

赤色系フザリウム菌による各種病害および簡易な実験方法

静岡県農業試験場病害虫部 外 側 正 之

はじめに

Fusarium 属菌は、植物や魚類および人の目に対して病原性のあることが知られているが、特に植物病原菌として著名で、農作物の病害に関して世界中で膨大な数の報告がある。これは日本に限って見た場合も同様で、例えば「日本植物病名目録」（日本植物病理学会編、2000）によれば、*Fusarium* 属菌による病害は412項目が掲載されている。このうち、種名を明らかにしていないものおよび現在学名が無効と考えられる種を除くと334項目となり、現在の日本において *Fusarium* 属菌が非常に多くの農作物に被害を与えていることは容易に推察される。

しかし、ひとたび種名と病害数との関係に目を向けたとき、この膨大な数の *Fusarium* 病が実は限られた数種によって引き起こされていることが判明する。すなわち、WOLLENWEBER の分類体系 (WOLLENWEBER et al., 1935) における *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. lateritium* のわずか4種で、334項目中の75%に相当する250項目を占めている。これら4種はいずれも PDA・PSA といった代表的な糸状菌用培地上で白色を基調としたコロニーを形成することから、通称「白色系」と呼ばれることが多い種である。

ところで白色系に対し、培地上で赤色を基調としたコロニーを形成することから、通称「赤色系」と呼ばれる *Fusarium* 属菌がある。現在までに日本で報告された赤色系 *Fusarium* 属菌による病害は、表-1に示すように、合計12種40作物で45病害+1症状が知られている (*F. nivale* によるムギ類赤かび病については、現在本菌は *Microdochium* 属に移された)。

この45+1という数は白色系の250項目に比して少数であるというだけでなく、ムギ類赤かび病菌以外はほとんど研究されていない。これは、ムギ類赤かび病菌を除くと、強い病原性をもつものが白色系に比して少ないことと、その一方で赤色系は実験法の困難さから、分

表-1 赤色系 *Fusarium* 属菌による農作物の病害

| 種 名 | 病 名 |
|---|---|
| <i>F. acuminatum</i> | コムギ赤かび病 (小泉ら, 1993), シバ・ペントグラスフザリウム病 |
| <i>F. arthrosporioides</i> | エンドウ立枯病 |
| <i>F. avenaceum</i> | コムギ・オオムギ・ダイズ・オオスズメノテッポウ・チモシー・キク赤かび病, イネ苗立枯病・種もみ腐敗病, アワフザリウム病・苗立枯病, トウモロコシ苗立枯病, エンドウ・ソラマメ立枯病, ペントグラスフザリウム病, シバ春はげ症, アルファルファ・アカクローバー根頭腐敗病, ニンジン乾腐病, パセリー根くびれ病, ストック立枯病, トルコギキョウ茎腐病, リンドウ・チューリップ茎枯病, リンゴ果梗腐病, マツ類苗立枯病, キャベツ先枯病 (窪田ら, 1999), ナシ果実腐敗病 (久保ら, 2001), ラッキョウ赤枯病 (竹内ら, 2004), カーネーション立枯病 (外側, 2005 a) |
| <i>F. cerealis</i> (= <i>F. crookwellense</i>) | コムギ赤かび病 (日本曹達編, 2003) |
| <i>F. culmorum</i> | オオムギ・コムギ赤かび病 |
| <i>F. decemcellulare</i> (= <i>F. rigidiuscula</i>) | アテモヤ枝枯病 |
| <i>F. graminearum</i> (完全時代は <i>Gibberella zeae</i>) | コムギ・エンバク・オオムギ・イネ・ライムギ・トウモロコシ・オーチャードグラス・ライグラス・パールミレット (ネビアグス)・モモ・マダケ類赤かび病, カーネーション・マリーゴールド立枯病, ヒアシンス腐敗病 (富岡ら, 2004), メロン褐色腐敗病 (外側, 2005 a) |
| <i>F. kyushuense</i> | コムギ赤かび病 (日本曹達編, 2003) |
| <i>F. poae</i> | カーネーション芽腐病 (外側, 2005 a) |
| <i>F. incarnatum</i> (= <i>F. pallidoroseum</i>) (= <i>F. semitectum</i>) | キャベツ先枯病 (窪田ら, 1999), キュウリ果実腐敗病 (堀田, 1999) |
| <i>F. sporotrichioides</i> | コムギ赤かび病 (小泉ら, 1993), エンドウ立枯病 |
| <i>F. tricinctum</i> | コムギ赤かび病 (小泉ら, 1993), ペントグラスフザリウム病, カーネーション立枯病 |
| <i>F. roseum</i> ^{a)} | メロン褐色腐敗病, イチジク黄斑病 |

注) 引用の記載がないものは、すべて「日本植物病名目録」(日本植物病理学会編, 2000)による。 ^{a)} *F. roseum* は現在、種名の再同定が必要とされている。

Various Plant Diseases Caused by Red-Colored *Fusarium* and Convenient Experiment Methods. By Masayuki TOGAWA (キーワード: 赤色系, *Fusarium*)

離・同定等に手間取る場合の多いことの2点が考えられる。

しかし、赤色系 *Fusarium* 属菌による病害にはカーネーション立枯病をはじめ興味深い病害があることから、筆者は赤色系に属するいくつかの種に関し、実験法を含め生態や防除法について検討を行ってきたので、それらについて既報の知見と併せて記したい。

I 実験法

植物体からの組織分離法、単孢子分離を含めた純粋培養株の取得・保存および観察法については、筆者の報告(外側, 2003; 外側, 2005 b)を参照されたい。

1 選択培地 (FG 培地)

Fusarium 属菌に的を絞って分離する場合は、選択培地が広く利用されている。本属菌の選択培地としては駒田培地(駒田, 1976)がよく知られている。この培地でも赤色系は分離可能であるが、白色系と混在する場合には赤色系の分離効率が落ちることから分離培地を考案した(外側, 2005 a)。主として *F. graminearum* の検出を目的に作成したものであるが、*F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides* 等の検出にも使える。駒田培地と同様にオートクレーブは不要で、組成は以下の通りである。

(組成) 水: 1 l, K_2HPO_4 : 1 g, KCl: 500 mg, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 500 mg, Fe-EDTA: 10 mg, D(+)キシロース: 20 g, L-グルタミン酸ナトリウム: 2 g, オックスゴール(コール酸ナトリウム): 500 mg, $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ (ホウ砂, 四ホウ酸ナトリウム): 1 g, クロラムフェニコール: 250 mg, ストレプトマイシン: 300 mg, 寒天粉末: 15 g。

以上を1薬品ずつ完全に融解してから冷却し、75~80℃になったら、トリアジン(50%水和剤)1 g, PCNB(75%水和剤)200 mgを加える。pHは顆粒水酸化ナトリウムを用い10.0~10.5(75~80℃時点)に調整する。

この培地を使用すると、*F. graminearum* は菌糸伸長、気中菌糸の生育ともに良好で、コロニーは鮮紅色を呈する。本菌は気中菌糸が豊富なので、コロニーが小さく雑菌が多い場合でも釣菌が可能である(コロニーが赤色でも気中菌糸が貧弱な場合は、*F. graminearum* ではない場合が多い)。

また、駒田培地・FG培地いずれもPCNB(ペンタクロロニトロベンゼン)水和剤を使用するが、現在は農薬としては販売されていない。研究用PCNB水和剤を購入するか、または原体から簡易水和剤を自作する必要がある。

ある。自作の方法は文献(外側, 2005 b)を参照されたい。

2 同定のためのCLA培養法およびSNA培養法

赤色系 *Fusarium* 属菌には大型分生孢子しか孢子を形成しない種が多いので、同定には形態・大きさの両面で均一な大型分生孢子を安定的に形成させる方法が必須である。この目的のために現在では、CLA培地(Carnation Leaf Agar)またはSNA培地(Synthetic low Nutrient Agar)のいずれかを使うことが推奨されている。まず両者の比較について、孢子形成能力と完全時代形成能力ではCLAが優るが、形態の均一性と厚膜孢子形成能力ではSNAが優るというのが一般的な印象である。次に培養中の光条件については、文献により〈暗黒〉〈BLBライト24時間〉〈暗黒+BLB12時間交互〉〈室内蛍光灯下〉〈窓際散光下〉など一定していないので、不明な場合や未知の菌では現在標準とされる「暗黒とBLB24時間連続を併用」をお勧めする。温度条件は20℃が基本であるが、2段階できるなら25℃も併用したい。分離菌の所属について当たりを付けるのであれば4~5日目でも良いが、正確を期したいなら10日以上培養・観察は必要である。またCLA培養法を使う際の注意として、密閉により多湿条件となると *Gibberella zeae* (*F. graminearum* の完全時代)の子のう殻形成が抑制される(外側, 2005 a)ので、シャーレ全体をパラフィルムで覆うことはせず、セロハンテープで2, 3箇所止める位が適当である。1週間ほどしても葉が水気を帯びて光っているような場合は過湿である。

(1) CLA培養法の実際

1) カーネーションの若葉をよく水洗した後、約5mm角に細切する。

2) 65~70℃で2時間乾燥する。乾燥後は徐々に温度が下がるように、乾燥機内で一晩そのまま放置する。乾燥の終わった葉は、乾燥剤とともに密封し冷蔵すれば、1年以上保存可能である。退色が顕著になると孢子形成能力も低下する。

3) 塩化ベンザルコニウム0.1~1.0%液または98%クロロホルムに10分間浸漬する。

4) 葉液をよく落としてから別の滅菌シャーレなどに移し、ふたを開けたままクリーンベンチ内に1~3時間置き、葉を十分に乾燥させる。

5) 滅菌シャーレに素寒天培地を流し込み、固まる直前に4)で処理した葉を並べる。寒天粉末は「培養用」を用いる。「電気泳動用」では生育が不良となる。

6) 葉の脇に菌糸片を置き培養すると、5~10日後

に葉周辺か葉上に孢子や子のう殻を形成する。

(2) SNA 培養法の実際 (BURGESS et al., 1994)

1) SNA 培地を滅菌シャーレに流し込む。

2) 培地が固まったら、乾熱滅菌 (200℃ 2 時間以上) した 1 × 2 cm のろ紙を乗せる。後は CLA と同様である (SNA 培地 1 l 当たりの組成; KH_2PO_4 : 1 g, KNO_3 : 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0.5 g, KCl : 0.5 g, 水溶性デンプン: 0.2 g, グルコース: 0.2 g, サッカロース: 0.2 g (pH 8 ~ 10。水溶性デンプンを除く処方もある)。

3 多量の孢子を得るための OMA 培養法 (形態が不均一なので同定には使えない!)

接種試験などで多量の孢子が必要となる場合がある。ポット数個くらいの試験規模なら CLA・SNA 培養法でも十分な量が得られるが、さらに大量に必要なときは OMA (オートミールアガー) 培地が便利である。既製品を使うときは、どこの会社の製品でもよいが、例えば Difco 社製の場合処方通りだと粘濁性に富み扱いにくい。しかし、希釈しすぎると孢子の形成量が落ちる。*F. graminearum* を用いた実験では、オートミールの量を 40 g に減量した場合が扱いやすく、かつ孢子形成量が多かった。なお、寒天量は 1 l 当たり常に 12.5 g になるように調整する。また、孢子形成を促進するために、スクロースなどの糖を添加する処方がしばしば紹介されるが、*Fusarium* 属菌に関してはスクロースの有無と孢子形成量は無関係である (外側, 2005 a)。

OMA 培地で十分に菌糸が伸長したら、気中菌糸を除去する。さらに、培地上もなるべく均一にこする。白金耳柄の先端ネジ部は使い勝手がよい。次に BLB 照射下、20 ~ 25℃ で培養する。1 日 ~ 1 週間が多量の分生孢子が得られる。

II 赤色系 *Fusarium* 属菌による病害

1 イネ科植物の赤かび病

本病に関しては、他の赤色系 *Fusarium* 属菌と異なり多くの研究がある。特にコムギに関しては論文も多いが、1900 年代における総説的な報告としては、三つ (農林省振興局研究部, 1958; 小泉ら, 1993; 上田, 1995) を上げておきたい。このうち、上田 (1995) の報告は発生予察に関するものである。なお、筆者がより簡便な予察法の開発を目的に、完全時代 *G. zeae* の子のう孢子飛散条件を検討した結果、18 時 ~ 翌朝 8 時までの間で気温 15℃ 以上、相対湿度 80% 以上の条件を同時に満たす時間が 1 時間以上ある場合に飛散の可能性が高い

ことが明らかとなったが、飛散孢子量については温湿度との間に高い相関を認めることができなかった (外側, 2005 a)。

また、*F. graminearum* の生活環を調査し、イネ科植物全般で周年のもしくは長期的な生存が植物体上で可能なこと (特に枯死残渣は好適な越冬場所である)、イネ科以外ではマメ科植物 (クローバー、ダイズ) が比較的好適な越冬場所であること、イネ・マメ科以外でも枯死植物は本菌の短期的生存を可能にしているが、確実に越冬していると言えるレベルではないことを示した (外側, 2005 a)。

2000 年代に入ると、今まで以上に「食の安全」が求められるようになり、これに伴い生産物中に分泌される毒素が注目されている。総説的なものとしては「農薬時代」(日本曹達編, 2003) がある。原因菌や毒素分泌菌に関する形態的特徴および防除データなどが詳述されている。さらに *F. graminearum* の中で従来 Group1 とされてきた菌 (主にムギの地際部を侵し、子のう殻を形成しないのが特徴) が新種として報告されたこと、分子生物学的手法により *F. graminearum* が細分化されたことが記されている。また毒素関連の最近の知見は「植物防疫」(日本植物防疫協会編, 2004) に特集されている。

2 カーネーション立枯病

カーネーション栽培において斑点病とともに地域を問わず常発する病害である。原因菌として 3 種 (*F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. tricinctum*) が知られているが、主要菌種はコムギ赤かび病と同様 *F. graminearum* である。静岡県における調査 (外側, 2005 a) では、現在までに *F. tricinctum* の分離例がない。また発生状況を見ると、①冷涼地では病斑上に完全時代 *G. zeae* の子のう殻が見られる、②6 ~ 7 月 (定植 1 か月以内) の小さな発病ピーク「苗腐れ症状」と 9 ~ 11 月にかけての大きな発病ピーク「枝枯れ症状」が見られる、③気温 17 ~ 27℃ のときに多い、④第 1 次伝染源としては、保菌した挿し芽の持ち込みと圃場周辺のカーネーション残渣上に形成された孢子が重要と考えられる、⑤コムギ赤かび病菌とカーネーション立枯病菌は、いずれもコムギ、カーネーション双方へ病原性を示す、⑥第 2 次伝染源としては、摘心部の病斑上の大型分生孢子塊が伝染源として重要であるのに対し、土壌表面上およびベッド内植物残渣上の菌密度は低く、伝染源としての重要性は低いものと考えられる、⑦品種別に発病程度を検討したところ病斑形成の速さに違いはなかったが、発病程度

には大きな差が見られた。試験した中で最も強い品種はレナスーパーであり、伊豆地域での主力品種ノラは中程度の発病であった。立枯病の発病程度と、萎凋病抵抗性、花色、花のタイプとの間に関連は見られない、⑧防除薬剤として、キャプタン水和剤 (800倍) とベノミル水和剤 (2,000倍) が高い防除効果を示した。

なお、「日本植物病名目録」では *F. avenaceum* が原因菌として記載されているが、その引用が適切でないこと、および2002年2月に静岡県内の栽培地で発生した苗腐れ症状について本種が分離されたため、接種試験や同定を行ったうえで、改めて本菌が立枯病の原因となることを報告した (外側, 2005a)。本種については、コムギ赤かび病に関してもカーネーション立枯病についても、*F. graminearum* や *F. culmorum* に比して病原性が弱いことが明らかになっているが、寄主範囲については表-1に示すように、*F. graminearum* や *F. culmorum* よりも広いことは大変興味深い。さらに *F. culmorum* については、現在オオムギ・コムギ赤かび病菌としてしか病原菌としての記載が日本国内でない点も興味もたれる。

3 メロン褐色腐敗病

メロン褐色腐敗病 (大沢, 1994) の原因菌の中に赤色系 *Fusarium* 属菌が含まれていることから同定を行ったところ、その中の一つが *G. zeae* (*F. graminearum*) であることが明らかとなった。また、メロン果実の高さと発病との関係を調査したところ、地表から果実までの距離が25 cm以下の場合に発病が多かった。さらに空気中の *Fusarium* 属菌胞子を捕捉した結果、地表から離れるに従って孢子数は減少した。よって、本病の伝染源は地表の植物残渣や防風用の敷きわら上で生存している *Fusarium* 菌であると推定された。

4 カーネーション芽腐病

伊豆地域のカーネーション栽培圃場で、収穫期に柱頭付近から花弁にかけて腐敗する症状が発生した。病原菌の分離・同定を行ったところ「芽腐病」であることが明らかとなった。本病病原菌は *Sporotrichum anthophilum* とされていた (今井, 1914) が、CLA 培養法によって得られた結果から赤色系フザリウム菌の1種 *F. poae* であることが明らかとなった (外側, 2005a)。本病は静岡県のほか、北海道で発生している (北海道病害虫防除所, 1995)

5 アテモヤ枝枯病

1993年8月、静岡県が導入した熱帯果樹のアテモヤ

において、苗が枯死したり、枝の維管束が褐変して先端が萎れる病害が発生した。病原菌の分離・同定・接種試験を行った結果、*F. decemcellulare* による新病害であることが明らかとなったため、「アテモヤ枝枯病」と命名した (外側, 2005a)。長さ100 μ m前後の巨大な大型分生胞子 (7~9隔壁) を形成する。

6 ラッキョウ赤枯病

関東・東海地方で生産されている生食用ラッキョウ (エシャレットと呼ばれる) の軸が赤色を帯び硬化する症状が出ている。千葉県では本症状を *F. avenaceum* による赤枯病として発表した (竹内ら, 2004) が、静岡県ではこの症状を的確に再現するような菌が分離されないことから、原因については千葉県と異なるものと考えている (外側ら, 2004)。

おわりに

「はじめに」で述べたように、赤色系 *Fusarium* 属菌は強い病原性をもつものが少なく、これまではあまり注目されることはなかった。しかし、近年消費者の意向から、栄養的・視覚的には優れていても栽培上は軟弱な野菜や花きの栽培が盛んになりつつあり、こうした状況の下で日和見病原菌による病害が目立って増えている。したがって、今回述べた病害以外に、今後新病害の原因菌として、または既知病害に二次的被害を与えるものとして報告が増えていく可能性が高く、より一層の研究が望まれる。

引用文献

- 1) BURGESS, L. W. et al. (1994): Laboratory Manual for *Fusarium* Reserch 3rd edition, University of Sydney, Sydney, 133 pp.
- 2) 北海道病害虫防除所 (1995): 平成7年度新発生病害虫情報.
- 3) 堀田治邦 (1999): 日植病報 65(3): 405.
- 4) 今井四郎 (1914): 病蟲害雑誌 (1): 66.
- 5) 小泉信三ら (1993): 農業研究センター研究報告 23: 104 pp.
- 6) 駒田 且 (1976): 東海近畿農試研報 29: 132 ~ 269.
- 7) 久保周子ら (2001): 日植病報 67(2): 164 ~ 165.
- 8) 窪田昌春・我孫子和雄 (1999): 関西病虫 41: 17 ~ 22.
- 9) 日本曹達編 (2003): 農薬時代 185: 11 ~ 80.
- 10) 日本植物防疫協会編 (2004): 植物防疫 58(4): 157 ~ 183.
- 11) 日本植物病理学会編 (2000): 日本植物病名目録, 日本植物防疫協会, 東京, 857 pp.
- 12) 農林省振興局研究部 (1958): 農業改良技術資料 97: 162 pp.
- 13) 大沢高志 (1994): 静岡農試特報 18: 91 pp.
- 14) 竹内妙子ら (2004): 日植病報 70(4): 323 ~ 325.
- 15) 外側正之 (2003): 植物防疫 57(4): 28 ~ 31.
- 16) ——— (2004): 日植病報 70(3): 221.
- 17) ——— (2005a): 静岡農試特報 25: 81 pp.
- 18) ——— (2005b): 日本菌学会ニュースレター 4: 7 ~ 11.
- 19) 富岡啓介・佐藤豊三 (2004): 日植病報 70(3): 221.
- 20) 上田 進 (1995): 愛媛県農試研報 33: 54 pp.
- 21) WOLLENWEBER, H. W. and O. A. REINKING (1935): Die Fusarien, Paul Parey, Berlin, 355 pp.