

沖縄、岡山、茨城県下から分離されたカボチャ立枯病菌の 子のう殻形成及びその差異

基 喜吉・木村 茂
横浜植物防疫所調査研究部

The difference and formed perithecia of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 isolated from Okinawa, Okayama and Ibaraki prefectures. Kiyoshi DAI and Shigeru KIMURA (Research Division, Yokohama Plant Protection Station, 1-16-10, Shin-yamashita, Naka-ku, Yokohama 231-0801, Japan). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 40: 55-60 (2004).

Abstract: Macroconidia of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 were reported to be predominant 5-septate by MATSUO and SNYDER (1973), but isolates from Okinawa, Okayama and Ibaraki have predominant 4-septate macroconidia. So, we imported the standard strains (ATCC18278 and ATCC18280) from the United States, and did a mating examination with domestic isolates. Perithecia were formed in the result of the mating examination between isolates from three locations and standard strains. Therefore, it was confirmed that the pathogens of squash foot rot that broke out at each location were *F. solani* f. sp. *cucurbitae* race 1, which has some genetic relation with standard strains of ATCC. However, those mating relations in each group were different. Isolates of Okinawa formed red perithecia. Isolates of Ibaraki formed whitish perithecia. Many isolates of Okayama didn't form them. Therefore, the squash foot rot that broke out in three locations was thought to have been caused by different mating populations of *F. solani* f. sp. *cucurbitae* race 1.

Key words: *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1, *Nectria haematococca*, perithecia, mating

はじめに

我が国で初めてカボチャ立枯病の被害が確認されたのは、1984年沖縄県本部町のカボチャ台ニガウリからであった。その後、1987年に岡山県牛窓町及び茨城県日立市のカボチャ、キュウリ、プリンスメロンに発生が相次いで確認された。これら3県から分離された病原菌は *Fusarium solani* であり、接種試験の結果からその分化型及びレースの決定が金城ら (1987)、下長根ら (1987) 及び粕山ら (1990) によってなされ、*F. solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 と同定された。そして、彼らはその大型分生子がいずれも4隔膜優勢であり、MATSUOら (1973) がこれを5隔膜以上の α 型の分生子とするものとは異なる系統であると示唆した。分化型の決定法にはこのほかに、MATSUOら (1972) の提唱した交配による方法がある。筆者らは3県に発生したカボチャ立枯病菌と米国から導入した基準菌株を用い交配試験を行い、興味ある知見を得たので報告する。

材料及び方法

1. 供試菌株

交配試験に供試した *Fusarium solani* f. sp. *cucurbi-*

tae race 1 の菌株は Table 1 に示したとおりである。

基準菌株として、農林水産大臣の許可を受け American Type Culture Collection から導入した 18278 と 18280 の 2 菌株を用いた。これらの菌株はヘテロタリックの関係にあり、18278 は 18280 に対し donor として作用し、receptor として働く 18280 の菌叢上に *Nectria haematococca* の赤い子のう殻を形成するものである (ATCC, 1982)。

供試菌株には、沖縄県本部町健堅地区のカボチャ台ニガウリから分離された 11 菌株、岡山県西脇地区のカボチャ及びメロンから分離された 13 菌株、茨城県日立市茂宮地区のカボチャ及びカボチャ台キュウリから分離された 13 菌株を用いた。

2. 交配試験の方法

ヘテロタリックの *Fusarium solani* で一般的に行われる方法を基本に次のような手順で交配試験を行った。

基準菌を donor とし、国内菌株を receptor とした交配試験

- 1) 基準菌 2 株及び国内 3 県の 37 菌株を Difco 社製 PDA 斜面培地に移植し、25°C、ブラックライト 12 時間間欠照射下で 1 カ月培養する。

Table 1. List of examined isolates of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1

Isolate	Origin	Host plant
18278	USA	<i>Cucurbita</i> sp.
18280	USA	<i>Cucurbita</i> sp.
R-1	Motobu-cho, Okinawa	<i>Monordica charantia</i>
64-1	Motobu-cho, Okinawa	<i>Monordica charantia</i>
FII-52	Motobu-cho, Okinawa	<i>Monordica charantia</i>
FII-51-1	Motobu-cho, Okinawa	<i>Monordica charantia</i>
FII-51-2	Motobu-cho, Okinawa	<i>Monordica charantia</i>
FII-55-1	Motobu-cho, Okinawa	<i>Monordica charantia</i>
FII-57-1	Motobu-cho, Okinawa	<i>Monordica charantia</i>
FII-57-2	Motobu-cho, Okinawa	<i>Monordica charantia</i>
FII-59-1	Motobu-cho, Okinawa	<i>Monordica charantia</i>
FII-59-2	Motobu-cho, Okinawa	<i>Monordica charantia</i>
FII-60-2	Motobu-cho, Okinawa	<i>Monordica charantia</i>
Okayama	Ushimado-cho, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
63.7.6-2	Ushimado-cho, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
63.8.3-3	Ushimado-cho, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
63.8.3-6	Ushimado-cho, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
63.8.4-11	Ushimado-cho, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
元6.22-1	Ushimado-cho, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
元6.22-2	Ushimado-cho, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
元6.23-1	Ushimado-cho, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
元6.20-1	Okayama-shi, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
63.7.6-6	Okayama-shi, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
元6.3-1	Okayama-shi, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
元6.13-4	Okayama-shi, Okayama	<i>Cucurbita</i> sp.
カA2	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucurbita</i> sp.
カA3	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucurbita</i> sp.
カC3	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucurbita</i> sp.
カC4	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucurbita</i> sp.
カF-S	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucurbita</i> sp.
E2	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucurbita</i> sp.
E6	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucurbita</i> sp.
E13	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucurbita</i> sp.
E18	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucurbita</i> sp.
E22	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucurbita</i> sp.
F15	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucurbita</i> sp.
キA-I	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucumis sativus</i>
キA-II	Hitachi-shi, Ibaraki	<i>Cucumis sativus</i>

Monordica charantia were used root stocks of *Cucurbita* sp.

- 2) 培養後、基準菌株の菌叢上に、殺菌水 20 ml を分注し、分生子懸濁液を作製する。
- 3) donor の分生子懸濁液 2 ml を receptor の菌叢上に降り注ぎ、直ちに懸濁液をはらって綿栓をする。
- 4) 交配後は 25°C、ブラックライト 12 時間間欠照射下で 2 カ月間培養し、子のう殻の形成を観察する。
- 5) 子のう殻形成の確認は、孔口部から子のう胞子の噴出を観察できたものが 1 個でもあれば「子の

う殻形成菌株」とした。

試験は、沖縄株で 3 回、岡山株 3 回、茨城株 4 回それぞれ反復した。

国内菌株を donor とし、基準菌を receptor として交配試験

交配の方法は 1 と同様に行った。

試験は各県の菌株とも 2 回反復とした。

3. 子のう殻形成菌の同定

生物顕微鏡及び実体顕微鏡にて子のう殻、子のう、

Table 2. Results of mating

Receptor (female)	Donor (male)	Standard isolates	
		18278	18280
Okinawa isolates			
R-1		+ + +	- - -
64-1		+ - -	- - -
FII-52		+ - -	- - -
FII-51-1		+ + +	- - -
FII-51-2		+ + -	- - -
FII-55-1		- - -	- - -
FII-57-1		+ + +	- - -
FII-57-2		+ + +	- - -
FII-59-1		+ - -	- - -
FII-59-2		- - -	- - -
FII-60-2		+ + +	- - -
Okayama isolates			
Okayama		- - -	- - -
63.7.6-2		- - -	- - -
63.8.3-3		- - -	- - -
63.8.3-6		- - -	- - -
63.8.4-11		- - -	- - -
元6.22-1		- - -	- - -
元6.22-2		- - -	- - -
元6.23-1		- - -	- - -
63.7.6-6		- - -	- - -
元6.3-1		- - -	+ - -
元6.13-4		- - -	- - -
元6.19-3		- - -	- - -
元6.20-1		- - -	- - -
Ibaraki isolates			
カA2		- - - -	+ + - -
カA3		- - - -	+ + - -
カC3		- - - -	+ + - -
カC4		- - - -	+ - - -
カF-s		- - - -	+ - - -
E2		- - - -	+ + - -
E6		- - - -	+ - - -
E13		- - - -	+ + + -
E18		- - - -	+ + + -
E22		- - - -	+ - - -
F15		- - - -	+ + - -
キA-I		- - - -	+ - - -
キA-II		- - - -	+ - - -

Mating examinations of Okinawa and Okayama isolates were repeated three times.

Mating examinations of Ibaraki isolates were repeated four times.

子のう胞子の形態及びサイズを測定し *Fusarium solani* の Telemorph である *Nectria haematococca* のそれらと一致するか調査した。

結 果

1. 基準菌を donor とし、国内菌株を receptor とした交配試験の結果

子のう殻の形成

交配後 2 カ月間子のう殻の形成の有無を観察した。その結果、子のう殻は 2 週間から 1 カ月の間に recep-

tor の菌叢上、大型分生子が形成されているスポロドキアの上に単独に、または 2~3 個が群生して形成された。子のう殻は成熟すると、孔口部から子のう胞子を噴出する (Fig. A)。これらの発芽能は旺盛であった。その後、新たな子のう殻の形成を認められなかった。

基準菌株を donor とした各県分離菌株の反応結果を Table 2 に示した。

1) 沖縄株

基準菌株 18278 を donor としたところ、receptor として供試した 11 菌株のうち、FII-55-1 及び FII-59-

Table 3. Comparison with teleomorph which it could form by the mating examination with the ATCC isolates and *N. haematococca* reported previously.

Organ		Ibaraki×18280	Okinawa×18278	<i>Nectria haematococca</i>	
				MATSUO (1980)	BoOTH (1971)
Ascomata	size (μm)	250-425	225-400	240-490	
	shape	globose to ovoid	globose to ovoid	globose to ovoid	globose to ovoid
Asci	size (μm)	52-87.5×4-8.75	50-82.5×5-8.75	80-110×8-12	60-80×8-12
	shape	cylindrical to clavate	cylindrical to clavate	Clavate	clavate
Ascospores	N. of ascospores	8	8	8	8
	size (μm)	9.5-17×4-6	9-16×3-6	8-18×4.5-8	11-18×4-7
	septation	1	1	1	1
	shape	ellipsoid to obovate	ellipsoid to obovate	ellipsoid to obovate	ellipsoid to obovate
	color	hyaline to light brown	hyaline to light brown	hyaline to light brown	hyaline to light brown

2の2菌株以外の9菌株上に赤色をした子のう殻の形成を認めた (Fig. B)。特に R-1, FII-51-1, FII-57-1, FII-57-2, FII-60-2 の5菌株は3反復の試験すべてで多くの子のう殻を安定的に形成した。18280をdonorとした場合は、11菌株すべてで子のう殻の形成は認められなかった。

2) 岡山株

基準菌株 18278 をdonorとしたところ、receptorとして供試した13菌株すべてで子のう殻の形成を認められなかった。18280をdonorとした場合13菌株中、1菌株、元6.3-1のみに、それも3反復の試験のうち1回だけ、淡褐色の子のう殻がわずかに確認された。

3) 茨城株

基準菌株 18278 をdonorとしたところ、receptorとして供試した13菌株すべてで子のう殻の形成は認められなかった。18280をdonorとした場合は、13菌株すべてで白い子のう殻の形成が認められた (Fig. C)。しかし、4反復すべてに子のう殻を形成した菌株はなく、3回形成したものがE13とE18の2菌株、2回形成したものがカA2, カA3, カC3, E2, F15の5菌株、後の6菌株は1回であった。

2. 国内菌株をdonorとし、基準菌をreceptorとして交配試験の結果

沖縄、岡山及び茨城株をそれぞれdonorとして基準菌 18278 及び 18289 をreceptorとした組み合わせで交配試験を2反復行ったが、いずれの区でも子のう殻の形成は認められなかった。

3. 形成された子のう殻の同定

子のう殻は始め、球形で後に頂部孔口部が乳頭状に発達し、成熟すると全体が卵形となり、その表面には多くの瘤状突起が形成され (Fig. A)、色は交配の組み合わせにより赤色 (Fig. B) 及び淡褐色～白色 (Fig. C) を呈した。子のう殻の直径は250～425 μmで、多くは300～375 μmであった。子のう殻の隔壁は、外側に大きくて形の不揃いな厚膜細胞が、内側には薄い細胞がブロック状に並び、側糸は認められなかった (Fig. D)。

子のうは一重膜で無色、棍棒状～円筒形を呈し、内部には8個の子のう胞子が形成され、大きさは50～87×4～8.7 μmであった。頂部には孔口を有した (Fig. E)。

子のう胞子は無色で、成熟したものはわずかに褐色を帯び、紡錘形ないし長円形を呈する。中央に隔膜が形成され、その部分はわずかに凹む。大きさは9～17×3～6 μmで、多くは11～14×4～5 μmであった (Fig. F)。

これらの形態をMATSUOら(1965)及びBooth(1971)の報告と比較した (Table 3)。その結果、これらの交配により形成された子のう殻等の形態的特徴は、既報の *Nectria haematococca* とよく一致した。このことから、receptor上に形成された子のう殻は *Fusarium solani* のTeleomorphである *Nectria haematococca* と同定した。

考 察

沖縄、岡山及び茨城で発生したカボチャ立枯病の病原菌の大型分生子はいずれも4隔膜優勢であり、従来

言われていた *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 の大型分生子が 5 隔膜優勢であるとのことから別の系統ではないかとの指摘がされた。しかし、交配試験の結果、各県から分離された菌株には、米国産の *F. solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 との間にその Teleomorph である *Nectria haematococca* の子のう殻を形成するものが認められた。このことから沖縄及び茨城県から分離された多くの菌株には、米国で分離された *F. solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 とヘテロタリックの交配可能な関係を持つことが認められ、交配試験の結果からも、これらが *F. solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 であることが確認された。

次に、本病原菌は種子伝播することが知られており、1985年12月に沖縄で確認された後、1987年岡山及び茨城でも相次いで発生が確認されたことから、種子によって各地に伝播された可能性が指摘された。しかし、交配試験は、これを裏づける結果を示さなかった。即ち、沖縄の菌株は米国の基準菌 18278 に対し、receptor (female) として反応し子のう殻を形成し、その色は *Nectria haematococca* の子のう殻に一般的に認められる赤色であった。茨城の菌株は沖縄株とは異なる反応を示した。基準菌 18278 との間では交配せず、18280 に対し receptor (female) として作用し、白～淡褐色の子のう殻を形成した。岡山の菌株は、18280 との交配において、わずかに淡褐色の子のう殻の形成を認めた 1 菌株を除き、18278 及び 18280 の両基準菌との間に子のう殻を形成しなかった。以上のことから、沖縄、岡山及び茨城に発生したカボチャ立枯病は、各県それぞれ交配型を異とする *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 (Teleomorph: *Nectria haematococca* var. *cucurbitae*) によって引き起こされたものであること。そして、そのことは、我が国に発生したカボチャ立枯病が、菌株の県間交流によりまん延したのではなく、それぞれ個別に発病したことを示唆したものと考える。

摘 要

カボチャ立枯病菌の隔膜数は 5 つ以上が優勢とされているが、我が国で初めて本病が発見された沖縄、次いで確認された岡山及び茨城から分離されたカボチャ立枯病菌はいずれも 4 隔膜優勢であり、系統が異なるものとの指摘がなされた。このため ATCC を通じ米国から基準菌株 18278 と 18280 の 2 菌株を導入し国内菌株との交配試験を行った。その結果、沖縄及び茨城県から分離された菌株との交配で子のう殻が形

成されたことから両県に発生したカボチャ立枯病は ATCC の基準菌株と交配関係にある *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 であることが確認された。しかし、その交配関係は異なるものであった。即ち、沖縄株では赤色の子のう殻が形成されたのに対し、茨城株の子のう殻は白～淡褐色であった。また、岡山株の大部分は、基準菌株と交配しなかった。これらのことから 3 県に発生したカボチャ立枯病は、それぞれ交配関係の異なる病原菌株群によって引き起こされたものであると考えられる。

引 用 文 献

- American Type Culture Collection (1982) Catalogue of Strains I. 15th Ed.: 414.
- BOOTH, C. (1971) The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute: 46-49.
- 基 喜吉・川合 昭・西尾 健・後藤正昭 (1990) 日本産 *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 の子のう殻の形成. 日本植物病理学会報 56: 96-97.
- 粕山新二・井上孝次・岡本康博 (1990) 岡山県で発生したカボチャ立枯病について. 日本植物病理学会報 56: 384.
- 金城衣恵・松尾卓見・渡嘉敷唯助 (1989) ニガウリのカボチャ台木より分離された *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 について. 沖縄農業試験場研究報告 第 13 号: 95-98.
- 金城衣恵・渡嘉敷唯助・松尾卓見 (1987) 沖縄で発見されたニガウリのカボチャ台木を侵す *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1. 日本植物病理学会報 53: 86.
- 松尾卓見・駒田 旦・松田明編 (1980) 作物のフザリウム病. 全国農村教育協会: 40.
- MATSUO, T. and W. C. SNYDER (1972) Host Virulence and the *Hypomyces* Stage of *Fusarium solani* f. sp. *lisi*. Phytopathology 62: 731-735.
- MATSUO, T. and W. C. SNYDER (1973) Use of Morphology and Mating Populations in the Identification of Formae Speciales in *Fusarium solani*. Phytopathology 63: 562-565.
- 大戸謙二・基 喜吉・下長根鴻 (1989) カボチャ立枯病の発生と防除. 植物防疫 43: 625-628.
- 下長根鴻・河又 仁・照沼貞夫・松田 明 (1989) 茨城県で発生を認めたカボチャ立枯病について. 日本植物病理学会報 55: 120-121.
- SNYDER, W. C. and H. N. HANSEN (1954) Species concept, genetics, and pathogenicity in *Hypomyces solani*. Phytopathology 44: 338-342.
- TOUSSON, T. A. and W. C. SNYDER (1961) The pathogenicity, distribution, and control of two race of *Fusarium (Hypomyces) solani* f. *cucurbitae*. Phytopathology 51: 17-22.

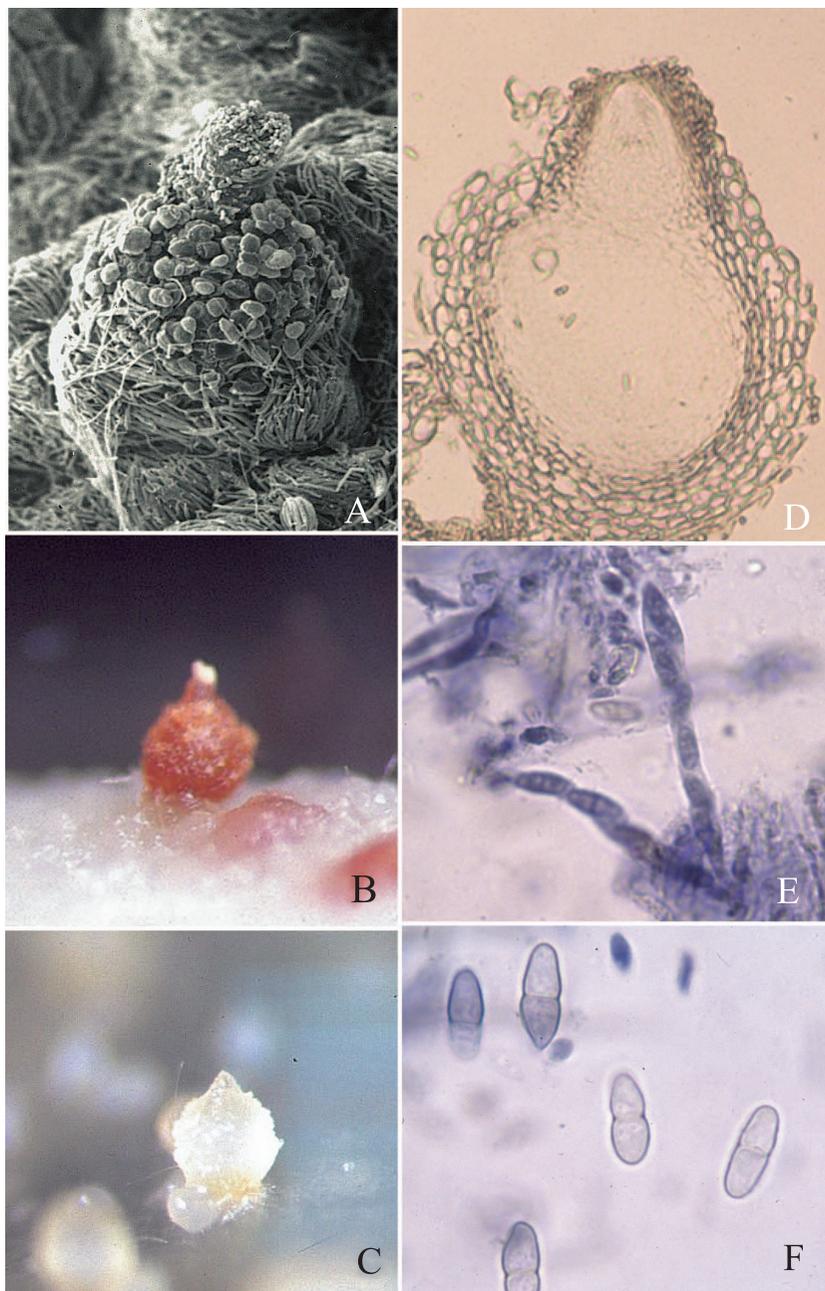


Fig. A. Scanning electron microscopy (SEM) of Ascoma on sporodochia.
Fig. B. Red color ascoma: ATCC18280 (donor)×Okinawa isolates (receptor).
Fig. C. White color ascoma: ATCC18278 (donor)×Ibaraki isolates (receptor).
Fig. D. Ascoma in longitudinal section.
Fig. E. Asci.
Fig. F. Ascospores.