

# メロンつる割病菌の病原性分化と遺伝的変異

農林水産省九州農業試験場 <sup>な</sup>並 <sup>き</sup>木 <sup>ふ</sup>史 <sup>お</sup>郎

## はじめに

メロンは、高級感を与える嗜好品というイメージが消費者の間で定着し、イチゴと並んで最も人気の高い果菜類のひとつに挙げられる。こうした人気の高まりと相まって、アールス系のいわゆる高級なネットメロンから、庶民的な露地メロンに至るまで、年間を通じて様々な品種が店頭を飾っている。また、高収入が見込まれる重要な換金作物であるため、生産者にも歓迎され、各地で産地が形成されている。

ところで、多様な品種が流通していることから明らかに、メロンでは品種改良が進んでおり、病害抵抗性に関しても、うどんこ病、つる割病等に対して抵抗性を有する多数の品種が育成され（瀬古, 1989）、農家の圃場においてその実用性が立証されてきた。

しかしながら、これまでメロンつる割病に抵抗性を有するとされてきた品種群が罹病化する事例が相次いで報告され（小林, 1989；岩田ら, 1994；並木ら, 1995）、メロン生産地は重大な危機を迎えつつあるといっても過言ではない。こうした背景を踏まえて、本稿ではメロンつる割病菌のレースおよび系統分化とその遺伝的背景について、筆者らが得た知見を中心に紹介する。

## I 日本産メロンつる割病菌のレースおよび系統分化

### 1 日本産メロンつる割病菌のレース判別

メロンつる割病菌は、宿主であるメロンの多様な品種群に対応して病原性分化が進み、諸外国ではレースの存在が報告されている（RISSEr et al., 1976；ARMSTRONG and ARMSTRONG, 1978）。これらのうち、RISSEr et al. (1976) が提唱したレース判別法は、判別品種が有する抵抗性遺伝子との関連性を持つとされているため、世界中で広く受け入れられてきた。しかしながら、レース判別品種はいずれも外国産で入手が困難であり、自家採種による増殖が必須である。そのため、わが国で発生したメロンつる割病菌の菌株がどのレースに該当するのかと

いう体系的な研究はこれまでに実施されておらず、加えてレースの分布状況や、レース内に変異系統が存在するか否かも把握されていなかった。そこで、全国各地からメロンつる割病菌の菌株を収集し、日本で栽培されているメロン品種、メロンの変種に位置づけられているマクワウリおよびシロウリの品種、並びにRISSEr et al. (1976) が用いたレース判別品種に対する病原性を調査した（NAMIKI et al., 1996 b）。

その結果、日本産メロンつる割病菌は、「アムス（メロンの感受性品種）」、「大井（メロンの抵抗性品種）」および「黄金九号（マクワウリ）」に対する病原性の違いに基づき、大きく四つの系統に類別された。さらに、RISSEr et al. (1976) のレース判別品種に対する病原性を調査すると、これら4系統はレース0, 1, 2および1, 2yと一致し、「アムス」、「大井」および「黄金九号」を用いれば、レース判別が可能であることが明らかとなった（表-1）。

### 2 レース1, 2yの発生概況と宿主範囲

1984年、高知県下で本病抵抗性品種である「アールス東海R230」や「アールス東海R240」が罹病化し、発病株から分離された菌株の病原性検定によって、従来未記録の新しいレース（レース1, 2y）であることが判明した（小林, 1989）。その後、同様な菌系に関する報告はなく、その存在が半ば忘れられかけていた。ところが、1993年5月に北海道夕張市富野および沼の沢地区において、本病抵抗性台木「金剛1号」あるいは「夕張改良1号」に接いだ「夕張キング」の葉が著しく黄化する萎ちょう性病害が発生した。発病株の維管束は褐変していたが、葉と茎部の病徴は従来から道内で見られたメロンつる割病の症状とは明らかに異なっていた。メロンの組織内から分離された菌株の病原性検定を行うと、本

表-1 日本産メロンつる割病菌の簡易レース判別

レース番号	判別品種		
	アムス	大井	黄金九号
レース0	+	-	-
レース1	+	+	-
レース2	+	-	+
レース1, 2y	+	+	+

+：病原性あり，-：病原性なし

Pathogenic Specialization and Genetic Variation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. By Fumio NAMIKI

(キーワード：メロン, つる割病菌, レース, 抵抗性品種, DNAフィンガープリント法)

表-2 メロン,マクワウリおよびシロウリ各品種に対する日本産メロンつる割病菌4レースの病原性

植物名および品種名	レース0	レース1	レース2	レース1,2y
メロン				
アムス	+	+	+	+
アンデス	-	+	-	+
アスワン	-	+	-	+
ベース	-	+	-	+
コサック	+または-	+	+	+
クレスト春秋系	-	+	-	+
クレスト秋冬系	-	+	-	+
アールスセイヌ夏1	-	+	-	+
アールスフェボリット	+または-	+	+または-	+
春系				
アールスナイト夏系1号	-	+	-	+
アールス東海 EG 360	-	+	-	+
アールス東海 PF 80	-	+	-	+
アールス東海 R 210	-	+	-	+
アールス東海 R 230	-	+	-	+
園研台木2号	-	+	-	+
ふかみどり	-	+	-	+
ホームランスター	+	+	+	+
ハネデュー PF	-	+	-	+
健 脚	-	+	-	+
金剛1号	-	+	-	+
強 栄	-	+	-	+
メロンパートナー	-	-	-	+
大 井	-	+	-	+
大井新1号	-	+	-	+
パパイヤメロン	+または-	+	+または-	+
真 珠	-	+	-	+
真珠100	-	+	-	+
サンライズ	+	+	+	+
US1号	-	+	-	+
マクワウリ				
コ ロ ナ	-	-	+	+
銀 泉	-	-	+	+
金 銘	-	-	+または-	+
金 太 郎	-	-	+	+
ニューメロン	-	-	+	+
黄金九号	-	-	+	+
大型菊メロン	-	-	+	+
シロウリ				
青大長縞瓜	-	-	+	+
阿波みどり	-	-	+	+
桂大白瓜	-	-	+	+
長崎漬瓜	+	+	+	+
白はぐら	-	-	+	+
東京大白瓜	-	-	+	+
よかうり	-	-	+	+

+ : 病原性あり, - : 病原性なし

病抵抗性品種や共台品種を激しく侵すことから、道内では新しい系統であることが判明した(岩田ら, 1994)。なお、これ以外の都道府県では本レースの発生は確認されていない。

メロン, マクワウリおよびシロウリの各品種に対するレース1, 2yの病原性を表-2に示す。本レースの菌株は, メロン, マクワウリおよびシロウリの全供試品種に病原性を示し, 非常に強力な菌系であることが明らかになった(NAMIKI et al., 1996 b)。現在までに, 本レースに対する有効な抵抗性素材は国内外を問わず見いだされていない。本レースの分布域が拡大した場合には, 全国のメロン生産地に激甚な被害をもたらすことが予想されるため, 厳重な注意が必要である。

### 3 レース1の発生概況と宿主範囲

1994年5月, 滋賀県湖南地方の農家圃場において, 本病抵抗性品種「園研台木2号」と「FRアムス」に接いだ「アムス」の葉が収穫直前に著しく黄化し, その後急速に萎ちょう・枯死する症状が多発した。また, 発病株の維管束や根部は褐変していた。当初はレース1, 2yの発生が懸念されたが, RISSER et al. (1976)のレース判別品種に対する病原性検定の結果から, 日本では従来未記録のレース1であることが判明した(並木ら, 1996 a)。なお, 他の都道府県では本レースの発生は報告されておらず, 滋賀県下においても現在のところ, 湖南地方にのみ分布域が限定されている模様である。

メロン, マクワウリおよびシロウリ各品種に対するレース1の病原性を表-2に示す。本レースの菌株をメロン各品種に接種すると, 「アムス」, 「サンライズ」および「ホームランスター」といった感受性品種に加え, 「メロンパートナー」を除く全供試品種に病原性を示した。しかしながら, マクワウリおよびシロウリ各品種に対しては「長崎漬瓜」を除いて病原性を示さず, レース1, 2yとは明らかに宿主範囲が異なっていた(並木ら, 1995)。

これらは幼苗を用いた病原性検定の結果であるが, 「メロンパートナー」を台木として利用すれば本レースによる被害を回避できる可能性があると考えられた。そこで, 前年度に本レースによる病害が激発した滋賀県湖南地方の農家圃場において, 「メロンパートナー」およびマクワウリの血を受け継ぐ「園研台木3号」の抵抗性検定を行った(表-3)。自根栽培の「アムス」およびレース1に感受性である「園研台木2号」に接いだ「アムス」では, 発病株率は100%となった。これに対し, 「メロンパートナー」および「園研台木3号」に接いだ「アムス」では, 発病株率は10%未満にとどまり, 本レ

表-3 抵抗性台木を用いたレース1によるメロンつる割病の防除

品種名	発病株数/供試株数 (%)
アムス (自根)	8/8 (100.0)
園研台木2号	16/16 (100.0)
メロンパートナー	16/200 ( 8.0)
園研台木3号	12/200 ( 6.0)

いずれも穂木にはアムスを用いた。

レースによる被害を回避できることが明らかとなった(並木ら, 1996 a)。なお, 本試験において発生した「メロンパートナー」および「園研台木3号」の発病株は, いずれも穂木の「アムス」が長すぎたために地面に接して発根しており, 穂木の自根を通じて病原菌が侵入していた。したがって, 接ぎ木栽培の技術が向上すればこれらの品種を台木として利用できる可能性が高い。

#### 4 レース0およびレース2における系統分化

メロン, マクワウリおよびシロウリ各品種に対するレース0およびレース2の菌株の病原性を表-2に示す。

レース0では, 供試したメロン品種のうち, 「アムス」, 「サンライズ」および「ホームランスター」に対しては, 供試全菌株が病原性を示したが, これらを除く多数の品種には病原性を示さなかった。また, マクワウリおよびシロウリに対しては, 「長崎漬瓜」を除いて病原性を示さなかった (NAMIKI et al., 1996 b)。

他方, レース2については, 供試全菌株がメロンの「アムス」, 「サンライズ」および「ホームランスター」に対して病原性を示したが, レース0と同様に, これらを除く多数のメロン品種には病原性を示さなかった。また, いずれの菌株もマクワウリおよびシロウリに対しては, 「金銘」を除く全品種に病原性を示し, レース0とは明らかに宿主範囲が異なった (NAMIKI et al., 1996 b)。

さらに興味深いことには, 表-4に示すようにレース0にはメロン3品種に対する病原性によって区別される六つの系統が存在し, レース2にもメロン2品種およびマクワウリ1品種に対する病原性によって区別される六つの系統が存在することが判明した (NAMIKI et al., 1996 b)。起源が異なる多様な育種素材を用いて品種改良を重ねた結果, こうした病原性の細分化を招いたのであろうか。あるいは, 病原菌のDNAにわずかな突然変異が生じることによって, 容易に病原性が変わったためであろうか。いずれにせよ, 病原菌と宿主との共進化を考えると格好の材料といえよう。

なお, レース0, レース2ともに全国に広く分布しており, メロンを栽培する際には, 圃場内に分布するレー

表-4 レース0およびレース2で検出された変異系統の病原性

植物名および品種名	レース0						レース2					
	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F
メロン												
アールスフェボリット春系	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
コサック	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
パパイヤメロン	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
マクワウリ												
金 銘	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+

+ : 病原性あり, - : 病原性なし

スおよび系統を考慮に入れて品種を選択することが重要である。

## II メロンつる割病菌レース間の遺伝的類縁性

筆者らは既に, DNAフィンガープリント法によってウリ科植物つる割病菌の分化型間の識別が可能であることを報告した (NAMIKI et al., 1994)。そこで, メロンつる割病菌についても, 病原性とDNAレベルのデータが一致するか否かを確認するため, 本法によりレース間の遺伝的類縁性を解析した (並木ら, 1995; NAMIKI et al., 1996 b)。なお, 染色体上の遺伝子をコードしていない領域に存在する反復DNA配列をプローブとしてハイブリダイゼーションを行うと, 個体間で異なる多数のバンドパターンが得られる。このバンドパターンが, ヒトの指紋 (=フィンガープリント) と同様に個体を識別する標識として利用できるため, DNAフィンガープリント法と呼ばれている。

各菌株から抽出した全DNAを制限酵素 *EcoRV* で切断し, ユウガオつる割病菌MAFF 305118株の染色体DNAライブラリーから単離した4種類の反復DNA配列クローンとのハイブリダイゼーションを行った。得られたDNAフィンガープリントの試験例を図-1に示す。レース2の菌株ではすべて, 類似するバンドパターンが得られ, 他のレースの菌株に比べてバンド数が多かった。これに対し, レース0では菌株によって異なる2種類のバンドパターンが得られた。このように, レース2とレース0のバンドパターンは大きく異なり, 互いに識別が可能であった。一方, レース1とレース1, 2yの菌株のバンドパターンは互いに類似しており, 識別は困難であった。しかし, それらのバンドパターンは, レース0およびレース2の菌株のバンドパターンとは異なっていた。

得られたDNAフィンガープリントに基づいて類縁係

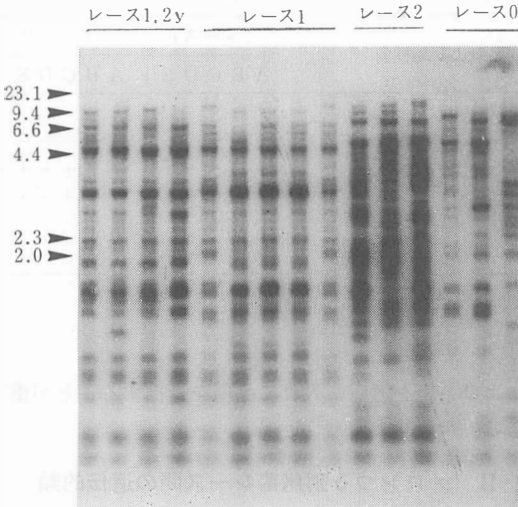


図-1 メロンつる割病菌で検出された DNA フィンガープリントの試験例

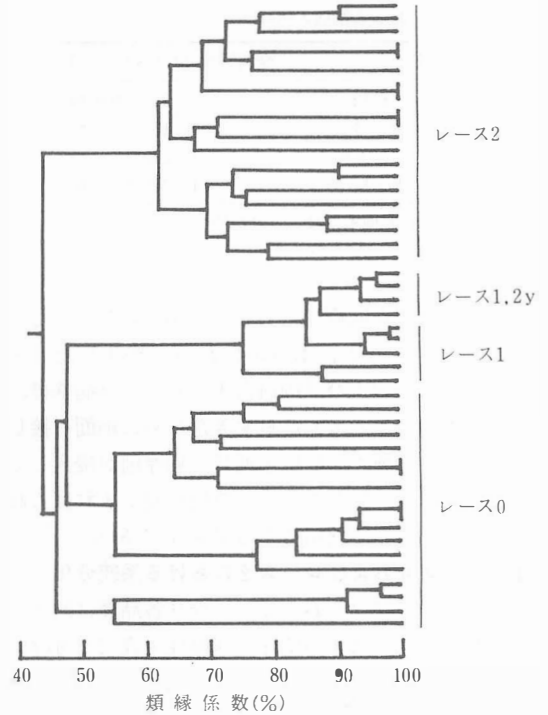


図-2 DNA フィンガープリントに基づいて作成した メロンつる割病菌の系統樹

数を算出し、平均距離法により系統樹を作成した(図-2)。その結果、レース2の菌株が単一の遺伝的グループを形成し、レース0の菌株は互いに類縁性が低い二つの遺伝的グループを形成した。また、これらの遺伝的グループとは別に、レース1およびレース1,2yの菌株が一つの遺伝的グループを形成し、互いに類縁性が高いことが明らかとなった。

### III メロンつる割病菌の病原性関連遺伝子の検索

前述した DNA フィンガープリント分析の結果、マクワウリおよびシロウリに対する病原性が明らかに異なるにもかかわらず、レース1とレース1,2yとは、互いに類縁性が高かったことから、両者の違いがわずかな遺伝的変異に基づく可能性が考えられた。そこで、メロンつる割病菌のレースにおける病原性の遺伝的背景を調べるために、突然変異誘発剤と REMI (restriction enzyme mediated integration) 法を用いて病原性変異株の分離を試みた(並木ら, 1996a; 松永ら, 1996)。

「アムス」、「大井」および「黄金九号」のすべてに病原性を示すレース1,2y (Mel 02065 株) の bud cell に突然変異誘発剤メタンスルホン酸エチルを処理し、得られた749株について病原性を調査した(表-5)。その結果、①「アムス」と「大井」に病原性、黄金九号に非病原性(=レース1と同様)、②「アムス」に非病原性、「大井」と「黄金九号」に病原性、③すべての品種に非病原性、の3種類の変異株が得られた。すなわち、この

結果から、レース1,2yに突然変異が生じてレース1に変化することが示唆された。

次に、ハイグロマイシン B 抵抗性遺伝子を指標とする REMI 法によって、「アムス」と「黄金九号」に病原性を示すレース2 (Mel 02010 株) の形質転換を行った。得られた約300株の形質転換体の病原性を調査すると、①「黄金九号」にのみ病原性、②3品種すべてに非病原性、の2種類の変異株が検出された(表-6)。この結果から、「アムス」、「大井」および「黄金九号」に対するメロンつる割病菌の病原性は、それぞれ異なる遺伝子領域に支配されていることが示唆された。

### おわりに

これまで述べてきたように、メロンつる割病菌には従来報告されていた以上に病原性が分化した、多様な変異系統が存在することが明らかとなった。これらの病原性分化に関する一連の研究は、本病に対する抵抗性品種の育成とその適切な利用を図るうえで大きく貢献するであろう。ある圃場に分布しているレースや系統の種類がわかれば、適正な品種を効率的に選択でき、本病の発生を未然に防ぐことが可能となる。また、メロンの品種カタ

表-5 メタンスルホン酸エチル処理により得られた突然変異株の病原性

菌 株 コード番号	判別品種		
	アムス	大 井	黄金九号
Mel 02065	15	15	15
EP 6-10	0	0	0
EP 7-12	15	15	0
EP 9-3	0	15	15
EP 17-3	15	15	0

表中の数字は、発病株数を示す（各品種とも15株ずつ供試）。

表-6 REMI法により得られた突然変異株の病原性

菌 株 コード番号	判別品種		
	アムス	大 井	黄金九号
Mel 02010	35	0	35
FMMP 95-1	0	0	17
FMMP 95-2	0	0	0
FMMP 95-3	0	0	0

表中の数字は、発病株数を示す（各品種とも35株ずつ供試）。

ログ等には、単に「つる割病抵抗性」と表示されているのみであるが、今後はどのレースに対して抵抗性であるのかを明示することによって、品質表示の適正化にも役立つであろう。加えて、農業現場で発生しているメロンつる割病菌のレースについては、より広範な調査を継続実施することによりレース分布の今後の変動を把握していくことが重要である。特に、現段階で有効な抵抗性素材が見いだされていないレース1, 2yの動向に関しては、警戒を怠ってはならない。

こうした応用研究にとどまらず、基礎研究の側面につ

いても興味深い結果が得られている。すなわち、これらの研究によって、メロンつる割病菌の病原性と遺伝的変異との関係が、複雑ではあるものの、一定の傾向を有していることが明らかになった。この複雑さは、病原性に加えて、菌糸和合性や地理的隔離等の様々な要因が本病原菌のDNAに反映されてきた結果であると考えられる。しかしながら、近年の遺伝子操作技術の進歩により、植物病原糸状菌に関する研究分野でも様々な遺伝子が単離されつつある。本稿で紹介した知見を基に、それほど遠くない将来にメロンつる割病菌の病原性に関する遺伝子が単離され、その構造と機能が解明されることであろう。こうした研究を通じて本病菌の病原性に関する理解が深まるとともに、病害防除体系の確立に向けた新たな道が拓かれることを切に願う次第である。

本稿で紹介した研究成果は、名古屋大学、滋賀県農業試験場および日本園芸生産研究所との共同研究によるものである。また、その一部は農林水産省農林水産業特別試験研究補助金による。最後に、貴重な菌株および罹病株を分譲していただいた関係者の皆様に心よりお礼申し上げます。

#### 引用文献

- 1) ARMSTRONG, G. M. and J. K. ARMSTRONG (1978): *Phytopathology* 68: 19~28.
- 2) 岩田康広ら (1994): 北日本病虫研報 45: 62~66.
- 3) 小林達男 (1989): 第14回土壌伝染病談話会講演要旨集, pp. 1~5.
- 4) 松永路子ら (1996): 日植病報 62: 301.
- 5) NAMIKI, F. et al. (1994): *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2684~2691.
- 6) 並木史郎ら (1995): 日植病報 61: 227.
- 7) ———ら (1996 a): 同上 62: 271~272.
- 8) NAMIKI et al. (1996 b): 投稿中
- 9) RISSER, G. et al. (1976): *Phytopathology* 66: 1105~1106.
- 10) 瀬古龍雄 (1989): 植物遺伝資源集成 第2巻 (松尾高嶺監修) 講談社サイエンティフィック, 東京, pp. 719~729.

#### 人事消息

##### 農薬検査所(10月1日付)

鶴崎一郎氏 (農産園芸局植物防疫課農薬一班安全指導係長) は検査第二部農薬残留検査課検査管理官・植物防疫課併任に

土井幸代氏 (検査第二部有用生物安全検査課水産植物係長) は検査第一部企画調整課情報調査係長に

小島恒夫氏 (検査第二部農薬残留検査課残留検査第一係長) は検査第一部毒性検査課毒性試験機関審査係長に  
清野義人氏 (九州農試地域基盤研究所害虫制御研) は検査第一部技術調査課障害生物調査係長に

北村恭朗氏 (種苗管理センター栽培試験部特殊検定課技術調査係長) は検査第一部技術調査課原体副成分調査係長に

廣瀬欣也氏 (検査第一部技術調査課) は検査第二部農薬残留検査課残留検査第一係長に

楠川雅史氏 (検査第二部農薬残留検査課兼農産園芸局植物防疫課) は併任免除

鈴木敏之氏 (検査第二部農薬残留検査課検査管理官兼農産園芸局蚕糸課) は農産園芸局企画課企画官に (蚕糸課併任免除)

藤田肖子氏 (検査第一部毒性検査課検査管理官) は関東農政局出向 (生産流通部農産普及課環境保全型農業専門官に)

伊藤和男氏 (検査第一部技術調査課原体副成分調査係長) は種苗管理センター栽培試験部特殊検定課技術調査係長に