

## *Fusarium avenaceum* によるカーネーション立枯病の発生

外側正之・鈴木 歩\*・瀧川雄一\*

Masayuki TOGAWA, Ayumi SUZUKI and Yuichi TAKIKAWA :  
Occurrence of carnation stem rot disease caused by *Fusarium avenaceum*.

2002年2月に静岡県内のカーネーション栽培地で発生した苗腐れ症状について、病原菌の分離・同定を行った。症状は原病徴および接種試験の結果から、カーネーション立枯病の症状と診断された。病原菌は、PDA, FG, CLAの各培地上での性状から、*Fusarium avenaceum*(Fr.) Sacc. と同定された。本菌によるカーネーション立枯病の日本における発生の報告はこれが初めてである。なお、分離菌の病原性は、本病の原因菌として一般的な *Gibberella zeae* (Schweinitz) Petch (不完全時代 *F. graminearum* Schwabe) に比して弱かった。

Key words : カーネーション, 立枯病, *Fusarium avenaceum* carnation, stem rot

### 緒 言

2002年2月静岡県内のカーネーション栽培地で、定植直前および定植直後の苗が腐敗する症状が発生した。静岡大学および静岡県農業試験場で病原菌の分離・同定および接種試験を行ったところ、*Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. によるカーネーション立枯病であることが明らかとなった。*Fusarium avenaceum* によるカーネーション立枯病の発生はこれまで未報告であるので、ここに報告する。また試験に際し、立枯病の原因菌として一般的に知られる *Gibberella zeae* (Schweinitz) Petch (不完全時代 *Fusarium graminearum* Schwabe) との比較も行ったので、その結果も併せて報告する。

### 材料および方法

#### 1. 発生状況および症状の観察

発生状況について、生産者から聞き取りを行った。症状については、定植直前の苗、定植直後の苗いずれについても症状が同一であるとのことから、定植直前苗について、大学・試験場に冷蔵輸送されたものを観察した。

#### 2. 病原菌の分離・同定

分離：病斑部の顕微鏡観察および予備分離の結果、病原菌は糸状菌であると考えられたので、分離は組織分離法を用いた。すなわち、苗の表面を十分に水洗した後、病斑部と健全部の境を5mm四方に切り取り80%エタノールで1分間消毒した。これを滅菌水中で洗浄、エタノールを除去した後、滅菌濾紙で水分を十分に除いてからPDA培地上にシャーレ1枚当たり4切片を置床した。25°Cで培養し、3~5日後に生育してきた菌糸をWA (Water Agar : 素寒天) 培地に移し、さらに25°Cで3日間培養した。伸びてきた菌糸先端を実体顕微鏡下で単菌糸分離し分離菌とした。分離菌はPDA斜面培地に移植・保存し、その中の3菌株を以下の実験に供試した。

同定：コロニー性状および生育速度はPDA培地及びFG培地<sup>6)</sup>を用いて観察・調査した。すなわち、直径5mmの菌そうディスクを9cmのシャーレに流し込んだ各培地の中央に置床し、25°Cで培養した。4日後(PDA培地)または7日後(FG培地)の菌そう直径を計測するとともに、10日目までコロニー性状を観察した。胞子の形態・大きさ・形成状態については1%塩化ベンザルコニウムを用いたCLA培養法<sup>5)</sup>を用いた。培養5~7日目にカーネーション葉片上に形成されたスポロドキアを

静岡県農業試験場 Shizuoka Pref. Agricultural Experiment Station, Tomigaoka678-1, Toyoda-cho, Iwata-gun, Shizuoka 438-0803

\* 静岡大学農学部 Shizuoka University Agricultural-division, Ohya638, Shizuoka-city, Shizuoka, 422-8529

少量掻き取って顕微鏡観察を行った。

同定に際しては、対照としてカーネーション立枯病菌 *Gibberella zeae* (*F. graminearum*) 3菌株 (IPC-A-3, -6, -9: いずれも静岡県農業試験場保存) を用いた。

### 3. 接種試験

接種試験は、幼苗の茎と成苗の枝に菌糸または孢子を接種する方法、すなわち (苗接種・枝接種) × (菌糸接種・孢子接種) の4つの組合せで行った。

苗接種は発根させた草丈15~20cmの苗 (品種: ノラ) の茎基部に、枝接種ではビニールポット植えカーネーション株 (品種: ノラ, 草丈約30cm) の上位3カ所の節 (葉柄基部) 中央に、それぞれメスで長さ1cm, 深さ1~2mmの傷を付けて接種に供試した。

菌糸接種は、PDAで25℃3日間培養した分離菌の菌糸先端を培地ごと切り取り、菌糸が傷口に接するようにセロハンテープで固定した。孢子接種は、CLA培地上に形成された大型分生孢子を滅菌水中に懸濁、 $10^6$ 個/mlに調製した後、傷口を中心に噴霧接種した (3ml/苗・株)。

接種後、苗接種についてはビニール袋内で23℃3日間保った後、トレイ上に移した。枝接種については、内側を水で濡らしたビニール袋で覆い23℃3日間人工気象器内に保った後ビニールを除き、1日2回の頭上灌水を行った。

いずれの試験でも、分離3菌株およびカーネーション立枯病菌 *Gibberella zeae* (*F. graminearum*) 3菌株 (IPC-A-3, -6, -9) を用いた。

なお、菌糸接種では素寒天片を、孢子接種では滅菌水を同様に処理したものを、無接種対照区とした。

## 結 果

### 1. 発生状況および症状の観察

今回症状の発生したカーネーション苗は、発根させたものを砂上げし、50本ごとビニール袋に入れ、ダンボール箱に4~5袋ずつ詰めた状態で育苗会社から冷蔵配達されたものであった。各袋ごとの発生本数は、数本~半数以上までばらつきがあったが、全く発生の見られない袋は無かった。また腐敗程度についても、茎基部に若干の褐変が見られる程度でそのまま定植が可能なものから、茎基部全体が飴色に軟化し、定植不可能なものまであった。茎基部が健全なものについては定植を行ったが、葉身基部に腐敗が見られた苗の多くは、定植後約20日以内に地際部まで腐敗が広がり植替えを余儀なくされた。最終的に、購入した苗の約3割が腐敗・枯死に至った。

症状をさらに詳細に観察すると症状の軽重は茎の太さに関連が見られた。すなわち、茎が太い場合には、苗の茎基部を中心に、褐色で楕円形の斑点が上部に向かって進展していた (第1図)。健全部との境は水浸状であるが、病斑の中心部は乾いている場合が多かった。一方、茎が細い場合には、斑点状にならず茎全体が褐色に軟化・腐敗した。腐敗が進行すると、葉も基部から褐色になり枯死に至った。

以上の症状は、カーネーション立枯病の「苗腐れ症状」<sup>4)</sup>として知られる症状と一致した。

### 2. 病原菌の分離・同定

病斑部から1種類の *Fusarium* 属菌のみが分離された。

分離菌のPDA培地上での生育は、25℃4日後のコロニー直径が24.0mmと早く、コロニー裏面は培養初期より鮮紅色を呈したが、対照に用いた *Gibberella zeae* (*F. graminearum*) と異なり、継代培養すると容易に色調が白色・黄色・淡紅色に変異するものがあった。気中菌糸を良好に生ずるが、その長さは6mm以下で、*Gibberella zeae* (*F. graminearum*) のようにシャーレの蓋 (培地表面からの距離: 1cm) に届くことはなかった。さらに、子のう殻・分生孢子的のいずれも形成しなかった (第1表)。FG培地上では、*Gibberella zeae* (*F. graminearum*) と比較して、若干菌糸生育スピードが遅く、コロニー裏面色調は中心部が暗赤色で白色の周縁部の幅が広がった。気中菌糸が *Gibberella zeae* (*F. graminearum*) ほど旺盛でない点はPDA上と同様であった (第1表)。

一方、CLA上では、培養3日目よりオレンジ色のス



第1図 苗腐れ症状

ポロドキアを豊富に形成したが、20日間の培養で子のう殻・小型分生孢子・厚膜孢子は形成しなかった。形成した大型分生孢子は三日月型で apical cell は針状、basal cell は靴底形であった。形状は *Gibberella zeae* (F.

*graminearum*) よりもかなり細長く、ほとんどが5隔壁であった。分生子形成細胞は分岐する場合と分岐しない場合の両方があったが、大型分生孢子形成様式はモノフィアロ型であった(第1表、第2~4図)。

第1表 分離菌および *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) の各種培地上での性状比較<sup>a)</sup>

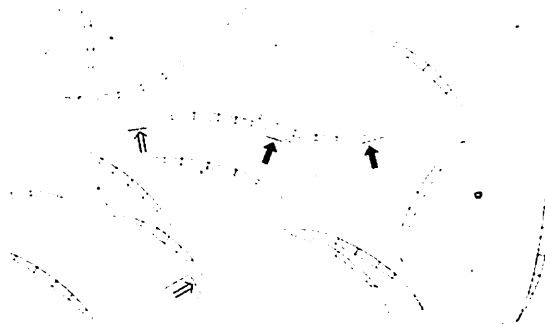
	分離菌 <sup>b)</sup>	<i>G. zeae</i> ( <i>F. graminearum</i> ) <sup>c)</sup>	<i>F. avenaceum</i> <sup>d)</sup>
PDA上での性状			
コロニー直径 (mm) (25°C 4日間)	24.0	30.0	早い
コロニー裏面色調	鮮紅色~淡紅色 (継代による変化が激しい)	鮮紅色 (継代により変化しにくい)	黄褐色, 洋紅色, 深褐色 (不安定)
気中菌糸 (高さ)	白色綿毛状, (6 mm以下)	白色綿毛状, 旺盛 (1 cm以上)	白色, 密に生育
子のう殻及び孢子	形成せず	形成せず	形成せず
FG上での性状			
コロニー直径 (mm) (25°C 7日間)	24.1	27.1	
コロニー裏面色調	中心部暗紅色, 周縁部白色 周縁部幅が広い (5 mm以上)	中心部鮮紅色, 周縁部白色 周縁部幅が狭い (2 mm以下)	
気中菌糸 (高さ)	白色綿毛状, (1~3 mm)	白色綿毛状, 旺盛 (5~8 mm)	
子のう殻及び孢子	形成せず	形成せず	
CLA上での性状			
子のう殻の形成	無	有 (濃紺)	
スポロドキア	豊富, オレンジ色 (培養後3日後~)	豊富, オレンジ色 (培養後5日後~)	オレンジ色
大型分生孢子			
隔壁数	4~6 (ほとんど5)	3~7 (5が多い)	3~
長さ (μm)	52.5~80.0 (平均 67.8)	40.0~59.0 (49.0)	非常に細長い
幅 (μm)	2.5~5.0 (平均 3.8)	3.9~5.6 (4.9)	
分生子形成細胞			
分岐する場合と分岐しない場合有り	分岐する場合と 分岐しない場合あり	分岐する場合と 分岐しない場合あり	
大型分生子孢子子の形成様式	モノフィアロ型	モノフィアロ型	モノフィアロ型
小型分生孢子	形成せず	形成せず	形成せず
厚膜孢子	形成せず	形成せず	非常にまれ

a) 分離菌および *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) の差異が明瞭な項目を太字で示した

b) 分離3菌株の平均値

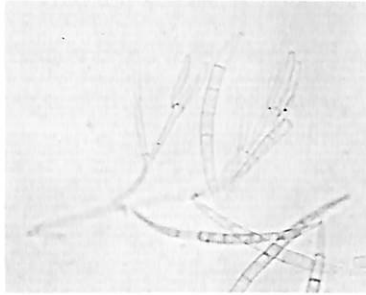
c) IPC-A-3, 6, 9 3菌株の平均値

d) Nelsonら<sup>10)</sup>より引用

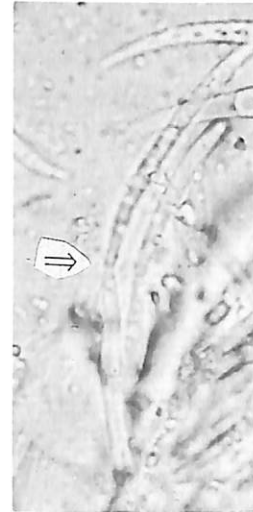


第2図 大型分生孢子

注) apical cell 狹と basal cell ⇒



第3図 分岐した分生子形成細胞



第4図 モノフィアロ型に形成される大型分生子

第2表 分離菌および *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) のカーネーションに対する病原性

	分離菌 <sup>a)</sup>	<i>G. zeae</i> ( <i>F. graminearum</i> ) <sup>b)</sup>
苗に対する病原性		
菌糸接種	5~18×2~7 (平均: 12.8~4.0)	17~32×6~18 (24.0~14.0)
胞子接種	0~9×0~6 (平均: 3.2~0.8)	16~45×11~18 (27.0~14.0)
control	0×0	0×0
枝に対する病原性		
菌糸接種	6~12×3~6 (平均: 9.4~4.8)	9~25×9~20 (13.5~10.8)
胞子接種	0~7×0~2 (平均: 2.8~0.8)	0~25×0~7 (11.6~4.2)
control	0×0	0×0

a) 分離3菌株の平均値(病斑の縦長×幅, 単位: mm)

b) IPC-A-3, 6, 9 3菌株の平均値(病斑の縦長×幅, 単位: mm)

### 3. 接種試験

分離菌は苗・株のいずれに対しても病原性を示した。苗における症状は原病徴を再現した。また、枝接種における症状は、健全部との境が赤紫色で中心部が淡褐色の楕円形斑点が徐々に拡大した。*Gibberella zeae* (*F. graminearum*) との比較では(苗・枝)×(菌糸・胞子)のいずれの組合せによる接種でも病原性が弱かったが、カーネーション立枯病の「枝枯れ症状」・「苗腐れ症状」の症状と一致した。菌糸接種と胞子接種の比較では、菌糸接種の方が強い病原性を示したが、これは分離菌、*Gibberella zeae* (*F. graminearum*) とも同様であった。なお対照の無接種区では腐敗・枯死のいずれの症状も示さなかった(第2表)。

### 考 察

まず分離菌の同定について、PDA培地・CLA培地いずれにおける性状も、Nelsonら<sup>10)</sup>による*F. avenaceum* (Fr.) Sacc.の記載、松尾<sup>9)</sup>による*F. roseum* Lk. f.sp. *cerealis* (Cke.) Snyd. et Hans. 'Avenaceum'の記載と一致した。なお、Booth<sup>2)</sup>による*F. avenaceum* (Corda ex Fr.) Sacc.の記載では、菌糸から直接大型分生子が形成される場合にポリフィアロ型に形成されるとされるが、今回の調査では菌糸から直接形成される大型分生子は観察されなかったため、この点の確認は出来なかった。他の性状については記載と一致した。また、Burgessら<sup>3)</sup>は大型分生子の長さに基づいて、Gerlachら<sup>4)</sup>は大型分生子の形状に基づいて、各々亜種・変種を提案しているが、これらはまだ一般的に受け入れられて

いるとは言い難い。以上より、分離菌を Nelsonら<sup>10)</sup>の記載に基づき *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. [Syn. *F. roseum* Lk. f.sp. *cerealis* (Cke.) Snyder et Hans. 'Avenaceum'<sup>12)</sup>] と同定した。

次に病名について、原病徴は、カーネーション立枯病の「苗腐れ症状」<sup>10)</sup>と一致した。また、接種試験による枝接種では、カーネーション立枯病のもう一つの症状として知られる「枝枯れ症状」<sup>10)</sup>と一致した。したがって、今回の苗腐敗症状は「カーネーション立枯病」と診断するのが適切と考えられた。なお、*F. graminearum* と *F. avenaceum* が同一病害の原因となる場合に、*F. graminearum* に比して *F.avenaceum* の病原性が弱いことは、一般論としては Booth<sup>2)</sup> が、コムギ赤かび病に関しては小泉ら<sup>9)</sup> が言及しているが、今回のカーネーションにおける接種試験でも同様な結果が得られた。

日本植物病名目録<sup>11)</sup>によれば、カーネーション立枯病の病原菌として、*F. avenaceum* が記載され4つの引用文献が紹介されているが、その採用については疑問がある。まず、ト蔵の文献<sup>1)</sup>では《*Fusarium* sp.「カーネーション」の立枯病を起す》(《》内は原文のまま)と記されているだけで種名は不明である。さらに、この記述は「海外の研究」を報告する頁に記されており日本国内での発生を述べたものではない。次に、松尾による文献で、最初の1961年発表<sup>7)</sup>では、病原菌を *F. tricinctum* (Cda.) Sacc. 及び *F. roseum* f. *cerealis* とし、次の1972年の論文<sup>8)</sup>では *F. roseum* f.sp. *cerealis* の cultivar を 'Graminearum', 'Culmorum' としており *F. avenaceum* のシノニムである *F. roseum* f.sp. *cerealis* 'Avenaceum' は含まれていない。また、小林ら<sup>5)</sup>による「植物病原菌類図説」の中に *F. avenaceum* がカーネーション立枯病の原因となることが記されている。しかし、その記述の根拠となった Booth<sup>2)</sup> の記載および「菌類図鑑」<sup>17)</sup>の引用文献をあたってみると、日本での発生についてはムギ類、ソラマメについてのみで、カーネーションは外国における発生の報告の引用である。カーネーション立枯病については、これ以外に、外側ら<sup>13,14)</sup>の報告があるが、いずれにおいても *F. avenaceum* の記載は無い。したがって、*F. avenaceum* によるカーネーション立枯病の日本における発生の報告は見あたらず、これまでの発生実態は不明である。今後は、より詳細な文献調査による過去の発生実態の解明と併せて、現在の発生地における病原菌分離頻度等の調査を進めていくことにより、カーネーション立枯病の発生全体の中で、*Gibberella zeae* (*F.*

*graminearum*), *F. avenaceum* 及び *F. tricinctum* が各々どの程度関与しているのかといった点について検討していきたい。

#### 引用文献

- 1) ト蔵梅之丞 (1914) 海外の研究 *Fusarium* sp.. 病虫雑. 1(3): 314.
- 2) Booth. C. (1971) 「THE GENUS FUSARIUM」. 91~94, Commonwealth Mycological Institute, Kew.
- 3) Burgess, L. W., Summerell, B. A., Bullock, S., Got, K. P. and Backhouse, D. (1994) Laboratory Manual for *Fusarium* Research (3rd ed). 94~99, University of Sydney, Sydney.
- 4) Gerlach, W. and Nirenberg, H. (1982) The Genus *Fusarium* - a Pictorial Atlas. 139~146, Biologische Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft Institut für Mikrobiologie, Berlin-Dahlem.
- 5) 小林享夫 (1992) *Fusarium*. 植物病原菌類図説 (小林享夫ほか編), 592, 全国農村教育協会, 東京.
- 6) 小泉信三・加藤 肇・吉野嶺一・駒田 旦・一戸正勝・梅原吉広・林 長生 (1993) ムギ類赤かび病の病原学的・疫学的研究. 農研センター研報 23: 32~41.
- 7) 松尾卓見・桜井善雄・田中袈裟平 (1961) カーネーション立枯病の病原 *Fusarium* 菌について. 日植病報 26: 217.
- 8) 松尾卓見 (1972) 植物病原フザリウム菌に関する分類学的研究. 日植病報 38: 167~169.
- 9) 松尾卓見 (1980) 4. *Fusarium roseum* LK. 作物のフザリウム病 (松尾卓見ほか編), 45~46, 全国農村教育協会, 東京.
- 10) Nelson, P. E., Toussoun, T. A. and Marasas, W. F. O. (1983) *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. 80~83, Pennsylvania St. Univ. Press, Pennsylvania.
- 11) 日本植物病理学会編 (2000) 日本植物病名目録. 293, 日本植物防疫協会, 東京.
- 12) Singleton, L. L., Mihail, J. D., and Rush, C. M. (1992) Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. 116~117, APS Press, Minnesota.

- 13) 外側正之・一戸正勝 (1988) カーネーション立枯病菌 (*Fusarium graminearum*) の完全時代 *Gibberella zeae* の野外における発生. 関西病虫研 30 : 43~47.
- 14) 外側正之・小泉信三 (1990) カーネーション立枯病の発生生態. 静岡農試研報 35 : 53~62.
- 15) 外側正之 (1992) C L A培養による *Fusarium* 属菌の孢子形成に及ぼす, カーネーション葉の滅菌方法, 品種, 葉令の影響. 日菌報 33 : 385~393.
- 16) 外側正之 (1994) *Fusarium graminearum* の分離のための選択培地. 土と微生物 44 : 77~88.
- 17) 横山竜夫 (1978) *Fusarium avenaceum*. 菌類図鑑 (下) (宇田川俊一ほか編), 1055~1056, 講談社, 東京.

(2002年4月11日受領)

---