

根こぶ病抵抗性「CRはなっこりー1号」の育成

藤井 宏栄

Breeding of 'CR Hanakkori 1 go' with Resistance to Clubroot Disease

FUJII Kouei

Abstract: 'CR Hanakkori 1 go,' a clubroot -resistant variety, was breed developed by crossing 'Hanakkori E2,' with the Chinese cabbage variety 'Kiai 65,' which carries the clubroot resistance gene *CRb*. Successive backcrossing with 'Hanakkori E2,' and selection using DNA markers led to its establishment. The results confirmed 'CR Hanakkori 1 go,' possesses a homozygous *CRb* gene, exhibits early maturity comparable to 'Hanakkori E2,' and demonstrates equal or greater yield and labor-saving properties.

Keywords: Chromosomes, Early maturity, High yield, Labor saving, Backcrossing

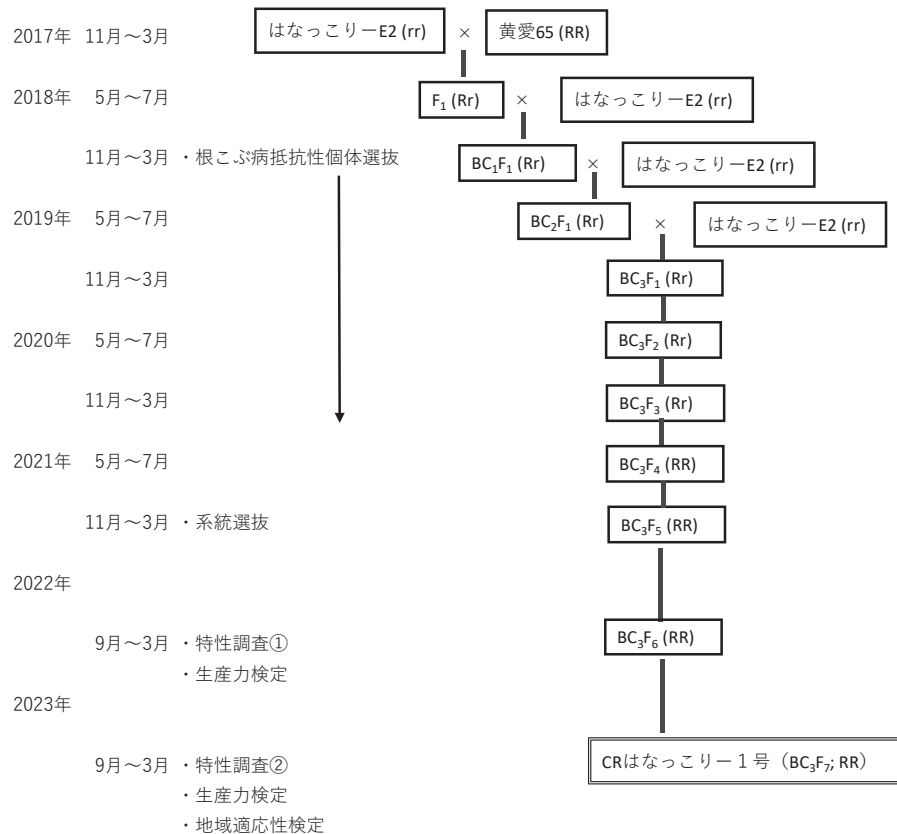
キーワード: 染色体、早生、高収量、省力性、戻し交雑

品種開発の背景

はなっこりーはサイシンとブロッコリーの交雑によって得られた合成ナプスで、花蕾とそれに続く茎や葉を食用とするナバナ野菜であり、1999年に山口県のオリジナル野菜として最初に品種登録され（松本ら、1997）、山口県全域で栽培面積を増やしながら普及した。その後、生産量の向上を目的に、最初に開発されたはなっこりー（以後、「初代はなっこりー」と呼ぶ）を年内収穫用の早生品種とし、厳寒期に生産性の高い中生品種「はなっこりーME」と晩生品種「はなっこりーL」を2010年に新たに開発した（藤井ら、2012）。これによって早生、中生、晩生品種が揃い、はなっこりーの生産性は大きく向上し、9月から翌年5月まで連続的に出荷する栽培体系が確立された。2016年には労働生産性の向上を目的に、「初代はなっこりー」を省力・多収品種へ改良し、新たな早生品種「はなっこりーE2」を開発した（藤井ら、2019）。はなっこりーは出荷袋の中で小花が開くと売れ残り品と見なされ、

商品性を失うため、調製時に開花している小花は手作業で除去することが必須となる。そこで、収穫時に蕾が開きにくい「はなっこりーE2」は労力削減に大きく貢献し、はなっこりーの労働生産性を大きく改善することとなった。このように、新たな早生、中生および晩生品種を開発し、産地に普及したことによって、実質的に、はなっこりーの安定生産や産地拡大が可能となった。しかし、産地の拡大に伴い、根こぶ病の被害が顕在化してきた。根こぶ病は *Plasmodiophora brassicae* Woronin によって引き起こされ（田中ら、1990）、キャベツ、ハクサイやブロッコリーなどのアブラナ科野菜にとって大きな被害となる土壌伝染性の難防除病害である。この根こぶ病菌は、現在4つのグループ（G1、G2、G3、G4）に分類されており（Hatakeyama ら、2004）、各病原菌グループに対して抵抗性のある遺伝子（*CRb*、*Crr1*、*Crr2*など）を利用してハクサイ、ナバナ、セイヨウナタネにおいて根こぶ病抵抗性の品種がこれまでに複数育成されている（田中ら、2023；Kawasaki ら、2021；松元ら、2017）。

根こぶ病抵抗性「CRはなっこりー1号」の育成



第1図 CR はなっこりー1号の育成経過

根こぶ病抵抗性個体の選抜は抵抗性遺伝子 (*CRb*) マーカーと幼苗接種検定によって実施
rr: 罹病性ホモ、RR: 抵抗性ホモ、Rr: ヘテロを示す

県内のはなっこりー主要産地3か所で発生した根こぶ病について、様々な病原菌グループに抵抗性を持つハクサイ品種を指標とし、吉本・前田 (2001) のセルトレイ底面給液による方法で生物検定をしたところ、全ての産地で発生した根こぶ病はグループ3 (G3) であることが判明した。そこで、本研究では合成ナプスのはなっこりーへ、グループ3、4に抵抗性を示すと報告のある *CRb* 遺伝子 (Kato ら、2013) を持つハクサイ品種を交雑し、はなっこりーの連続戻し交雑とDNA マーカーによる選抜により根こぶ病抵抗性のはなっこりーを育成したので報告する。

本研究を遂行するに当たり、育成系統の評価等に協力いただいた山口県農林水産部の関係機関、山口県農業協同組合そして生産者の方々に感謝の意を表す。

育種目標

根こぶ病に抵抗性を持ち、早生性、収量性および省力性といった有用形質が「はなっこりーE2」と同等以

上の根こぶ病抵抗性のはなっこりーを育成する。

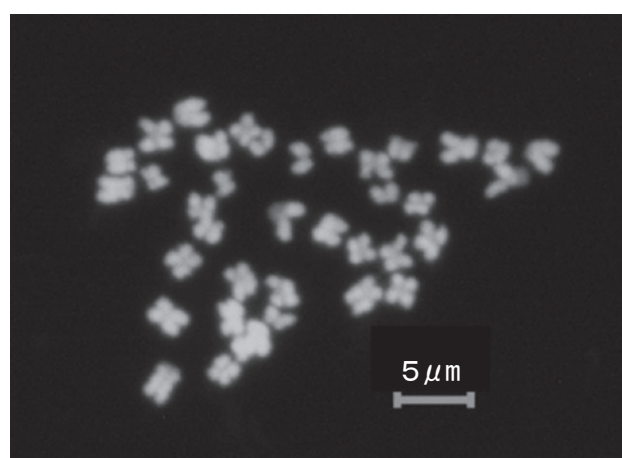
育成経過

交雑と選抜による育成経過を第1図に示した。2017年11月に「はなっこりーE2」を種子親、根こぶ病抵抗性 *CRb* 遺伝子をホモに持つハクサイ品種「黄愛65 (株 渡辺採種場)」を花粉親にして人工交雑によるF₁を育成した。2018年5月、同年11月、2019年5月に、「はなっこりーE2」を反復親として3回連続戻し交雑し、2018年7月、2019年3月、同年7月にBC₁F₁からBC₃F₁世代の種子を得た。2019年11月から2021年11月までは年2回のペースで選抜個体の固定と導入 *CRb* 遺伝子のホモ化を目的に5回の自殖と選抜を繰り返した。なお、BC₁F₁およびBC₂F₁世代では、頂花出蕾の早晩性や外観形態が「はなっこりーE2」に近い個体を選び、B0902マーカー (Kato ら、2013) を用いて *CRb* 遺伝子をヘテロに持つ個体を選抜した。BC₃F₁からBC₃F₄世代までは、早晩性と外観形態が

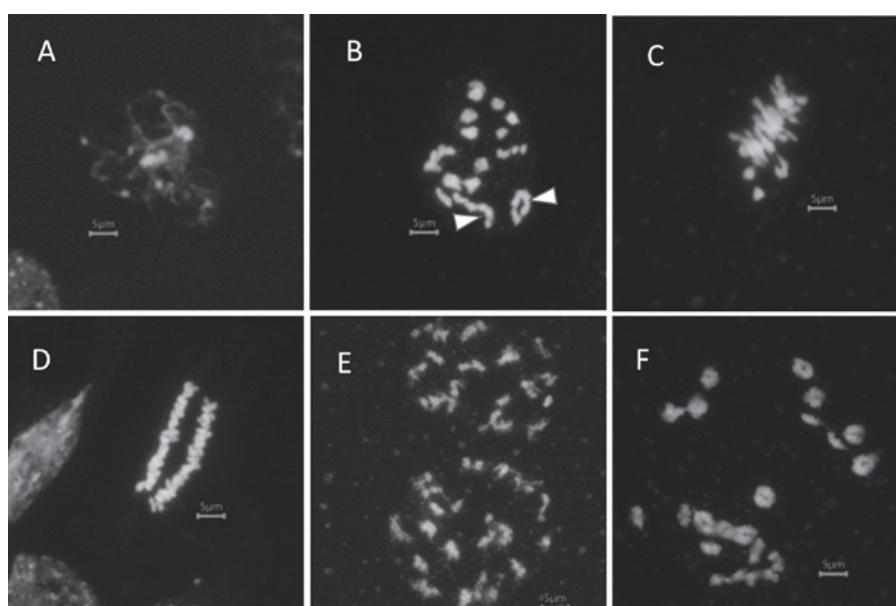
「はなっこりーE2」に類似し、更に収穫枝の花蕾が開花せずによく伸長する個体に対して *CRb* 遺伝子をホモもしくはヘテロに持つ個体を選抜した。BC₃F₃ 世代では収量性も考慮に入れて 19 系統 80 個体を選抜・自殖し、BC₃F₄ 世代では 80 個体から得た種子を各々系統として *CRb* 遺伝子をホモにもつ 33 系統を選抜した。BC₃F₅ 世代では、まず育苗時に各系統の一部に根こぶ病菌を接種することで、各系統の抵抗性の程度を苗の段階で確認し、根こぶ病菌に汚染されていないほ場に移植して、早晩性と外観形態および収穫枝の花蕾が開花せずによく伸長する特性が「はなっこりーE2」に類似し、かつ、収量性が「はなっこりーE2」と同等以上である系統を選抜した。同時に、根こぶ病菌に汚染されたほ場に移植し、根こぶ病を発病せずに「はなっこりーE2」以上の収量が得られる系統を選抜した。その結果、BC₃F₅ 世代で 3 系統選抜し各々後代を採種し BC₃F₆ とした。2022 年 9 月から 3 月にかけて 3 系統に関して生産力検定を行うと共に農林水産植物種類別審査基準ブロッコリーに準じて特性調査を実施した。つぎに、2023 年 9 月から 3 月にかけて生産力検定、特性調査および地域適応性検定として現地評価試験を行い、最終的に選抜した 1 系統を「CR はなっこりー1号」と命名して育成を完了し、2024 年 5 月に品種登録出願を行った。

細胞学的調査

AC ゲノム（染色体数 38 本）の *Brassica napus* の染色体構造を持つ合成ナプスの「はなっこりーE2」と A ゲノム（染色体数 20 本）の *B. rapa*（「黄愛 65」）との異なるゲノム間の交雑 F1 に「はなっこりーE2」の連続戻し交雑して「CR はなっこりー1号」を育成した。そこで、「CR はなっこりー1号」の最終的な染色体構造を確認するために、体細胞染色体と減数分裂を調査した。体細胞染色体は根端の分裂組織を用い、減数分裂は 1.1~1.4mm サイズの葯を用いた。材料の染色体標本作成法は EMA 法（酵素解離空気乾燥法）で



第 2 図 「CR はなっこりー1号」の体細胞染色体
染色体数 38 本



第 3 図 減数分裂像

A~E: 「CR はなっこりー1号」、F: 「ななしきぶ（天然ナプス）」

A: パキテン期、B・F: ディプロテン期、C: 第一分裂中期、D: 第一分裂後期、E: 第一分裂終期(telophase I)
矢頭は四価染色体

根こぶ病抵抗性「CRはなっこりー1号」の育成

行い、Fujii・Ohmido (2011) の方法と同様にプレパラートを作成した。なお、減数分裂については、天然ナプスの「はななしきぶ (染色体数 38 本)」も参考試料として比較調査した。

体細胞染色体は第2図のように、正確に 38 本の染色体で構成されており、特に異常な染色体は確認できなかった。減数分裂においては、パキテン期から第二減数分裂まで確認した。第3図では、パキテン期から第一減数分裂までの過程を示した。ディプロテン期では、天然ナプスではほとんどの花粉母細胞において、環状と棒状の二価染色体で構成され、ナプス型染色体数の半数である 19 本が安定して観察された (第3図 F)。一方で、今回育成した「CRはなっこりー1号」は、ほとんどの花粉母細胞で頻繁に四価染色体が観察された (第3図 B)。

品種の特性

1 「CRはなっこりー1号」の特性

外観形態、生育特性および生産力検定を 2022 年と 2023 年の2カ年に渡り調査した。耕種概要を第1表に示した。対照品種として、山口県が育成した「初代はなっこりー」と「はなっこりーE2」を用いて実施した。なお、特性調査には、参考品種として側枝花茎を収穫対象とするスティックセニョール (株) サカタのタネ) を用いた。

1) 形態および生育特性

特性データを第2表に示した。「CRはなっこりー1号」の半直立～やや半直立といった草姿や葉の形といった外観形態や定植後から摘心に至る日数で示す早晩性は「はなっこりーE2」によく類似していたが、葉身の凹凸がやや強く、葉色の濃淡は淡かった。次に、草丈や葉の長さ、幅などの大きさは、「はなっこりーE2」よりもややコンパクトであった (第4図)。「スティックセニョール (株) サカタのタネ)」は、はなっこりー3 品種よりも大型で葉色も濃く、頂花蕾の出蕾

第1表 本研究報告における耕種概要 (2022 年～2023 年)

年次	場所	試験目的	播種日	セルトレイ (穴)	定植日	栽植密度		根こぶ病菌密度 (乾土1g当たり)	施肥	マルチ	摘心	収穫 開始日	収穫 終了日
						畝幅 (cm)	株間 (cm)						
2022	山口市大内 Aほ場 ^z	特性調査 生産力検定	8/15	128	9/7	150	40	未検定 発病歴なし	緩効性肥料40日 N 3.2kg/a	有	9/30	10/11	11/18
2022	山口市大内 Bほ場 ^z	根こぶ病調査 生産力検定	8/15	128	9/8	150	40	未検定 発病歴あり	緩効性肥料40日 N 3.2kg/a	有	9/30	10/11	11/18
2023	防府市牟礼 ^y	特性調査 生産力検定	8/8	128	8/29	150	40	未検定 発病歴なし	緩効性肥料40日 N 3.2kg/a	有	9/22	9/29	11/10
2023	山口市名田島① ^x	現地適応性検定	8/8	128	9/1	160	40	5.0×10 ⁶	即効性肥料 N 3.2kg/a	無	9/25	10/2	11/13
2023	山口市名田島② ^x	現地適応性検定	8/8	128	9/1	160	40	検出限界	即効性肥料 N 3.2kg/a	無	9/25	10/2	11/13

z 山口市大内は旧山口県農林総合技術センターのほ場：A ほ場は根こぶ病菌に汚染されていない、B ほ場は根こぶ病菌に汚染されている

y 防府市牟礼は現山口県農林総合技術センターのほ場：根こぶ病菌による汚染はない

x 山口市名田島は現地試験圃場：①は根こぶ病菌に汚染されている現地ほ場、②は根こぶ病に汚染されていない現地ほ場

第2表 各品種の頂花蕾収穫時における植物体特性

年次	品種・系統名	草姿	葉身の		草丈 (cm)	葉の長さ (cm)	葉の幅 (cm)	摘心日	葉柄の長さ (cm)	枝の長さ (mm)	花らい球分		花らい球の大きさ		花らい球の 重さ (g)	花らい球の 茎の長さ (mm)	花らい球の 茎の太さ (mm)
			葉色の 濃淡	凹凸の 強弱							高さ (mm)	直径 (mm)	高さ (mm)	直径 (mm)			
2022 ^z	CRはなっこりー1号	半直立	淡	中	35.5 c ^w	28.6 c	16.4 c	9/30	9.0 c	9.9 b	38.8 b	27.7 b	4.9 b	10.4 a	11.0 b		
	はなっこりーE2	半直立	やや淡	弱	40.0 b	34.9 b	18.7 b	9/30	12.6 b	6.2 b	35.7 b	26.6 b	4.8 b	8.5 a	11.2 b		
	初代はなっこりー	半直立	やや濃	弱	49.2 a	44.1 a	21.4 a	10/7	18.1 a	14.5 b	69.0 a	40.2 a	8.3 a	9.6 a	10.8 b		
	スティックセニョール ^x	かなり直立	濃	弱	67.6	50.8	20.4	11/1	25.4	54.1	108.9	91.0	71.8	12.2	24.3		
2023 ^y	CRはなっこりー1号	やや半直立	淡	中	35.8 b	28.6 c	17.7 b	9/22	10.7 b	13.2 b	48.0 b	32.3 b	5.3 b	10.8 b	10.3 ab		
	はなっこりーE2	半直立	やや淡	弱	40.4 a	34.9 b	21.4 ab	9/22	12.2 b	14.7 b	48.0 b	33.7 b	4.6 b	9.1 b	8.9 b		
	初代はなっこりー	半直立	やや濃	弱	40.9 a	48.0 a	22.7 a	9/27	20.8 a	11.6 b	62.4 a	49.1 a	10.0 a	8.5 b	11.5 b		
	スティックセニョール ^x	かなり直立	濃	弱	77.4	60.7	23.2 a	10/23	30.5	40.8	101.8	83.0	71.4	13.1	25.5		

z 2022 年の定植日は 9 月 7 日

y 2023 年の定植日は 8 月 29 日

x スティックセニョールは参考データとして示し、統計処理には含めていない

w Tukey(5%)検定により異なる英小文字は有意差があることを示す

も遅く、そのサイズは最も大きかった。「CR はなっこりー1号」の頂花蕾の大きさや形態は、「はなっこりーE2」と最も類似していた。また、「はなっこりーE2」の頂花蕾の抽苔形状は、幼葉に包まれたまま抽苔

してくるため出蕾が分かりにくかったのに対し、比較の見分けやすかった(第5図)。「CR はなっこりー1号」は、定植後、20～25日で出蕾する頂花蕾を摘心すると、その7～10日後から伸長した側枝を収穫でき



第4図 第1次側枝の収穫時期における草姿の比較(2022年)



第5図 頂花蕾の抽苔状況(真上から見た写真:2023年)
左:「CR はなっこりー1号」 右:「はなっこりーE2」



第6図 CR はなっこりー1号
可食部(側枝花蕾) (2023年)



第7図 各品種の頂花蕾の外観(2023年)

根こぶ病抵抗性「CRはなっこりー1号」の育成

(第1表)、収穫した側枝花茎の外観は従来のはなっこりーとほとんど変わらなかった(第6図)。また側枝花茎の発生の仕方は「はなっこりーE2」と同様に強く、よく伸長し、株当たり一度に7本前後を一斉に収穫可能であった(第4図)。更に花蕾のしまりもよく、「はなっこりーE2」よりも優れていた(第7図)。

2) 生産力検定(収量性と省力性)

「CRはなっこりー1号」は「はなっこりーE2」と同時期に収穫開始となったが、「初代はなっこりー」はこれら両品種よりも5~7日遅かった(第3、4表、第8図)。収穫始めから40日間における収量は1次側枝花茎と2次側枝花茎が中心となった。「はなっこりーE2」と同様に収穫開始1週間のうちに1次側枝花茎が一斉に収穫され、収穫開始後3週間頃に2次

側枝花茎のピークがみられた(第8図)。総収量は、2022年、2023年度の両方において「初代はなっこりー」よりも有意に高く、「はなっこりーE2」とは有意差はなかったものの、両年とも優れる傾向にあり、特に2023年度は180.7kg/aと高い収量が得られた。(第3、4表)。20cm長の収穫花茎の1本重について、2022年度は品種間で有意差はなく同程度であった(第3表)。2023年度においては、20cm長の収穫花茎の茎径サイズ別の収量と1本重を算出した(第4表)。はなっこりーの出荷において最も主流となるMサイズの花茎収量は、「CRはなっこりー1号」と「はなっこりーE2」の間に有意な差はなく、細すぎるSサイズの花茎の割合も「CRはなっこりー1号」において総収量の2割を占めたものの品種間で有意な差はなかった。

第3表 収量および収穫時の開花割合の品種間差(2022年)

品種・系統	収穫 開始日 ^z	収穫期間40日間における収量 ^y			
		本数(本/a)	重量(kg/a)	1本重(g)	開花率(%) ^x
CRはなっこりー1号	10/11	10868 a ^w	121.1 a	11.2 a	1.1 c
はなっこりーE2	10/11	8966 a	96.7 ab	10.8 a	4.8 b
初代はなっこりー	10/17	5903 b	74.1 b	12.5 a	9.9 a

z 収穫期間：10月11日~11月18日

y 収量は調製した時に20cmの長さになる収穫花茎について算出

x 開花率は調製作業(花除去)が必要な花茎本数の割合を示す

w Tukey(5%)検定により異なる英小文字は有意差があることを示す

第4表 収量および収穫時の開花割合の品種間差(2023年)

品種・系統	収穫 開始日 ^z	収穫期間40日間における20cm長の花茎収量 ^y								
		花茎の茎径サイズ別の収量(kg/a)					花茎の茎径サイズ毎の平均1本重(g)			開花率 (%) ^v
		L ^x	M	S	総収量	Sの割合(%) ^w	M	S	平均	
CRはなっこりー1号	9/29	3.9 b ^u	158.8 a	18.0 a	180.7 a	20.5 a	15.3 a	6.7 a	13.6 b	16.6 b
はなっこりーE2	9/29	6.6 b	139.1 a	13.0 ab	158.6 ab	15.9 a	13.9 b	6.7 a	13.0 b	19.8 b
初代はなっこりー	10/4	26.9 a	91.1 b	6.2 b	124.2 b	11.7 a	15.2 a	6.8 a	16.0 a	50.3 a

z 収穫期間：9月29日~11月10日

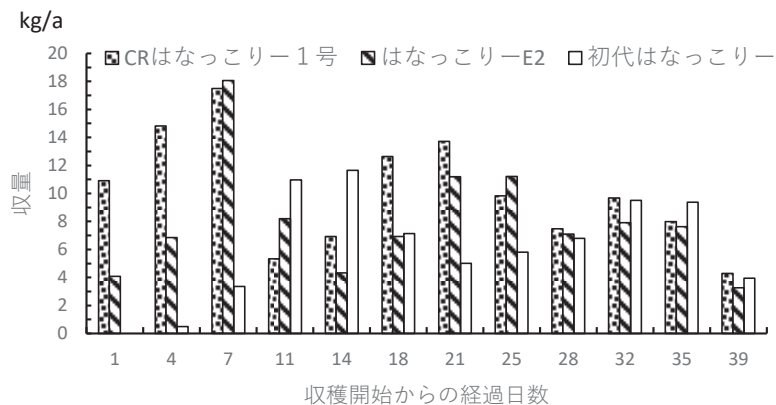
y 収量は調製した時に20cmの長さになる収穫花茎について算出

x L：茎径16mm以上、M：茎径7-16mm、S：茎径7mm未満

w Sの割合は7mm未満鉛筆よりの細い茎径の本数割合を示す

v 開花率は調製作業(花除去)が必要な花茎本数の割合を示す

u Tukey(5%)検定により異なる英小文字は有意差があることを示す



第8図 はなっこりー各品種における日別収量の推移(2022年)

一方で、「CR はなっこりー1号」のMサイズのみの収量は、「はなっこりーE2」の総収量に匹敵した。また、Mサイズの花茎1本重は、「CR はなっこりー1号」の方が「はなっこりーE2」よりも有意に優れた。

はなっこりーは、収穫時に開花している花は、調製時に除去する手間をかける必要がある。この調製作業が必要な割合を品種ごとに開花率で示した（第3、4表）。「CR はなっこりー1号」の開花率は2022年度で1.1%と有意に低く、2023年度は「はなっこりーE2」との間に有意差はなかったものの、品種間で最も低い値となった。

2 根こぶ病抵抗性

「CR はなっこりー1号」、感受性品種の「初代はなっこりー」、「はなっこりーE2」と「スティックセニョール」、抵抗性ハクサイ品種の「黄愛65」と「黄苑80」の若い葉からDNAを抽出した。PCRに用いたマーカーはB0902（第5表）で、反応条件等はKatoら（2013）の報告に従い（第6、7表）、DNA断片を増幅させ、アガロースゲル電気泳動によりバンドを確認した。「初代はなっこりー」、「はなっこりーE2」には抵抗性バンドは無く、感受性を示すバンドのみをもつ感受性ホモであった。「黄苑80」は抵抗性と感受性両方のバン

ドを持つヘテロであり、「黄愛65」と「CR はなっこりー1号」は160bpの抵抗性バンドのみを持つ抵抗性ホモであることが示された（第9図）。なお、「スティックセニョール」は感受性および抵抗性双方のバンドを持たず、はなっこりー特異的バンドと同じ位置にバンドを持っていた。

次に「CR はなっこりー1号」および「はなっこりーE2」に対して幼苗接種検定を実施した。グループ3の根こぶ病菌に汚染された土壌（根こぶ病菌密度 5.0×10^6 個/乾土1g）を採取・自然乾燥させ、5mmの篩を通し、採取土壌と購入培養土（与作：ジェイカムアグリ（株））を1：1に混合して育苗培地とした。検定方法は、吉本・前田（2001）のセルトレイ底面給液法を参考にした。50穴のセルトレイに1:1に混合した土壌を詰め、1穴に各品種4粒播種し、セルトレイの穴から不織布を垂らし、ここから底面給水し、播種後30日で根のこぶを調査した。「はなっこりーE2」は罹病し、こぶを形成したが、「CR はなっこりー1号」はこぶを形成せず抵抗性を示した（第10図）。

また実証として、2022年度に山口市大内のBほ場（第1表）に「CR はなっこりー1号」と「はなっこりーE2」を9月8日に定植し、栽培終了後の11月18日に根を掘り上げ、こぶの着生状態を確認した。「はなっこりーE2」は主根がこぶ化し、発病指数2.67と

第5表 PCRに用いた抵抗性遺伝子座とプライマー

遺伝子座	プライマー	配列	増幅断片(bp)
CRb	B0902-FW	AGCCTTGCGTAAAAGCAACTAC	160
	B0902-RV	GTTTGGAATCCGACAAATACATCCAT	

第6表 PCR反応液の調製

溶液	使用量(μl)
滅菌蒸留水	3.5
Quick Taq HS Dye Mix	5.0
プライマー-FW	0.5
プライマー-RV	0.5
鋳型DNA	0.5
合計	10.0

第7表 PCRサイクル条件

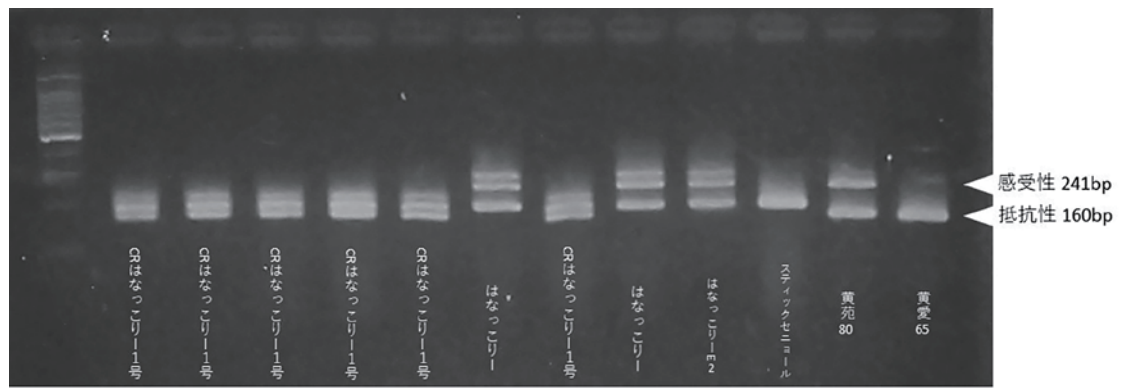
94℃	2分	} 35サイクル
94℃	30秒	
55℃	30秒	
68℃	30秒	
68℃	5分	
4℃	∞	

第8表 センター内根こぶ病菌汚染ほ場における発病状況（2022年）

ほ場	品種・系統	発病指数 ^z	発病度
山口市大内	CRはなっこりー1号	0.03	1.1
Bほ場	はなっこりーE2	2.67	88.9

z 0：こぶ無し、1：根全体の1～5%にこぶ、2：根全体の25～50%にこぶ、3：根全体の50%以上にこぶ

根こぶ病抵抗性「CRはなっこりー1号」の育成



第9図 各品種・系統の *CRb* 遺伝子座の PCR



第10図 根こぶ病菌の幼苗接種検定による播種30日後の根の状態(2022年)
矢印はこぶを示す



第11図 根こぶ病菌蔓延ほ場で栽培後の根部の状態



第12図 根こぶ病汚染ほ場における栽培後の根の状況(2023年度)

第9表 現地適応性試験の根こぶ病の発病状況 (2023年度)

ほ場	品種・系統	発病指数 ^x	発病度
山口市名田島①	CRはなっこりー1号	0.06	2.1
汚染ほ場 ^z	はなっこりーE2	2.52	83.9
山口市名田島②	CRはなっこりー1号	0.00	0.0
非汚染ほ場 ^y	はなっこりーE2	0.03	0.8

z 根こぶ病汚染ほ場の菌密度：5.0×10⁶個/乾土1g

y 非汚染ほ場の菌密度：検出限界

x 0：こぶ無し、1：根全体の1～5%にこぶ、2：根全体の25～50%にこぶ、
3：根全体の50%以上にこぶ

第10表 現地適応性検定における根こぶ病が収量等に及ぼす影響^z (2023年)

ほ場	品種・系統	収量(kg/a)					1本重(g)			開花率(%) ^u
		総収量	L ^w	M	S	S率(%) ^v	平均	M	S	
山口市名田島①	CRはなっこりー1号	190.7	8.0	166.9	15.9	8.3	13.9	16.1	5.1	11.4
汚染ほ場 ^y	はなっこりーE2	118.7	0.0	104.3	14.3	12.1	10.8	14.1	4.0	18.8
山口市名田島②	CRはなっこりー1号	141.7	0.0	126.6	15.2	10.7	13.3	15.0	6.9	15.6
非汚染ほ場 ^x	はなっこりーE2	137.6	0.6	121.5	15.6	11.3	11.7	13.3	6.0	26.4

z 収穫期間：10月1日～11月13日

y 根こぶ病菌汚染ほ場：菌密度は5.0×10⁶個/乾土1g、適宜灌水により水分条件は良い

x 非汚染ほ場の菌密度：検出限界、乾燥状態にあり水分条件が悪い

w L：茎径16mm以上、M：茎径7～16mm、S：茎径7mm未満

v 茎径7mm未満の細い本数割合を示す

u 調製作業（花除去）が必要な花茎本数の割合を示す

根全体の50%以上こぶ化している株が多く確認された一方で、「CRはなっこりー1号」にはほとんどこぶが確認されなかった(第8表、11図)。

3 現地適応性検定

根こぶ病菌汚染ほ場と非汚染ほ場における生産性

2023年に山口市名田島において「CRはなっこりー1号」の検定評価を行った。耕種概要を第1表に示した。ここでは、産地の主力品種である「はなっこりーE2」を対照品種とし、根こぶ病菌汚染ほ場「山口市名田島①」では、根こぶ病抵抗性である「CRはなっこりー1号」の効果や収量性を比較検討し、根こぶ病菌非汚染ほ場「山口市名田島②」では、「はなっこりーE2」のもつ本来の収量性に対して、比較検討した。なお、栽培環境条件として根こぶ病菌汚染圃場では、適切な灌水管管理が行われたことで十分な品種特性が発揮されたが、非汚染ほ場では、適切な灌水管管理ができなかったため、やや生育が不十分な状態であったことを言及しておく。また、ほ場の根こぶ病の菌密度は予めqPCRによって測定したものである(第9表)。更に、非汚染ほ場における試験では、根こぶ病の発生を確実に抑制するため、定植時に苗へのオラクル顆粒水和剤

(日産化学株式会社)の灌注処理を行った。

根こぶ病菌汚染ほ場で栽培した結果、第12図のように「CRはなっこりー1号」の根にはほぼこぶは無く発病指数もほぼ0であったが、「はなっこりーE2」の根はこぶだらけとなっており、発病指数も2.52と甚大な被害を受けていた(第9表)。一方で、非汚染圃場で栽培した結果は、「CRはなっこりー1号」および「はなっこりーE2」とともに発病指数はほぼ0であった(第9表)。次に第10表に汚染圃場と非汚染圃場で栽培した収量データを示した。汚染圃場では、「CRはなっこりー1号」の総収量が190.7kg/aと多収であるのに対して「はなっこりーE2」はその4割減と著しく低くなった。更にこれだけの収量差がありながら、総収量に占める細い花茎の割合(S率)は、「CRはなっこりー1号」の方が少なかった。一方、非汚染圃場における「CRはなっこりー1号」、「はなっこりーE2」の総収量は、ほぼ同程度であった。また、両圃場における1本重は、「CRはなっこりー1号」の方がやや重い傾向となり、開花率は「CRはなっこりー1号」の方がやや低い傾向となった。

考 察

「はなっこりーE2」を種子親、*CRb* 根こぶ病抵抗性遺伝子を持つハクサイ品種「黄愛 65」を花粉親に交雑し、その後「はなっこりーE2」の連続戻し交雑によって「CR はなっこりー1号」を育成した。「はなっこりーE2」はAC ゲノムの *B. napus* 型の染色体構造を持つ合成ナプスで染色体数は 38 本であり、「黄愛 65」はA ゲノムの *B. rapa* の染色体数は 20 本と両者のゲノム構造は異なるが、日向 (1984) が述べるように、この両種の交雑 F1 の獲得は容易であった。ところが、その後の戻し交雑の過程は、異数体との交雑となるため種子の獲得は困難であった。しかし、戻し交雑を繰り返すことによって次第に採種効率は良くなり、3 回戻し交雑した「CR はなっこりー1号」の体細胞染色体の調査から、正確に 38 本で構成されていることが明らかとなり、これまでの合成ナプスはなっこりーと同様の *B. napus* 型の染色体構造になっていると考えられる。一方、減数分裂のディプロテン期では、天然ナプスとの違いが見られた。天然ナプスではほぼ正確に二価染色体を形成して減数分裂が進んでいくのに対して、「CR はなっこりー1号」ではほとんどの花粉母細胞が四価染色体を形成していることが多かった。このことは Fujii・Ohmido (2011) の報告と同様に、合成ナプス特有の A ゲノムと C ゲノムの類似性の高さから生じる対合の異常によるものと考えられる。従って、Fujii・Ohmido (2011) が言及した合成ナプスでは後代形質の固定が困難になる問題が、「CR はなっこりー1号」も同様の問題が生じるものと推察する。

根こぶ病抵抗性の選抜には主として B0902 マーカーを利用した。マーカー選抜において「初代はなっこりー」および「はなっこりーE2」は感受性の 241bp の位置と抵抗性の 160bp の位置の間に特異的なバンドを必ず持っていた。これは、この位置に「スティックセニョール」のバンドもあることから、C ゲノム由来のバンドであると推測する。田中ら (2023) は B0902 マーカーを利用して *B. rapa* であるナバナ系統に *CRb* 遺伝子を交雑によって導入する中で 241bp の感受性遺伝子の他に 120bp の感受性遺伝子を確認している。この 120bp の感受性遺伝子は交雑によって分離し、160bp の抵抗性遺伝子だけをもつ完全な抵抗性遺伝子ホモ個体を得ているが、我々の確認した「はなっこりー」特異的なバンドは交雑を複数回繰り返しても分離することがなかったため、根こぶ病抵抗性には直接関与しない

ものと考え、241bp の位置に感受性遺伝子を持たず、160bp の位置に抵抗性遺伝子を持つ個体を完全な抵抗性ホモとして考えた。実際に抵抗性遺伝子を持つ「CR はなっこりー1号」は、その後の後代でも分離することなく、生物検定においてもこぶの発現を抑制し、根こぶ病抵抗性としての特性を十分に発揮することを確認した。

「CR はなっこりー1号」の総収量、規格構成は、根こぶ病の非汚染ほ場においては、花粉親となる「はなっこりーE2」と比べてほぼ同等であったことから、「CR はなっこりー1号」は「はなっこりーE2」と同等の生産能力を持つものと考えられる。また、はなっこりーは収穫時に開花している花は調製時に除去する必要があるため、開花率は低いことが望ましい。ここで「CR はなっこりー1号」の方の開花率が低い傾向があることから「はなっこりーE2」よりも省力的な特性が強くなっていると考えられる。一方、汚染圃場の「CR はなっこりー1号」は非汚染ほ場に比べて総収量が著しく高くなった。これは単純に汚染圃場の方が栽培期間中において十分な灌水が施されたいためである。一方で、「はなっこりーE2」においては、十分に水を与えられていた汚染圃場よりも、水不足の非汚染圃場の総収量の方が高くなった。これは明らかに根こぶ病による影響が表れたデータであると考えられる。

以上のように、「CR はなっこりー1号」は、染色体数 38 本の *B. napus* 型の染色体構造を持つ合成ナプスであり、根こぶ病抵抗性遺伝子 *CRb* をホモ型に持つことで、根こぶ病菌のグループ 3、4 に抵抗性を示し、このグループの汚染圃場や非汚染圃場において安定して生産が行える。更に「はなっこりーE2」と同じ時期に栽培が可能で、摘心時期や収穫開始時期も同じで、同等以上の収量が得られ、調製作業の省力性も同等以上に優れることが明らかとなった。

「CR はなっこりー1号」を育成したことで、今後のはなっこりー産地への普及と生産拡大が期待される。

摘 要

根こぶ病抵抗性「CR はなっこりー1号」を育成した。「CR はなっこりー1号」は、「はなっこりーE2」に根こぶ病抵抗性遺伝子 *CRb* を持つハクサイ品種「黄愛 65」を交雑し、その後「はなっこりーE2」の連続戻

し交雑と DNA マーカーによる選抜によって育成した。本品種は、抵抗性の *CRb* 遺伝子をホモ型に持ち、「はなっこりーE2」と同等の早生品種で、収量性や省力性は同等以上であることが明らかとなった。

引用文献

- 藤井宏栄・岡藤由美子・陶山紀江. 2012. 新系統「はなっこりーME」と「はなっこりーL」の育成および特性. 山口農総技セ研報. 3 : 25-30.
- Fujii, K. and N. Ohmido. 2011. Stable progeny production of the amphidiploid resynthesized *Brassica napus* cv. Hanakkori, a newly bred vegetable. *Theor Appl Genet.* 123: 1433-1443.
- 藤井宏栄・日高輝雄・重藤祐司・片川聖. 2019. 早生系省力型「はなっこりーE2」の育成と栽培. 山口農総技セ研報. 10 : 7-15.
- Mitsuyo Kawasaki, Takayoshi Ohara, Masahiko Ishida, Yoshihito Takahata and Katsunori Hatakeyama .2021. Development of novel clubroot resistant rapeseed lines (*Brassica napus* L.) effective against Japanese field isolates by marker assisted selection. *Breeding Science* 71 : 528-537.
- 日向康吉. 1984. 植物の種間交雑による育種. 化学と生物. 22 : No.12 : 833-840.
- 松元哲・畠山勝徳・高下新二・宮崎俊夫・近藤友宏. 2017. 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. 農研機構研究報告. 野菜花き研究部門. 1 : 23-34.
- 田中義弘・尾松直志・樋口康一・竹之下佳久・湯田達也・畠山勝徳・松元哲. 2023. 根こぶ病抵抗 *CRb* を有するナバナ系統の育成. 鹿児島農総セ研報. 17 : 13-20.
- 松本理・岡藤由美子・金子和彦・片川聖. 1997. 胚珠培養による新野菜「はなっこりー」の育成. 山口農試研報. 48:21-24.
- 田中秀平・根来実・太田孝彦. 1990. 長崎県で発生した春ハクサイの根こぶ病. 山口大学農学部学術報告. 38 : 33-45.
- Takeyuki Kato, Katsunori Hatakeyama, Nobuko Fukino and Satoru Matsumoto. 2013. Fine mapping of the clubroot resistance gene *CRb* and development of a useful selectable marker in *Brassica rapa*. *Breeding Science.* 63: 116-124.
- 吉本均・前田和也. 2001. セルトレイ底面給液によるハクサイ根こぶ病菌の菌密度及び病原性の簡易生物検定法. 和歌山県農林水産総合技術センター研究報告. 2 : 143-148.