

植物防疫基礎講座：土壤病害の見分け方(4)

フザリウム菌による病害

静岡県農業試験場病害虫部 ^と外 ^が側 ^ま正 ^き之

はじめに

土壤中からフザリウム菌を種を問わずに分離するのであれば、選択培地を使わなくとも、容易に分離可能である。しかし、それが病原菌かどうか診断するとなると話は別になる。フザリウム菌には非病原性のものが非常に多い。というより、土壤中に存在するフザリウム菌のほとんどは非病原菌であろう。

一方、植物体がある場合でも、病徴や分離結果から即刻フザリウム病と診断できるとは限らない。本菌はほかの病害に付随して、二次的に侵入したり植物体上に胞子を作ることが日常的なためである。

したがって、外見の十分な観察なしにいきなり植物体上の胞子を掻き取って顕微鏡観察したり分離したりすると、「三日月型の胞子がたくさん見える、フザリウム菌が高頻度で分離される＝この症状はフザリウム病である」という誤診を招く。逆説的な言い方だが、フザリウム病を正確に診断しようとするなら、まず、フザリウム病以外の原因がないかを十分に観察する必要がある。そこで以下では、これまでこの種のシリーズ編に多かった作物ごとのフザリウム病病徴の羅列は避け、筆者が実際に行っている診断過程を基に述べる。

I フザリウム病以外の原因を除外する

1 発病株全体の様子から

(1) 生理障害との区別

立地条件などの圃場環境を観察した後、土壤の乾湿状態、大雨による長時間の浸水、急激な気温の変化、苗などでは霜害がなかったなどを十分に聞き取る。また、葉の黄化・枯死については、除草剤の薬害による例が意外と多い。生産者が風向きに注意したという場合でも、圃場周辺に除草剤が撒かれた様子があれば、その付近から発生していないか観察する。現実には圃場を観察せずに持ち込まれた数株で診断を求められることも多いが、その際には、よりいっそう注意して圃場の様子を十分に聞いてから植物体の観察にとりかからないと、無駄な労力

と誤診を招きかねない。なお、生理障害と土壤病害を区別する方法として、七つのポイントが知られている(加藤, 1984)が、筆者の経験では特に①畝に沿って発生が広がる, ②水の流れに沿って広がる, の2点が重要である。あとの5点は、土壤病害以外でもしばしば見られるので注意を要する。

(2) ウイルス病との区別

モザイクやえそが見られたらまずはウイルスを疑う。フザリウム病による萎凋症状では、発生初期に下葉にまだら症状が出ることもあるが、上葉から、もしくは株全体の葉にまだら症状が出る場合には、生理障害やウイルスを疑うべきである。

2 維管束の観察

(1) 細菌病との区別

維管束の褐変している病害ではまず、細菌病との区別を行う。変色が維管束以外の部分に及んだ所は避け、維管束が明瞭に褐変している箇所を10 cm程度切り取り、水に漬けて時々揺すりながら観察する。カーネーション立枯細菌病のような特殊なものを除き、細菌なら白濁が筋になって流れ出す。また、最近では施設栽培の増加により冬季に青枯病が出る場合があり、典型的青枯れ症状を示さないことがあるが、この場合でも根気よく待てば、細菌の流出が観察される。

3 地際部または主根部の観察

(1) 疫病菌グループ (*Pythium*, *Phytophthora*, *Aphanomyces* 等) による病害および腐敗性細菌病との区別

腐敗組織が軟化している場合には、まず細菌病か疫病菌などを疑う。この区別も、病徴の進んだものでは腐生菌の侵入により、フザリウム病でも軟化・腐敗するので新鮮な病斑を観察する。新鮮な病斑で腐敗臭が強ければ細菌の可能性が高い。また、疫病菌グループによる病害では、そのままあるいは罹病部を1~2日間水(オートクレーブした雨水が望ましい)に漬けておけば、造卵器や卵胞子等の繁殖器官を見ることができる。

(2) 標徴を作る糸状菌病との区別

菌核病や白絹病による場合は各々特徴的な菌核を、*Rhizoctonia* 菌や紋羽病菌による病害もそれぞれ特徴的な菌糸生育(くもの巣状菌糸, 白色扇形菌糸束など)が

見られるので、これを見逃さないようにする。いずれもカラー写真が載っている本で、形状や大きさを頭に入れておく。実際の土壌には菌核と区別の難しい粒状・棒状のものは結構ある。

4 根の観察

(1) コブやそうか症状が見られる場合

コブではセンチュウ、がんしゅ病、ネコブ病などによる病害、そうか症状が出ている場合には放線菌による病害、コルク化やひび割れ症状が見られたらフザリウム菌以外の糸状菌による病害を疑う。また、根を十分に水洗した後ルーペで根の表面を見て褐色や黒色の粒状のものが見れば、褐色根腐病や黒点根腐病などを疑う。

(2) 細根断面の観察

細根の中心柱が一貫して赤色などに変色している場合は、ほかの糸状菌やセンチュウによる被害を疑う。なお、主根や根冠およびイチゴなどでクラウンと呼ばれる部分の中心柱については、フザリウム病でもしばしば変色が見られる。

II 病徴から見たフザリウム病の特徴

以上より、生理障害やほかの病害の可能性がかなり否定された段階で、ようやくフザリウム病を疑う。土壌伝染するフザリウム病の一般的特徴は以下のとおりである。

1 種による違い

F. oxysporum による病害は比較的病徴が明瞭である。分化型・レースが明瞭に分かれているので、特に各種作物・品種が混在する圃場では診断の助けとなる。これに対し、*F. solani* による病害は診断が難しくイモ類・球根類の乾腐病を除くと、決定には分離までの手順が必要な場合が多い。ROSEUM グループ (*F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum* など PDA 培地上で赤・黄・橙色を呈し、小型分生胞子を形成しない一群) はさらに難しい。これらは、*F. graminearum* を除いては *F. oxysporum* ほどに病原性が強くなく、日和見的な感染をするものが多いので、見慣れた病害以外は、接種まで必要となるケースがしばしばである。

2 葉の黄化と萎凋症状

F. oxysporum による病害の多くは株全体の萎凋・枯死を伴う。特徴としては、下葉から時間をかけて徐々にしおれ黄化し枯れ上がることで、上葉から枯れたり、株全体の葉が一斉に枯れ出したら別の原因を考えるべきである。また、葉の黄化は縁から始まることが多いが、健全部との境は不明瞭である。境が明瞭な枯れ上がりは薬害等の原因を考えるべきである。この萎凋は、はじめ昼のみ見られ夜は回復するが、しだいに夜も回復しなくな

る。数週間から1か月以上をかけて株の上部まで枯れ上がる。時には施設野菜(トマト、メロンなど)で急速に枯れ込む場合もあるが、この場合でも葉の黄化・枯死が下葉から順に上に移行するのが観察される。

3 葉のしおれ方

葉がまだ艶のある状態で全体的に巻く場合はフザリウム病よりほかの導管性病害を考える。フザリウム病では艶・水気がなくなって「しおれる」・「しなびる」状態が「巻く」より顕著に現れる。なお、イチゴ萎凋病ではしおれの前に葉の小型化や舟型化が現れるが、やはり巻くという状態ではない。

4 維管束の明瞭な褐変

これも多くの *F. oxysporum* による病害の特徴である。この褐変は株の上部まで非常に明瞭に見られる。株全体の黄化・枯死がすでに見られるのに、維管束の褐変が地際部付近にとどまっていたら、トマト根腐萎凋病のような特殊な例を除いてはほかの原因を考えたい。なお、褐変が上部まで行っている場合でも、ところどころ不鮮明になったり、褐色が薄い場合には、*Verticillium* 属菌による病害の可能性もある。褐変が茎表面から髓部に向かって進んでおり、それに伴って維管束が変色しているような場合は、*F. solani* や ROSEUM グループまたは別の菌による病害が考えられる。

5 主根内・根冠部内・クラウン内維管束の褐変

これも、*F. oxysporum* による病害の特徴であるが、ほかの土壌伝染性病害やイチゴでは炭疽病でも見られるので、あくまで、症状の一つとして認識すべきである。なお、維管束以外の部分が腐敗する場合もあるが、これは病原菌自身による場合と、二次的腐生菌による場合があり、診断のポイントにはなりにくい。これに付随して、根の外見上の腐り方もほかの病害や生理障害とほぼ同じであり、診断のポイントにはなりにくい。なお、根の内部の変色については、繰り返しになるが、細根の中心柱だけが一貫して褐色・赤色になることはまずない。

6 腐敗は乾腐が基本、軟腐は別病害を考える

フザリウム病に乾腐病という名が多いことからわかるように、フザリウム病の新鮮な罹病部は乾腐であることが多い。軟腐の場合は、別の原因をまず調べるのが望まれる。ただし、コリアンダー(香菜)株枯病やカーネーション立枯病の苗腐敗症のように、植物体が小さい場合には、フザリウム病でも軟化・軟腐を伴う場合がある。

7 地際部付近の茎表面にスポロドキア(胞子の塊)が観察される

メロンつる割病やトマト萎凋病ではしばしば観察される。もちろん、ほかの原因で弱った植物体に腐生的に形

成される場合もあるので、これだけを持って決めることは危険であるが、一つの診断ポイントにはなり得る。また、スポロドキア付近の茎が縦に裂けてヤニ等が見られる場合は、そのフザリウム菌が原因である可能性が高い。ただし、自然病斑上に形成されるフザリウム菌の胞子は形状変異が大きいので、その胞子をそのまま顕微鏡観察して種を同定することは誤診を伴う。後述するCLA培養またはSNA培養を経ること。

8 イモ類や球根類の乾腐病では、白い菌糸やスポロドキアが観察される

発病初期の罹病イモや球根を綺麗に水洗いして水気を拭き取った後、室内に保つと、表面や内部にフザリウム菌の菌糸やスポロドキアが見られる場合は、そのフザリウム菌が原因である可能性が高い。

以上の方法を、萎凋の原因が多いトマトを例にして具体的に述べると、まず、しおれが一過性または先端のみで葉にモザイクが見られる場合は「TMV」、維管束の褐変が見られても水につけて白濁が出れば「青枯病」、葉が巻き、茎内部は髄部まで粉々になり空洞化するなら「かいよう病」、腐敗臭があれば「軟腐病」、維管束の褐変が不明瞭であれば「半萎凋病」、維管束の褐変が地際部付近のみ、地際部の茎・葉と根に水腐れ症状があれば「灰色疫病」か「根腐疫病」、根のコルク化や根表面のひび割れが見られれば「褐色根腐病」、根表面に黒色粒やコルク化が見られれば「黒色根腐病」である。以上の症状および菌核やコブがなければフザリウム病が疑われる。葉の黄化・しおれが下葉から始まり、症状の進んだ株では茎内維管束の褐変が上部および葉柄まで鮮明に見られたら「萎凋病」、維管束の褐変が地際部から10 cm内にとどまっていたら、「根腐萎凋病」と診断される。

III フザリウム菌の分離・観察

導管性の病害では、維管束を露出させた後、湿室に置くことで、*F. oxysporum* や *Verticillium* の胞子形成状態を観察できる場合がある。それ以外では、次に分離へと進む。

1 組織分離

フザリウム病であることがほぼ確定され確認のために行うのであれば、PDAなどによる一般的な組織分離法でよいが、まだ病原菌の見当が付かない場合には、エタノールなどの消毒剤を使用せずに流水で十分に汚れを落とした後WA上に置床する方法も併用したい。なぜなら、疫病菌グループや *Verticillium* 属菌はエタノール

消毒に弱いものや、PDAなどの富栄養培地上では雑菌に生育を阻まれるものが少なくないためである。

なお、WAの寒天粉末は「培地用」を使うこと。「電気泳動用」は純度が高すぎて糸状菌の生育が不良である。

2 単胞子分離

分離の次に単胞子分離を行う。フザリウム菌は一つの病斑から複数の種が分離されるのがごく普通であるので、組織分離法で得られた菌株をそのまま次の実験に用いることは大変危険である。具体的な方法は文献を参照されたい(一戸ら, 1978; 大畑ら, 1995)。

筆者は、組織分離を終えてPDA斜面培地に移した菌株が小型分生胞子を形成したら滅菌水を加えて攪拌、これを胞子懸濁液とし、1白金耳を粗く画線培養して単胞子分離株を得ている。

なお、主な土壤伝染病菌である *F. oxysporum* や *F. solani* では問題ないが、ROSEUMグループに含まれる種では、後に述べるCLA培地、SNA培地いずれかで培養し大型分生胞子を形成させてから単胞子分離を行うことになる。

また、WA培養を2回繰り返した後、実体顕微鏡下で単菌糸を釣菌することでも純粋培養株が得られる(単菌糸分離)が、単胞子分離に比べ技術的にやや難しい。

3 小型分生胞子の形成状態の観察

よく知られているように、*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme* (*F. moniliforme* は、すでに細分化されているので、以下では旧 *F. moniliforme* と呼ぶ) の3種の区別には、小型分生胞子の形成状態を観察する。すなわち、

F. oxysporum : 菌糸の途中に短い柄(担子梗)を形成、その先端に小型分生胞子が固まりになって(擬頭状)生じる。柄の分岐は原則的に見られない。およその基準として柄は小型分生胞子の長さの1~3倍。

F. solani : 菌糸の途中に長い柄(担子梗)を形成、その先端に小型分生胞子を擬頭状に生じる。およその基準として柄は小型分生胞子の長さの3倍以上。また、柄はしばしば分岐し、隔壁を有する。

旧 *F. moniliforme* : 小型分生胞子を担子柄の先に擬頭状および連鎖状に形成する。連鎖状になるだけではないことに注意する。

次に実際の観察で注意すべき点を述べる。

(1) スライドガラスをかぶせず、そのままの状態で行うこと

擬頭状にしる連鎖状にせよ、非常に緩やかな状態で繋がっており、わずかな力でバラバラになる。そこで、シ

シャーレの蓋を取り、そのまま顕微鏡の観察台に乗せて、静かに対物レンズを近づける。形成状態は対物レンズ×10（慣れれば×4でも）で十分わかる。または、小型試験管に斜面培養し、栓を取らずにそのまま観察する。例えば直径15 mmの試験管で斜面培養すれば、小型分生孢子の形成状態が顕微鏡で観察可能である。

(2) 担子柄の長さは相対的なものであり、絶対的ではない

そこでたくさん観察し、全体として長いか短いか決めること。*F. oxysporum*と*F. solani*の区別は柄の長さや分岐の有無にあるが、生物である以上例外もある。すなわち、*F. oxysporum*でも担子柄が長い場合もあれば、逆に*F. solani*にも短い柄は存在する。したがって、数個の柄を観察しただけで決めつけてしまわないこと。いろいろな部位を観察し数十個位の柄を観察して判断すること。担子柄が分岐している場合は*F. solani*の可能性が高いが、判断が付きかねる場合には、CLA, SNAいずれかに培養し、大型分生孢子の形状を観察する。

(3) 連鎖状の小型分生孢子は培地が乾燥してからでないとできない

よって培養日数が短い場合、擬頭状にしか見えないからと言って、*F. oxysporum*と決めつけられないこと。培養日数が短く培地が乾燥していない場合、旧*F. moniliforme*でも擬頭状にしか孢子を形成しない菌株はごく普通に見られる。シャーレ培養や綿栓を使った試験管培養では2週間、最近多いシリコン栓を使った培養では水分蒸発が遅いので、20日間は培養する。もし診断業務でそこまで待てない時は、シャーレでは中心部の古い菌糸部分を、試験管なら培地の端または試験管のガラス壁に貼り付いている菌糸を観察する。

4 CLA 培地, SNA 培地とは

小型分生孢子のみでは同定の結論が出ない場合や、大型分生孢子しか作らない種において、大きさ・形状の均一な大型分生孢子を豊富に作らせることを目的に使用する。CLAはCarnation Leaf Agar, SNAはSynthetic low Nutrient Agarの略である。具体的な処方や培養方法については文献(CLA: 外側, 1992; SNA: BURGESS, 1994)を参照されたい。

5 選択培地による分離

実験の目的によって、始めからフザリウム菌の絞りを分離効率を高めたい場合は選択培地を用いる。

『駒田培地』:すでに広く普及しているので文献のみ紹介する(松尾ら, 1980)。*F. oxysporum*をはじめ*F. solani*や旧*F. moniliforme*の分離に威力を発揮する。

『FG 培地』:筆者が*F. graminearum*の検出を目的に作成した培地である(外側, 1994)。駒田培地は複数の*Fusarium*属菌が混在している場合に、*F. oxysporum*, *F. solani*, 旧*F. moniliforme*が優先的に生育しROSEUMグループの生育が抑制されることから考案した。*F. graminearum*のほか、*F. avenaceum*, *F. culmorum*の分離・識別も容易である。なお、論文を訂正・追加する意味で、FG培地のpH調整はNaOHの顆粒(水溶液ではない)で行うこと、シャーレに流し込む前の段階(70~80°C)におけるpHは10.0~10.5で十分に11.0まで上げると培地が濃くなりすぎ、かえってコロニーの色調が見えにくくなること、ストレプトマイシンかカナマイシンを1 l当たり300 mg加えるときらに選択性が高まることをここに記しておく。

なお、いずれの培地にも必要なPCNBは一般化学薬品として入手可能である。

6 接種

以上の手順を踏んでもなおかつ診断が確定できない場合は、接種を行うことになる。これについては各病害について優れた方法が考案されているので、文献(大畑ら, 1995)を参照されたい。

おわりに

以上、フザリウム病を診断するための一般論を述べてきたが、当然作物によって細かな病徴は異なる。各論については優れた本が多数出版されているが、ここでは、2冊を紹介したい(岸ら, 2002; 堀江ら, 2001)。豊富な経験に基づく診断ポイントが満載されている。

なお、細分化された後の種名など、最近の分類学的な動きについては、文献を参照されたい(青木, 1998; 青木, 2001)。

引用文献

- 1) 青木孝之 (1998): 土と微生物 52: 73~83.
- 2) ——— (2001): 日植病報 67: 235~247.
- 3) BURGESS, L. W. and B. A. Summerell et al. (1994): LABORATORY MANUAL FOR FUSARIUM RESEARCH. University of Sydney, Sydney, 133 pp.
- 4) 堀江博道ら編 (2001): 花と緑の病害図鑑 全農協, 東京, 547 pp.
- 5) 一戸正勝ら (1978): 防菌防微 6: 391~398.
- 6) 加藤喜重郎 (1984): 土壌病害の手引き 日植防協, 東京, pp. 8~11.
- 7) 岸 国平・我孫子和雄 (2002): 野菜病害の見分け方 全農協, 東京, 364 pp.
- 8) 松尾卓見ら (1980): 作物のフザリウム病 全農協, 東京, pp. 207~220.
- 9) 大畑貫一ら編 (1995): 作物病原菌研究技法の基礎 日植防協, 東京, 342 pp.
- 10) 外側正之 (1992): 日菌報 33: 385~393.
- 11) ——— (1994): 土と微生物 44: 77~88.