関西病虫害研究会報 45, 93-96
- 夔 Sugimoto, T., S. Yoshida, M. Aino, K. Watanabe, K. Shiwaku and M. Sugimoto (2006): Race distribution of *Phytophthora sojae* on soybean in Hyogo, Japan. J. Gen. Plant Pathol. 72, 92-97
- 夕 Sugimoto, T., K. Watanabe, S. Yoshida, M. Aino, M. Matsuyama, K. Maekawa and K. Irie (2007): The effects of inorganic elements on the reduction of *Phytophthora* stem rot disease of soybean, the growth rate and zoospore release of *Phytophthora sojae*. J. Phytopathology 155, 97-107
- 外 Sugimoto, T., S. Yoshida, K. Watanabe, M. Aino, K. Maekawa, T. Kanto and K. Irie (2008): Identification of SSR markers linked to the *Phytophthora* stem rot resistance gene *Rps1d*. Plant Breed. 127, 154-159
- 死 鈴井孝仁・中村秀雄・森田儔(1980): 静岡県におけるダイズ茎疫病菌の発生と病原菌のレースについて: 日植病報46, 108
- 卯 田澤暁子(2002): ダイズ茎疫病レースJ抵抗性と連鎖したSSRマーカー: 育・作北海道談話会会報43, 83-84.
- 夙 土屋貞夫(1978): *Phytophthora megasperma* var. *sojae* によるダイズの茎疫病(新称): 日植病報44, 351
- 多 土屋貞夫(1988): アズキ茎疫病とその棒状に関する研究: 北海道立農試研報72, 1-76
- 尋 土屋貞夫・田中文夫・足立大山(1990): 日本産品種によるダイズ茎疫病菌のレースの類別と抵抗性品種の探索: 日植病報 56, 144
- 夜 Yang, X. B., R. L. Ru, X. Q. Meng and F. Workneh (1996): Races of *Phytophthora sojae* in Iowa soybean fields. Plant Dis. 80, 1418-1420