

福岡県内サラダナ産地で分離された レタス根腐病菌レース3の体細胞和合性群

西村 範夫
(九州沖縄農業研究センター)

Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* race 3 causing butter-head lettuce root rot in Fukuoka. Norio Nishimura (National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, Kurume, Fukuoka 839-8503, Japan)

Fusarium oxysporum was isolated from farmers' plastic houses, in which root rot of butter-head lettuce had spread, in Fukuoka prefecture. Eighty-seven isolates of *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* race 3 were divided into four vegetative compatibility groups (VCGs), and all 119 isolates were obtained from diseased plants belonging to one of the four VCGs. VCG 1 was perfectly independent of the other VCGs. However, many isolates assigned into VCG 2, VCG 3, or VCG 4 formed not only strong heterokaryons with their own testers, but also strong or weak ones with testers of other VCGs. Some pathogenic isolates formed bluish-purple or bluish-brown colonies with dark gray aerial hyphae on a selective medium, Fo-W1. These isolates belonged to VCG 1. As a result, the pathogen could be distinguished from other *F. oxysporum* isolates by vegetative compatibility and the characteristics of colonies on Fo-W1.

Key words: vegetative compatibility group, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* race 3

緒 言

サラダナの根腐病は静岡県(市川ら, 1998), 福岡県(西村, 1998), 北海道(清水, 1998)で発生している。病原菌はMatsuo and Motohashi(1967)により *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*, そして福岡県で分離される病原菌はFujinaga et al.(2003)により同分化型のrace 3と同定された。

福岡県の産地ではクロルピクリンによる土壤消毒が行われている。当初は年1回の土壤消毒で周年栽培が可能であったが, 数年の内に消毒後の2または3作目のサラダナが被害を受けるようになり, 大きな問題となっている(西村, 1998)。土壤消毒後に多発する原因を解析するには, 消毒後にハウス内に残存する病原菌の位置と密度を明らかにする必要がある。

本論文では, 選択培地で分離した *F. oxysporum* を体細胞和合性検定法で病原菌と非病原菌に判別するため, 農家ハウスに生息する根腐病菌race 3の体細胞和合性群(Vegetative compatibility group, VCG)を調査したので, その結果を報告する。

材料及び方法

1. *F. oxysporum* の分離

福岡県内2産地の一方(産地A)では所有者の異なるハウス3棟から発病土または罹病根を, 他方(産地B)では1棟の土壤消毒前の発病土と土壤消毒後2作目の罹病株を採取した。発病土の100倍希釈土壌懸濁液0.5mlを選択培地Fo-W1(西村, 未発表)上に広げる希釈平板法と2%アンチホルミンで表面殺菌した罹病根をFo-W1上に置床する方法で *F. oxysporum* を分離し, 発病土からの94菌株と罹病株からの119菌株を体細胞和合性検定に供した。また, 産地Bのハウス及びそれに隣接するハウスから, 土壤消毒後の土壌を採取し, 10倍希釈土壌懸濁液0.5mlと2.5倍希土壌懸濁液1mlをそれぞれ選択培地Fo-G2(西村, 未発表)とFo-W3(西村, 未発表)上に広げて *F. oxysporum* 293菌株を分離した。これらを用いてVCG間の近縁関係を調べた。

2. 接種試験

産地AとBの発病土から分離した94菌株を, 50mlのシヨ糖加用ジャガイモ煎汁液体培地で25℃, 約5日間振とう培養した。サラダナは, 品種LT-25をペーパーポットに播種して約2週間育成した後, 10.5cmポリポットに移植し, 活着後に接種試験に供した。主根周辺

の2カ所に幅1 cmのナイフを差し込んで断根し、分離菌株培養液の全量を灌注接種した。2～3週間後に発病調査を行い、下葉が萎凋した小さい株を発病株とし、接種源の菌株を病原菌と判定した。

3. 体細胞和合性検定

硝酸塩代謝能欠損 (*nit*) 菌株の分離及び体細胞和合性検定は Correll et al. (1987) の方法に従った。最初に、産地 A と B の発病土から分離した病原菌の中に Fo-W1 上でのコロニー形態が大きく異なる菌株を見だし、それらから体細胞和合性検定の基準菌株 N3 と M7 を選出した。即ち、N3 型コロニーは表面がネズミ色で裏面が青紫色を呈し、M7 型コロニーは表面が白色で中心部が突起状に盛り上がる形状を呈した。基準菌株から分離した *nitM* 菌株 (N3-*nitM* と M7-*nitM*) と被検定菌株からの *nit 1* または *nit 3* 菌株を対峙培養した。罹病株から分離した菌株の場合は、基準菌株の *nit* 菌株を相補的に組み合わせて、即ち *nit 1* または *nit 3* の場合は *nitM*、逆に *nitM* の場合は *nit 1* を組み合わせて対峙培養した。生育旺盛なヘテロカリオンが生育した場合に、被検定菌株は体細胞和合性があると判定し、その基準菌株の VCG に配属した。一方、基準菌株との間に貧弱なヘテロカリオンを形成した菌株とヘテロカリオンを形成しなかった菌株については、それらの中で体細胞和合性検定を行い、VCG を区分した。次いで、これらの VCG の近縁関係を明らかにするため、土壤消毒後の土壌から分離した *F. oxysporum* 293 菌株を体細胞和合性検定に供した。本試験では、生育旺盛なヘテロカリオンを ++、生育が遅く貧弱なヘテロカリオンを (+)、ヘテロカリオンが育成しない場合を - で表示し、基準菌株との体細胞和合性を評価した。

結 果

1. 分離菌株の VCG

発病土から分離した菌株の病原性を接種試験により判

定した結果、産地 A から分離した44菌株中の43菌株、産地 B からの50菌株中44菌株が病原菌であった。菌株 N3 の VCG を 1、菌株 M7 の VCG を 2 にした時、産地 A の43菌株は全て VCG1 に所属した。産地 B の44菌株については、2 菌株が VCG1、38 菌株が VCG2 に所属したが、4 菌株は基準菌株との間にヘテロカリオンを形成しなかった。罹病株からの分離菌株については、産地 A のハウス 1 棟の17菌株は全て VCG1、もう一方のハウスでは、13 菌株が VCG1、2 菌株が VCG2、産地 B のハウスでは5 菌株が VCG1、80 菌株が VCG2 に所属したが、3 菌株はヘテロカリオン形成反応を示さなかった。そこで、二つの基準菌株との間に体細胞和合性が認められなかった合計7 菌株間の VCG を調べた結果、これらは2 群に区分され、VCG3 と VCG4 が設定された。以上の結果を第1表にまとめた。新 VCG の基準菌株として菌株 M104 (VCG3) と M150 (VCG4) を選出して、次の試験に用いた。

2. VCG の近縁関係

土壤消毒後の土壌から分離した *F. oxysporum* 293 菌株の内、214 菌株が基準菌株の一つ以上とヘテロカリオン形成反応を示した (第2表)。本試験では M7 と M104 の両方と ++ のヘテロカリオン形成反応を示す菌株が21 菌株存在し、これらを VCG2 に配属した。その結果、VCG1 に23 菌株、VCG2 に168 菌株、VCG3 に21 菌株、VCG4 に2 菌株が所属した。VCG1 の23 菌株は全て基準菌株 N3 のみと体細胞和合性を示した。それ以外の VCG に属する菌株の多くは複数の基準菌株との間で生育旺盛または貧弱なヘテロカリオンを形成する反応を示したので、4 基準菌株との反応が同じ菌株を VCG 内のサブグループとして類別した。それぞれの基準菌株のみとヘテロカリオンを形成した菌株は VCG2 に5 菌株、VCG3 に2 菌株、VCG4 に1 菌株であった。

3. 選択培地 Fo-W1 上のコロニー

発病土の100倍希釈土懸濁液0.5ml を選択培地 Fo-

第1表 福岡県内2産地の農家ハウスから分離した *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* race 3 と *F. oxysporum* の VCG

産地	分離場所	分離源	供試菌株数	各 VCG に所属する菌株数			
				VCG 1	VCG 2	VCG 3	VCG 4
A	ハウス a	発病土	44 (43) ^{a)}	43	0	0	0
A	ハウス b	罹病株	16 ^{b)}	16	0	0	0
A	ハウス c	罹病株	15 ^{b)}	13	2	0	0
B	ハウス d	発病土	50 (44) ^{a)}	2	38	3	1
B	ハウス d	罹病株	88 ^{b)}	5	80	2	1

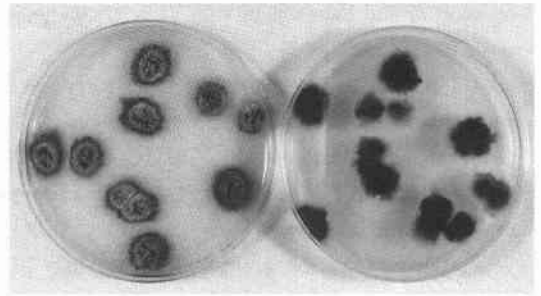
a) 接種試験により病原菌と判定した菌株の数を () 内に示した。

b) 病原性未検定。

W1上に広げて2週間以上25℃で培養した時、表面がネズミ色で裏面が青紫～青褐色を呈するコロニーが生育した。そのようなコロニーの1例として、基準菌株N3のコロニーを第1図に示した。また、10倍希釈や2.5倍希釈の土壤懸濁液を試料にした場合にはこのようなコロニーは認められなかったが、菌そうの一部を掻き取りFo-W1上に移植すると同型のコロニーを形成するものがあった。このような菌株は全てVCG1に属し、体細胞和合性が認められた全分離菌株に占める割合は産地Aのハウス3棟で63～100%、産地Bの1棟で2%であった。しかし、VCG1にはFo-W1上で白色のコロニーを形成する菌株も存在し、これらと非病原性菌株をコロニーの形状で判別することはできなかった。

考 察

福岡県内2産地の農家ハウス4棟のレタス根腐病菌レース3は4つのVCGに区分され、産地AではVCG1、産地BではVCG2の病原菌が多かった。VCG1の菌株は体細胞和合性検定で他の基準菌株との間にヘテロカリオンを形成せず、VCG1と他のVCGは明らかに異なった。VCG2、VCG3、VCG4の多くの菌株はVCG1以外の基準菌株ともヘテロカリオン形成反応を示し、これらのVCGは明瞭に区分できるグループではなかった。しかし、それぞれのVCGの基準菌株のみと体細胞和合性を示す菌株が存在したため、別のVCGとして区分する必要があった。*F. oxysporum* f. sp. *asparagi* (Elmer and Stephens, 1989), f. sp. *lycopersici* (Elias and Schneider, 1991) と f. sp. *cubense* (Bentley et al., 1998) のようにVCG数の多い分化型では体細胞和合性検定法で病原菌と非病原菌を判別することは事実上困難であるが、本病原菌のVCG数は少なく、体細胞和合性検定による判別は可能であると考えられた。ただし、調査圃場以外には、新たなVCGの病原菌が存在する可能性はある。



第1図 選択培地Fo-W1上に生育した菌株N3のコロニー
左：表面，右：裏面。

また、本病原菌の中には、選択培地Fo-W1上で表面がネズミ色で裏面が青紫～青褐色を呈するコロニーを形成するグループがあった。これらは例外なくVCG1であり、Fo-W1培地上でのコロニーの形状のみで判別が可能であった。

以上のことから、調査圃場の*F. oxysporum*については、Fo-W1培地上のコロニーの形状と体細胞和合性検定により、病原菌と非病原菌に判別できることが明らかになった。また、Fo-W1培地上でネズミ色のコロニーを形成する病原菌のみが生息する農家ハウスや接種試験圃場では、Fo-W1培地上のコロニーの形状のみで、病原菌密度の調査を簡易に行うことができる。

引用文献

- Bentley, S. B., K. G. Pegg, N. Y. Moore, R. D. Davis and I. W. Buddenhagen (1998) Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analyzed by DNA fingerprinting. *Phytopathology* 88 : 1283-1293.
- Correll, J. C., C. J. R. Klittich and J. F. Leslie (1987) Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium*

第2表 各VCGに所属する菌株と基準菌株の間のヘテロカリオン形成反応

基準菌株 (VCG)	VCG 1 (23) ^{a)}	VCG 2 (168) ^{c)}					VCG 3 (21) ^{c)}				VCG 4 (2) ^{c)}	
		2A ^{d)} (4)	2B ^{d)} (17)	2C (20)	2D (122)	2E (5)	3A (2)	3B (16)	3C (1)	3D (2)	4A (1)	4B (1)
N3 (VCG 1)	++ ^{b)}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M7 (VCG 2)	-	++	++	++	++	++	(+)	(+)	-	-	(+)	-
M104 (VCG 3)	-	++	++	(+)	(+)	-	++	++	++	++	(+)	-
M150 (VCG 4)	-	(+)	-	(+)	-	-	(+)	-	(+)	-	++	++

a) () 内の数字は所属する菌株数を示す。

b) ++は育成旺盛, (+)は貧相なヘテロカリオンが生育したこと, -はヘテロカリオンが生育しなかったことを示す。

c) 基準菌株に対するヘテロカリオン形成反応が同じ菌株をVCG内のサブグループとしてまとめ、2A～2E, 3A～3D, 4Aおよび4Bとした。

d) 基準菌株M7とM104の両方に++のヘテロカリオン形成反応を示した菌株はVCG2に配属した。

- oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* 77 : 640-1646.
- Elias, K. S. and R. W. Schneider (1991) Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology* 81 : 159-162.
- Elmer, W. H. and C. T. Stephens (1989) Classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* into vegetatively compatible groups. *Phytopathology* 79 : 88-93.
- Fujinaga, M., H. Ogiso, N. Tuchiya, H. Saito, S. Yamanaka, M. Nozue and M. Kojima (2003) Race 3, a new race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* determined by a differential system with commercial cultivars. *J Gen Plant Pathol* 69 : 23-28.
- 市川 健・牧野孝宏・土井 誠 (1998) 非病原性フザリウム菌による土耕栽培サラダナ根腐病の生物防除. 関西病虫研報40 : 119-120.
- Matuo, T. and S. Motohashi (1967) On *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* n. f. causing root rot of lettuce. *Trans. Mycol. Soc. Japan* 8 (1) : 13-15.
- 西村範夫 (1998) サラダナ根腐病菌の選択培地上での識別と発病ハウス土壤中の密度. 九州農業研究 60 : 75.
- 清水基滋 (1998) 北海道におけるチシャ根腐病の発生. 北日本病虫研報 49 : 51-53.
- (2003年5月6日受領; 7月1日受理)