Fusarium solani f. sp. *eumartii* によるトマトフザリウム株腐病 (新称)

中山 喜一^{1*}・青木 孝之²

ABSTRACT

NAKAYAMA, K.^{1*} and AOKI, T.² (2010). Foot rot of tomato, a new disease in Japan, caused by *Fusarium solani* f. sp. *eumartii*. Jpn. J. Phytopathol. 76: 7–16.

Foot rot of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.), observed in Tochigi Prefecture in May and June 2004, was characterized by discoloration of main root and wilt. Fungal strains that were isolated from symptomatic tissue, caused the same symptoms on tomato plants after artificial inoculations with the isolates. On the basis of morphological and molecular analyses, together with the pathogenicity tests, the fungus was identified as *Fusarium solani* f. sp. *eumartii*. In this report of foot rot disease of tomato caused by *F. solani* f. sp. *eumartii* in Japan, we propose the Japanese name “Fusarium kabugusare-byo” of tomato.

(Received May 21, 2009; Accepted September 11, 2009)

Key words: tomato, foot rot, *Fusarium solani* f. sp. *eumartii*.

緒 言

2004年5～6月、栃木県宇都宮市および真岡市の施設栽培トマト（土耕栽培、促成長期どり栽培）で、主根が激しく褐変腐敗し、病勢が進展すると立枯症状を呈する病害が発生した。本症状の原因を究明したところ、*Fusarium solani* species complex（種複合体）（O'Donnell, 2000）の一菌種によって起こる新病害と判明した。これまで、*F. solani* によるトマト病害としては、大嶋・多賀（1991）が水耕栽培トマトの根腐れ部からホモタリクスの *Nectria haematococca*（不完全時代 *F. solani*）を分離し、今村ら（2000）も土耕栽培トマトから同様の菌を分離しており、後にこれらの菌は *Haematonectria ipomoeae*（不完全時代 *F. striatum*）と改名された（多賀ら、2006）。しかし、今回栃木県で分離された菌株は、単独では発病株および培地上で完全時代の形成が認められず、既往の報告とは異なっている。

そこで、本病の病徴、発生状況、病原菌の所属について検討したので、その概要を報告する。なお、本報告の一部は平成18年度日本植物病理学会大会で発表した（中山ら、2006）。

材料および方法

病徴および発生状況 2004年5～6月に宇都宮市および真岡市の施設栽培トマト（穂木品種‘ハウス桃太郎’、台木品種は‘がんばる根3号’または‘がんばる根11号’）で、立枯症状が発生したため、その病徴を観察した。また、2006年10月16日から2007年6月7日まで、宇都宮市の自然発生圃場（穂木品種‘マイロック’、台木品種‘ブロック’）における本病の発生状況を経時的に調査した。

病原菌の分離 地際部付近の茎を水道水で十分に水洗した後、罹病部組織を約5 mm角に切り取り、この切片を70%エタノールに約30秒間浸漬して表面殺菌し、殺菌蒸留水で洗浄し殺菌濾紙で水滴をとった後、ブドウ糖加用ジャガイモ煎汁寒天（Potato dextrose agar; PDA）培地に置床した。25°C、暗条件で培養した後、単分子分離を行って供試菌株とした（Table 1）。本分離菌株は（独）農業生物資源研究所ジーンバンク微生物部門（MAFF）にMAFF 240345, MAFF 240346, MAFF 240347として寄託登録した。

分離菌株の接種 分離菌株04T-1, 04T-2および04T-3を

¹ 栃木県農業試験場（〒320-0002 栃木県宇都宮市瓦谷町1080） Tochigi Prefectural Agricultural Experiment Station, 1080 Kawaraya-cho, Utsunomiya, Tochigi 320-0002, Japan

² 農業生物資源研究所（〒305-8602 茨城県つくば市観音台2-1-2） NIAS Genebank, National Institute of Agrobiological Sciences, 2-1-2 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan

* Corresponding author (E-mail: nakayamak01@pref.tochigi.lg.jp)

本研究で明らかになったDNA塩基配列は、DDBJ/EMBL/GenBank DNAデータベースにAccession Nos. AB498980–AB498985, AB513841, AB513843–AB513849, AB513851, AB513852として登録した。

Table 1. *Fusarium* isolates obtained from rotten stems of tomato cultivars

Isolate	MAFF No.	Location	Year	Cultivars	Culture system
04T-1	MAFF 240345	Utsunomiya, Tochigi	2004	House Momotaro ^{a)} /Ganbarune 3 gou ^{b)}	Soil cultivation
04T-2	MAFF 240346	Utsunomiya, Tochigi	2004	House Momotaro/Ganbarune 3 gou	Soil cultivation
04T-3	MAFF 240347	Mooka, Tochigi	2004	House Momotaro/Ganbarune 11 gou	Soil cultivation

a) Scion cultivar

b) Rootstock cultivar

合成低栄養寒天 (Synthetic Low Nutrient Agar; SNA) 培地 (Nirenberg and O'Donnell, 1998), 25°C, 暗条件で 7 日間培養し, 分生子を殺菌蒸留水に懸濁し 10⁵ 個/ml の孢子懸濁液を作製した. これを接種源として, トマト台木品種 ‘がんばる根 3 号’ 苗 (第 6 葉期) に浸根接種 (Wellman, 1939) し, 1/5000 a ワグネルポット中の殺菌土壌に移植した. 接種 78 日後に株を抜き取り根部の発病状況を調査した. また, 接種植物の病斑部から接種菌の再分離を行った.

分離菌株のトマト各品種に対する病原性調査には, 穂木品種の ‘麗容’, ‘マイロック’, ‘桃太郎はるか’, ‘ハウス桃太郎’ の 4 品種, 台木品種の ‘ブロック’, ‘ジョイント’, ‘がんばる根 3 号’, ‘がんばる根 11 号’, ‘ドクター K’, ‘サポート’, ‘マグネット’, ‘プロテクト 3’ の 8 品種, 計 12 品種を供試した. なお, 接種は, 分離菌株 04T-2 を土壌ふすま培地 (松尾ら編, 1980) で 25°C, 40 日間培養し, 1/5000 a ワグネルポット中の殺菌土壌に重量で 1% の割合で混和し保菌土壌とした後, 殺菌土壌で育苗したトマト苗 (2.0 ~ 2.5 葉期) を移植した. 移植 84 日後に株を抜き取り発病状況を調査した.

分離菌株の宿主範囲調査には, トウモロコシ ‘ハニーバンタム’, ダイズ ‘富貴’, インゲンマメ ‘本金時’, ‘初みどり 2 号’, ササゲ ‘赤種三尺大長’, ソラマメ ‘讃岐長英早生蚕豆’, ナス ‘はやぶさ’, キュウリ ‘鈴成四葉’, カボチャ ‘みやこ’, ユウガオ ‘相生 FMT’, ハクサイ ‘金将二号’, シュンギク ‘きわめ中葉春菊’, オクラ ‘大和グリーンオクラ’ の計 12 種 13 品種を供試した. 接種は, トマト各品種に対する病原性調査と同様に分離菌株 04T-2 を土壌ふすま培地で 25°C, 27 日間培養し, 1/5000 a ワグネルポット中の殺菌土壌に 1% の割合で混和し保菌土壌とした後, 殺菌土壌で育苗した供試植物を移植した. 移植 57 日後に株を抜き取り発病状況を調査した. また, 接種植物の病斑部から接種菌の再分離を行った.

分離菌株のジャガイモに対する病原性調査には, 分離菌株 04T-1, 04T-2 および 04T-3 を土壌ふすま培地で室温下, 54 日間培養し, 1/5000 a ワグネルポット中の殺菌土壌に 1% の割合で混合し保菌土壌とした後, ‘男爵薯’ のマイクロチューバーおよびトマト ‘ジョイント’ 苗 (3.5 ~ 4.0 葉期) を移植した. 移植 62 日後または 71 日後に株を抜き取り発病状況を

調査した. また, 接種植物の病斑部から接種菌の再分離を行った. さらに, ジャガイモ茎葉への病原性調査には, ‘男爵薯’ のマイクロチューバーを黒ポリポット (直径 15 cm) 中の殺菌土壌に植え付け, その 19 日後に, 分離菌株 04T-2 を PDA 平板培地で 25°C, 暗条件で 13 日間培養し調整した 10⁵ 個/ml の分生子懸濁液をペーパークロマトグラフ用噴霧器で接種した. 接種後は 16 時間湿室状態を保ち, 接種 36 日後に発病状況を調査した.

病原菌の形態および生育温度 分離菌株を SNA 培地で 25°C, 暗条件で 14 日培養後に形成された分生子の形, 隔壁数, 厚壁胞子の有無, 分生子形成細胞の形態およびその分生子形成様式を光学顕微鏡で観察した. 分生子の大きさについては, 分生子の種類と隔壁数を区別し, 菌株ごとにそれぞれ 30 個ずつを計測した. 菌糸の生育温度は, 分離菌株を PDA 平板培地で 25°C, 暗条件で前培養した後, コルクボーラー (直径 4 mm) で打ち抜いた菌叢片を PDA 平板培地上に置床し, 5°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 28°C, 30°C, 35°C および 37°C の各温度で暗条件, 6 日間培養後の菌叢直径を調査した.

以上の分離菌株の分生子の形態, PDA 平板培地上での菌叢の色調および生育温度の結果をもとに, Gerlach and Nirenberg (1982) の記載と比較し形態的特徴に基づく菌種の同定を試みた.

分子系統解析 分離菌株 3 株それぞれを SNA 培地上に接種した後に, 殺菌濾紙片を 5 mm 直径の円盤に打ち抜いて 3 ~ 5 枚重ねにしたものを SNA 培地上に接着して培養した. 菌集落が生育し紙円盤を覆ったことを確認後, 紙円盤をエッペンドルフ・チューブに回収, PCI (Phenol:Chloroform:Isoamyl alcohol = 25:24:1) 処理により菌体より全 DNA を抽出, 遠心分離後の上清に 3 M 酢酸ナトリウム水溶液 1/10 容量と 100% エタノール 2.5 倍容量を加えて, さらに遠心分離し DNA を沈殿させ, 乾燥, Tris バッファー (pH 8.0) 25 µl に溶解して, その 1 µl を鋳型 DNA として, 翻訳伸長因子 (translation elongation factor; TEF) 1-α 遺伝子および rDNA ITS 領域の塩基配列の解析に供した. TEF1-α 遺伝子の PCR 増幅にはプライマー EF1 と EF2 (O'Donnell ら, 1998) を, rDNA ITS 領域の PCR 増幅にはプライマー ITS5 と NL4 (White ら, 1990;

O'Donnell, 1996) を用いた。それぞれプライマー EF1 と EF2, プライマー ITS2, ITS5, NL1, NL3 および NL4 (White ら, 1990; O'Donnell, 1996) を用いたダイレクトシークエンスにより塩基配列を決定した。また、近縁菌種の当該遺伝子領域の DNA 塩基配列を DDBJ/EMBL/GenBank のデータベースよりダウンロードするとともに、日本産典型菌株として、*F. striatum* の 3 菌株 (MAFF 237667, MAFF 237668, MAFF 238974) と *F. solani* f. sp. *radicicola* の 1 菌株 (MAFF 731042) について TEF1- α 遺伝子と rDNA ITS 領域を、*F. striatum* の 1 菌株 (MAFF 240020) と *F. solani* f. sp. *pisi* の 1 菌株 (MAFF 840047) について rDNA ITS 領域を塩基配列決定し、そのデータも比較のために用いた。供試菌株より得た DNA 塩基配列は比較のための塩基配列データと共に、Clustal X (Thompson ら, 1997) でアラインメントした。配列上のギャップおよび不明瞭に決定された配列部分は全て除去し、分子系統解析した。分子系統解析および分子系統樹の作成はソフトウェア PAUP*4.0b10 (Swofford, 2002) を用いた。一部菌株の rDNA ITS 領域の塩基配列については、ブドウ糖加用ジャガイモ煎汁液体 (Potato dextrose broth; PDB) 培地に移植した分離菌株を室温で 11 日間振とう培養し、DNeasy® Plant Mini Kit (QIAGEN Sciences, Germantown, USA) を用いて抽出した DNA に基づいて解析した。本研究で明らかにした DNA 塩基配列は DDBJ に登録した (Accession Nos. AB498980–AB498985, AB513841, AB513843–AB513849, AB513851, AB513852)。

結 果

病徴および発生状況

本病はトマトの根および茎に病徴を示した。根では、はじめ主根の表面に淡褐色で不整形の病斑が形成され、しだいに拡大しながら褐変腐敗した大型病斑となった。主根の病斑部から伸びている側根の付け根付近に褐変腐敗が認められたが、大部分の側根には病徴は認められなかった (Fig. 1-a)。主根の病斑はしだいに上下へ拡大進展し、地際部付近の茎の褐変腐敗となって現れた。まれに地際部から 50～100 cm 上位まで病斑が進展し、茎の表面が褐色条斑を呈する病斑を形成した。葉は下葉から黄化し、しだいに萎凋、枯死した。根および地際部の褐変腐敗が激しい場合、株が立枯症状を呈した (Fig. 1-b)。

促成長期どり栽培 (通常、8 月上旬定植) の自然発生圃場では、10 月下旬から発生が始まり、翌春の 4 月下旬以降、発病株率が急激に高まり、6 月上旬には地上部の発病株率は 41.7% に達した。なお、圃場内の全株を抜き取り、地下部の発病状況を調査したところ、発病株率は 68.0% に達していた (データ略)。

分離菌株の病原性

分離菌株の接種により、トマト台木品種 ‘がんばる根 3 号’ の根部に原病徴が再現され、病斑部から接種菌が再分離された (Table 2)。また、トマト各品種に対する接種試験の結果、供試した計 12 品種すべてで発病が認められ、高度な抵抗性を示す品種は見あたらなかった。供試品種の中では、台木品種 (計 8 品種) の発病株率は穂木品種 (計 4 品種) に比較して全般に高かった (Table 3)。

分離菌株の宿主範囲を調査したところ、供試菌株は接種植物ではインゲンマメ ‘初みどり 2 号’ およびソラマメ ‘讃岐長莢早生蚕豆’ にのみ病原性が認められ、トウモロコシなど 10 種 10 品種およびインゲンマメ ‘本金時’ には病原性が認められなかった (Table 4)。また、罹病したインゲンマメとソラマメの両品種の根の病斑部から接種菌が再分離された。

ジャガイモへの病原性を調査したところ、分離菌株を接種した ‘男爵薯’ の茎の基部が褐変腐敗した (Fig. 1-c, d)。塊茎では、その表面の一部が淡褐色に変色し亀裂が入り、しだいに亀裂が内部に進展し、内部が褐変腐敗した (Fig. 1-e, Table 5)。病斑部からは接種菌が再分離された。また、分離菌株の分生子懸濁液をジャガイモ茎葉へ接種したところ、茎葉には病徴は認められなかった。

病原菌の形態および生育適温

小分生子は楕円～紡錘形で 0 から 1 隔壁であった。SNA 上での 0 隔壁の小分生子は $3.5\text{--}18.5 \times 1.5\text{--}6$ (菌株毎の平均値の範囲: $8.5\text{--}9 \times 2.7\text{--}2.8$) μm であった。小分生子柄は長く、非分枝あるいは分枝し、モノフィアライドから擬頭状に分生子を形成した (Fig. 1-f, g)。大分生子柄は比較的短く、分枝あるいは非分枝で、モノフィアライドから分生子を形成した (Fig. 1-h)。大分生子は鎌形で 1 から 5 隔壁で基部に脚胞を有していた。3 隔壁の大分生子は、PDA 上では $27\text{--}43.5 \times 3\text{--}5.5$ (菌株毎の平均値の範囲: $35\text{--}38.8 \times 4.4\text{--}4.7$) μm , 5 隔壁は $35.5\text{--}49.5 \times 3.5\text{--}6.5$ (菌株毎の平均値の範囲: $42.6\text{--}45.2 \times 4.8\text{--}4.9$) μm であった。厚壁胞子は球形、間生または頂生で、単生もしくは連鎖、表面平滑または粗で、SNA 上では大きさは $7.5\text{--}15 \times 7.5\text{--}8.8$ (平均値: 10.1×8.6) μm であった (Table 6)。PDA 培地上では、本菌の菌叢ははじめ白色で、しだいに灰白色～オリーブ色を呈した (Fig. 1-i)。菌糸の生育は、10～37°C で認められ、適温は 28～30°C 付近であった (Fig. 2)。

以上の不完全時代の形態的特徴から、分離菌株は Gerlach and Nirenberg (1982) の記載による *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. とほぼ一致した (Table 6)。また、Nirenberg and Brielmaier-Liebetanz (1996) および Rossman *et al.* (1999) による *Fusarium striatum* Sherb. (完全時代: *Haematonectria ipomoeae* (Halst.) Samuels et Nirenberg) の記載と比較したところ、本菌の 5 隔壁

Fig. 1. Foot rot of tomato plant caused by *Fusarium solani* f. sp. *eumartii*. a: Natural symptom of foot rot on tomato plant. b: Serious damage of the disease on tomato plant. c: Healthy potato plant. d: Symptom of stem end rot on potato plant. e: Symptom of brown rot on potato tuber. f, g: Aerial conidia formed in false head from monophialide and conidiophore of MAFF 240345(=04T-1). (bar=20 μ m). h: Septate, falcate conidia formed from monophialide and branched conidiophore of MAFF 240345(=04T-1). (bar=20 μ m). i: Colony of MAFF 240346 (=04T-2) on PDA.

Table 2. Pathogenicity of isolates on tomato plants

Isolate	No. diseased plants/No. tested plants ^{a)}
04T-1	5/5
04T-2	5/5
04T-3	5/5
Control	0/5

a) Cv. Ganbarune 3 gou

大分生子は明らかに短く、形態的に一致しなかった (Table 6).

分子系統解析

供試 3 菌株より得られた TEF1- α 遺伝子および rDNA ITS 領域の DNA 塩基配列を GenBank に登録されている *F. solani* 種複合体の典型菌株のデータおよび日本産典型菌株のデータと併せて解析し、最大節約法で系統樹を作成した (Figs. 3, 4). ギャップ配列は除去して解析を行った. その結果, 分離菌株は O'Donnell による *F. solani* 種複合体のクレード 1 ~ 3 のうちクレード 3 に属していたが, これまでに知られている *F. solani* 種複合体の交配群 (MPI ~ VII) のいずれとも異なる

る系統学的位置であった. 分離菌株は, Romberg and Davis (2007) がアメリカ, カリフォルニアで発生したジャガイモの *Eumartii* wilt およびトマトの Foot rot の原因菌とした *F. solani* f. sp. *eumartii* 菌株とその TEF1- α 遺伝子 (597 塩基対分) の塩基配列が完全に一致あるいは 99.8% 相同であった. また, rDNA ITS 領域の塩基配列 (525 塩基対分) も 98.8 ~ 99.8% と高い相同性が認められた. 両遺伝子領域について作製した分子系統樹においても分離菌株は Romberg and Davis (2007) による *F. solani* f. sp. *eumartii* と同一のクレードに所属した (Figs. 3, 4).

考 察

2004 年 5 ~ 6 月, 栃木県宇都宮市および真岡市の施設栽培トマトで, 茎の基部および主根が激しく褐変腐敗し, 病勢が進展すると立枯症状を呈する病害が発生した. 病斑部から *Fusarium* 属菌が高率に分離され, 分離菌株を用いた土壤接種によりトマトでの原病徴が再現され, 接種菌が再分離された. また, 本分離菌株は, 土壤接種によりジャガイモ茎の基

Table 3. Pathogenicity of isolate 04T-2 on tomato cultivars

Treatment	Cultivar	Disease incidence (%) ^{a)}	Disease severity ^{b)}
Inoculated	Reiyo	40	10.0
	Myrock	30	17.5
	Momotaroharuka	30	10.0
	House Momotaro	30	12.5
	Block	60	25.0
	Joint	100	55.0
	Ganbarune 3 gou	40	20.0
	Ganbarune 11 gou	70	25.0
	Doctor K	70	32.5
	Support	80	42.5
	Magnet	60	27.5
	Protect 3	60	27.5
Control	Reiyo	0	0
	Myrock	0	0
	Momotaroharuka	0	0
	House Momotaro	0	0
	Block	0	0
	Joint	0	0
	Ganbarune 3 gou	0	0
	Ganbarune 11 gou	0	0
	Doctor K	0	0
	Support	0	0
	Magnet	0	0
	Protect 3	0	0

a) (Number of diseased plants/Number of tested plants) $\times$ 100b) $[\sum (X_i \cdot n_i) / 4N] \times 100$, where X_i = Index based on severity of disease(0, no symptoms; 1, main root partially necrotic; 2, main root almost completely necrotic; 3, stem necrotic; 4, death); n_i = Number of plants expressed as X_i , N = Total number of plants examined

Table 4. Pathogenicity of isolate 04T-2 on tested plants

Treatment	Tested plants	Cultivar	Disease incidence (%) ^{a)}	Disease severity ^{b)}
Inoculated	Maize	Honey bantam	0	0
	Soybean	Fuuki	0	0
	Kidney bean	Honkintoki	0	0
	Kidney bean	Hatsumidori 2 gou	85.7	21.4
	Cowpea	Akatane-sanjaku-oonaga	0	0
	Broad bean	Sanuki-nagasaya-wase-soramame	71.4	17.9
	Eggplant	Hayabusa	0	0
	Cucumber	Suzunarisuuyo	0	0
	Pumpkin	Miyako	0	0
	Bottle gourd	Aioi FMT	0	0
	Chinese cabbage	Kinsho 2 gou	0	0
	Garland chrysanthemum	Kiwame-tyuuba-shungiku	0	0
	Okra	Yamato green okura	0	0
Control	Maize	Honey bantam	0	0
	Soybean	Fuuki	0	0
	Kidney bean	Honkintoki	0	0
	Kidney bean	Hatsumidori 2 gou	0	0
	Cowpea	Akatane-sanjaku-oonaga	0	0
	Broad bean	Sanuki-nagasaya-wase-soramame	0	0
	Eggplant	Hayabusa	0	0
	Cucumber	Suzunarisuuyo	0	0
	Pumpkin	Miyako	0	0
	Bottle gourd	Aioi FMT	0	0
	Chinese cabbage	Kinsho 2 gou	0	0
	Garland chrysanthemum	Kiwame-tyuuba-shungiku	0	0
	Okra	Yamato green okura	0	0

a) (Number of diseased plants/Number of tested plants)×100

b) $[\sum (X_i - n_i)/4N] \times 100$, where X_i =Index based on severity of disease

(0, no symptoms; 1, main root or lateral root partially necrotic; 2, main root almost completely necrotic; 3, stem necrotic; 4, death); n_i =Number of plants expressed as X_i , N =Total number of plants examined

Table 5. Pathogenicity of isolates on potato at 71 days after inoculation and tomato plants 62 days after inoculation

Isolate	Potato cv. Danshakuimo	Tomato cv. Joint
	No. diseased/No. tested	No. diseased/No. tested
04T-1	12/20	5/5
04T-2	19/20	5/5
04T-3	16/20	4/5
Control	0/20	0/5

部や塊茎の表面に褐変腐敗を生じさせ、ジャガイモに対する病原性も確認された。

分離菌株は、小分生子を擬頭状に形成し、小分生子柄が長く、まばらに分枝することなどから *F. solani* (Gerlach and Nirenberg, 1982) に属すると判断された。 *Fusarium solani* 種複合体 (O'Donnell, 2000) には交配群 I ~ VII が知られているが、分離菌株は翻訳伸長因子 (TEF)1- α 遺伝子および rDNA

ITS 領域の DNA 塩基配列に基づく分子系統解析を行ったところ、既知の交配群には属していなかった。また、現時点では、分離菌株の完全時代は植物体上および培地上とも得られておらず、少なくともホモタリックではないと推察される。供試3菌株による交配実験を試みたが完全時代は形成されなかった。

Fusarium 属菌では種分類の有力な情報として、TEF1- α 遺伝子や rDNA ITS 領域の解析およびその分子系統解析が行われており、*F. solani* でも重要な分子データとして活用されている。本分離菌株の TEF1- α 遺伝子は、Romberg and Davis (2007) がアメリカ、カリフォルニアで発生したトマトの foot rot、ジャガイモの *Eumartii* wilt から分離した *F. solani* f. sp. *eumartii* と 100%一致あるいは 99.8%の相同と判明し、rDNA ITS 領域での相同性も 98.8 ~ 99.8%と高かった。さらに、両遺伝子領域の分子系統樹も分離菌株が Romberg and Davis (2007) による *F. solani* f. sp. *eumartii* と同一のクレードに所属し、分子系統学的に良く対応することを示していた

Table 6. Morphological comparison of the present fungus (04T-2) with given descriptions for *Fusarium solani* and *F. striatum*.

	04T-2	<i>F. solani</i> ^{a)}	<i>F. solani</i> ^{b)}	<i>F. striatum</i> ^{c)}	<i>F. striatum</i> ^{d)}
Macroconidia					
Septa	1–5		3–5(–7)	3–5(–7)	
Size (3-septate) (μm)	27–43.5×3–5.5 ^{e)} (35.0–38.8×4.4–4.7) ^{k)}	31.2–52.8×7.2–9.6 ^{g)} (40.1×7.9)	27–50×4.2–6 (36×5.3)		
Size (5-septate) (μm)	35.5–49.5×3.5–6.5 ^{e)} (42.6–45.2×4.8–4.9) ^{k)}		34–55×4.2–6 ^{h)} (41×5.3)	45.8–68×4.8–6 ^{f)} (49.2–60.3×5.2–5.9)	49–64×4.8–5.9
Microconidia					
Septa	0–1		0–1	0–3(–5)	
Size (0-septate) (μm)	3.5–18.5×1.5–6 ⁰⁾ (8.5–9.0×2.7–2.8) ^{k)}	7.9–16.8×4.6–6 (12.5×5.5)	8–13×3.2–4 (10×3.5)	6.5–15×2–4 ^{f)} (7–11.4×2.2–3.4)	9.8–14.5×4.5–5
Conidiophores of microconidia					
Size (μm)	≤ 255×2.5–5.5 ⁰⁾				
Chlamydospores					
Size (μm)	7.5–15×7.5–8.8 ⁰⁾ (10.1×8.6) ^{k)}		6–11		

a) Snyder and Hansen (1945) b) Gerlach and Nirenberg (1982) c) Nirenberg and Brielmaier-Liebetanz (1996) d) Rossman *et al.* (1999)
e) On PDA f) On SNA g) 1–4-septate h) 4–5-septate i) Under 12 hr dark/12 hr near-UV light
j) Homothallic production of ascocarps/ascospores k) Means were calculated for 30 measured conidia.

Fig. 2. Mycelial growth of isolates at different temperatures on PDA after 6 days of incubation

(Figs. 3, 4).

Carpenter (1915) はジャガイモ塊茎の腐敗した部分から *Fusarium* 属菌を分離し、分離菌株を *F. eumartii* と呼ぶことを提案した。Goss (1940) はジャガイモから *F. solani* を分離している。その後、*F. eumartii* は *F. solani* の一分化型である *f. sp. eumartii* に、当初は品種 (*f. eumartii*) として組み換えられた (Snyder and Hansen, 1941)。Romberg and Davis (2007) はトマト、ジャガイモから菌を分離し、それぞれに対する病原性を確認し、*F. solani f. sp. eumartii* と同定した。Romberg and Davis (2007) の分離菌株については、トマトおよびジャガイモ、トウガラシ、ナスへの病原性が確認されているが、我々の分離菌株も、トマト、ジャガイモへの病原性を有し、その病徴は Romberg and Davis の報告とよく一致していた。

そこで、栃木県のトマトから分離した菌株については、トマトやジャガイモに対する病原性、形態的な特徴、TEF1-α

遺伝子および rDNA ITS 領域に関する分子データの解析結果に基づき *F. solani f. sp. eumartii* と同定した。

これまで *F. solani* に関係したトマト病害としては、大嶋・多賀 (1991) が水耕栽培のトマトから *Nectria haematococca* を、今村ら (2000) が施設トマト (土耕栽培) から同様な病原菌を分離し、立枯病と命名された。後にこれらの菌は共に分子系統学的解析や核型解析等に基づき *Haematonectria ipomoeae* (不完全時代 *F. striatum*) と改名された (多賀ら, 2006)。本報告での分離菌株を、Nirenberg and Brielmaier-Liebetanz (1996) および Rossman *et al.* (1999) による *Fusarium striatum* の記載と比較したところ、本菌の 5 隔壁大分子子は長さが短く、形態的に一致しないことから別の菌種であると判断した。また、病徴については、*H. ipomoeae* による立枯病では発病株の地際部や露出根部に赤～橙色の子のう殻を表皮する場合が多く、また、台木品種の髓部黒変が認められるが (今村ら, 2000)、本病ではいずれも観察されず、病徴が異なっている。さらに、立枯病では、トマト根腐萎凋病のように主根、側根を含めた激しい根腐れが認められたとあり (漆原, 私信)、この点でも本病の病徴とは大きく異なっている。農業生物資源研究所 ジーンバンク微生物部門 (MAFF) に保存される大嶋・多賀 (1991) によるトマトとガーベラ由来の菌株 (当初、*Nectria haematococca* として登録) を含めた日本産の *F. striatum* 4 菌株について分子系統解析を行ったところ、rDNA の ITS 領域の解析では本報告での分離菌株は *F. striatum* 菌株とは 2 塩基の違いで比較的近い位置関係にあったが (Fig. 4)、TEF1-α 遺伝子では互いに高いブート・ストラップ

Fig. 3. Phylogenetic tree based on analyses of sequence of TEF1-α gene for foot rot of tomato plants using the maximum parsimony method.

確率で支持される異なったクレードへと分離し (Fig. 3), 分子系統学的観点からも, 本分離菌株と *F. striatum* は別個の種であると判断された。

本病と類似の病害に *Rhizoctonia solani* によるトマト株腐病がある。株腐病では, 収穫期に株が青枯れる症状が発生し, 発病株の地際部は外側から褐変・軟化しているが (三澤, 2007), 褐変は主根からではなく地際部付近から始まる (三澤, 私信)。本病と株腐病の病徴は, 地際部の褐変・軟化が類似しているが, 株腐病の株が青枯れを呈し褐変は地際部付近から始まる点で異なっている。また, その病原菌も大きく異なる糸状菌である。

本報告での分離菌株については, トマト, ジャガイモ以外ではインゲンマメ, ソラマメに対する病原性も認められた。本邦では, インゲンマメの根腐病 (*Fusarium* root-rot) の病原菌として, *F. solani* (Matius) f. sp. *phaseoli* (Burkh.) Snyder et Hansen (日本植物病理学会編, 2000) (= *F. cuneirostrum* O'Donnell et T. Aoki; Aoki ら, 2005) の報告はあるが, *F. solani* f. sp. *eumartii* による病害の報告はない。また, ソラマメでは, 立枯病 (Stem wilt, Root rot) の病原として, *F. avenaceum* (Fries) Saccardo, *F. oxysporum* Schlecht.: Fries f. sp. *fabae* Yu et

Fang が知られており, *F. solani* (Martius) Saccardo も分離されたとある (日本植物病理学会編, 2000)。本研究では, GenBank からの *F. solani* 種複合体の典型菌株の TEF1-α 遺伝子および rDNA ITS 領域のデータに併せて, 日本産 *F. solani* f. sp. *radicola* (MAFF 731042) と *F. solani* f. sp. *pisi* (MAFF 840047) 菌株から決定した塩基配列についても分子系統解析を行った。その結果, 本報告での分離菌株はこれらの菌株のいずれとも異なる分子系統学的位置にあった (Figs. 3, 4)。今後, インゲンマメおよびソラマメについても本菌の発生動向に注意を払う必要があると考える。

以上のことから, 本邦では *F. solani* f. sp. *eumartii* によるトマトの病害発生は報告はなく, 本病を *F. solani* f. sp. *eumartii* によるトマトフザリウム株腐病と呼ぶことを提案する。

摘 要

2004 年 5～6 月, 栃木県の施設栽培トマト (土耕栽培) で, 茎の基部が激しく褐変腐敗し, 病勢が進展すると立枯症状を呈する病害が発生した。病斑部から常法により病原菌を分離したところ, *Fusarium* 属菌が高率に分離された。分離菌株の小分生子は, 0～1 隔膜, 楕円～紡錘形で長い分生子柄上に擬

Fig. 4. Phylogenetic tree based on analyses of sequence of rDNA ITS region for foot rot of tomato plants using the maximum parsimony method.

頭状に形成された。大分生子は、1～5隔膜、鎌形であった。厚壁胞子は表面平滑または粗であった。分離菌株をトマトに接種したところ原病徴が再現され、接種菌が再分離された。トマト以外の植物に対する寄生性を検討したところ、インゲンマメ‘初みどり2号’およびソラマメ‘讃岐長英早生蚕豆’に病原性が認められた。TEF1- α 遺伝子による系統解析により、分離菌株はO'Donnellによる*Fusarium solani*種複合体のクレード3に属したが、交配群MP-I～VIIのいずれとも異なった系統群であることが判明した。また、分離菌株は、Romberg and Davis (2007)の報告した*F. solani* f. sp. *eumartii*とTEF1- α 遺伝子の塩基配列が一致し、rDNA ITS領域の塩基配列も高い相同性が認められることから、分離菌株を*F. solani* f. sp. *eumartii*と扱ってよいと判断した。本病を*F. solani* f. sp. *eumartii*によるトマトフザリウム株腐病と呼ぶことを提案する。

謝 辞

本研究を行うにあたり、栃木県農業試験場環境技術部病理昆虫研究室福田 充氏、森島正二氏および和氣貴光氏には試験植物等の準備や発病調査で多くのご助力をいただいた。ま

た、キリンホールディングス株式会社フロンティア技術研究所大西 昇氏にはジャガイモ品種‘男爵薯’のマイクロチューバーを分譲していただいた。ここに記して感謝の意を表する。

引用文献

- Aoki, T., O'Donnell, K. and Scandiani, M. M. (2005). Sudden death syndrome of soybean in South America is caused by four species of *Fusarium*: *Fusarium brasiliense* sp. nov., *F. cuneirostrum* sp. nov., *F. tucumaniae*, and *F. virguliforme*. *Mycoscience* 46(3): 162–183.
- Carpenter, C. W. (1915). Some potato tuber-rots caused by species of *Fusarium*. *J. Agric. Res.* 5: 183–209.
- Gerlach, W. and Nirenberg, H. (1982). The Genus *Fusarium*—a Pictorial Atlas. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land-u. Forstw. (Berlin-Dahlem)* 209: 364–368, 373–376.
- Goss R. W. (1940). A dry rot of potato stems caused by *Fusarium solani*. *Phytopathology* 30: 160–165.
- 今村幸久・川越洋二・佐藤豊三・三浦猛夫 (2000). 施設トマトに発生した *Nectria haematococca* Berkeley & Broome によるトマト立枯病 (新称). 日植病報 66: 255 (講要).
- 松尾卓見・駒田 旦・松田 明/編集 (1980). 作物のフザリウム病. p. 369. 全国農村教育協会, 東京.
- 三澤知央 (2007). *Rhizoctonia solani* によるトマト株腐病 (新称). 日植病報 73: 76 (講要).

- 中山喜一・青木孝之・漆原寿彦・渡辺秀樹・堀之内勇人・福田充・石川成寿 (2006). 栃木県, 群馬県および岐阜県のトマト立枯株から分離した *Fusarium solani*-complex 菌株とその分子系統解析. 日植病報 72: 205–206 (講要).
- 日本植物病理学会編 (2000). 日本植物病名目録. p. 34, p. 39. 日本植物防疫協会, 東京.
- Nirenberg, H. I. and Brielmaier-Liebetanz, U. (1996) *Nectria ipomoeae* Halst., anamorph: *Fusarium striatum* Sherb., an *Passiflora edulis* Sims. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. 48: 207–275.
- Nirenberg, H. I. and O'Donnell, K. (1998). New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. Mycologia 90: 434–458.
- O'Donnell, K. (1996). Progress towards a phylogenetic classification of *Fusarium*. Sydowia 48(1): 57–70.
- O'Donnell, K. (2000). Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca*-*Fusarium solani* species complex. Mycologia. 92: 919–938.
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E. and Ploetz, R. C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 2044–2049.
- 大嶋聡子・多賀正節 (1991). 水耕栽培のトマトとガーベラの根腐れ症状株から分離されたホモタリックな *Nectria haematococca* について. 日植病報 57: 396 (講要).
- Romberg, M. K. and Davis, R. M. (2007). Host range and phylogeny of *Fusarium solani* f. sp. *eumartii* from potato and tomato in California. Plant Disease 91: 585–592.
- Rossman, A. Y., Samuels, G. J., Rogerson, C. T. and Lowen, R. (1999). Genera of Bionectriaceae, Hypocreaceae and Nectriaceae (Hypocreales, Ascomycetes). Stud. Mycol. 42: 1–248.
- Snyder, W. C. and Hansen, H. N. (1941). The species concept in *Fusarium* with reference to section *Martiella*. Amer. J. Bot. 28: 738–742.
- Swofford, D. L. (2002) PAUP: phylogenetic analyses using parsimony (*and other methods). Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- 多賀正節・久野公子・今村幸久 (2006). 植物病原菌として分離された日本産ホモタリック *Nectria haematococca* の学名変更について. 日植病報 72: 206 (講要).
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D. G. (1997). The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Research, 24: 4876–4882.
- Wellman, F. L. (1939). A technique for studying host resistance and pathogenicity in tomato *Fusarium* wilt. Phytopathology 29: 945–956.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M. A. et al. (eds.) PCR protocols: A guide to methods and applications. Academic Press, San Diego, pp. 315–322.