

<菌類講座 第5回>

Fusarium 属菌

本橋慶一

はじめに

Fusarium 属菌は子のう菌門ボタタケ目に所属する糸状菌類のアナモルフ(無性世代)で、1809年にLinkによって創設された。土壌や空中、水環境に普遍的に検出される糸状菌類であるが、特に植物病理学上では農作物に対して多くの重要病害を引き起こす植物病原菌として知られている。また、農作物の生育不良や枯死を引き起こすだけでなく、農作物の収穫物や食品の衛生上からも発がん物質を含むかび毒(マイコトキシン)を産出する発生菌としても知られ恐れられている。本属菌は長らく、培養上も含めた形態的特徴に基づいて分類が行われてきたが、種々の高い変異性が分類形質としての解釈について学派間で対立と競合を引き起こしてきた。その結果、分類体系も学派間で大きく異なり、分類体系の実際の利用者である農作物生産現場や非分類研究者には扱いが難しい菌類として、大きな混乱をもたらしてきた。さらには、近年、本属菌の遺伝子を用いた分類の再評価が進み、既存の分類とは異なることが徐々に解明され、本属菌の分類が見直されつつある。本稿では*Fusarium* 属菌の形態的特徴、分類体系の変遷、選択培地による検出および培養法について概要を述べたい。

形態的特徴

従来行われてきた形態的特徴に基づいた形質分類は、他の菌類と同じく重要な要因であった。本属菌についても形態学種概念(morphological species concept)を根底に、培養上の色調、培養性質、分生子形成構造や分生子の形態、厚膜胞子の形成の有無などを手がかりに種の同定が行われてきた。しかしながら、近年、DNAを用いた分子系統解析による既知種の再解析が行われ、遺伝子の特定領域に基づく系統的類縁関係

や遺伝子の交流に基づいた種の再認識が形態的特徴に基づく形質分類とは独立して行われつつある。これら分子系統的種概念(phylogenetic species concept)(O'Donnell, 1996)やGCPSR(genealogical concordance phylogenetic species recognition)(Taylor et al., 2000)による新たな概念は、形態的特徴に基づいて創設された菌種の多くに隠蔽種を含むことを明らかにし、いくつかの種において再定義が進められている。このように、形態的特徴に基づいて創設された菌種についても、新たな種概念の下で識別に対応し、利用できるのか再吟味されつつある。従って、再吟味された菌種と済んでいない菌種が混在しているため形態的特徴のみで菌種の同定を行う場合は、十分な注意が必要であろう。

Fusarium 属菌はPDA(ジャガイモ煎汁・ブドウ糖寒天)培地上で、白色、淡紫色～濃紫色、淡紅色～濃紅色、血赤色、淡黄色～茶褐色、淡青色、淡緑色～青緑色、肌色など多彩な色調が観察される。PDA培地上では気中菌糸を豊富に形成する菌種が多いものの、気中菌糸をほとんど形成せず、培養基中に広がる菌糸体だけの菌種も多い。菌糸体の成長速度も多様であるが、一般的に1日あたり数mmと比較的早いものが多い。本属菌の分生子の形態的特徴は属自体の特徴や定義も多細胞で鎌形から三日月型の大分生子を形成することにある(図1, a)。この大分生子と呼ばれていた分生子に加え、主に単細胞から2細胞の棍棒状等の形態をした分生子である小型分生子がある(図1, b)。現在では、分生子形成構造について形態学的な再評価が進み、従来の大分生子や小分生子での呼称では対応できなくなり、これらの用語の使い方について過去とは異なっている(Aoki et al., 2003)。再評価の下で、培養下での分生子柄の性状から分生子座性分生子

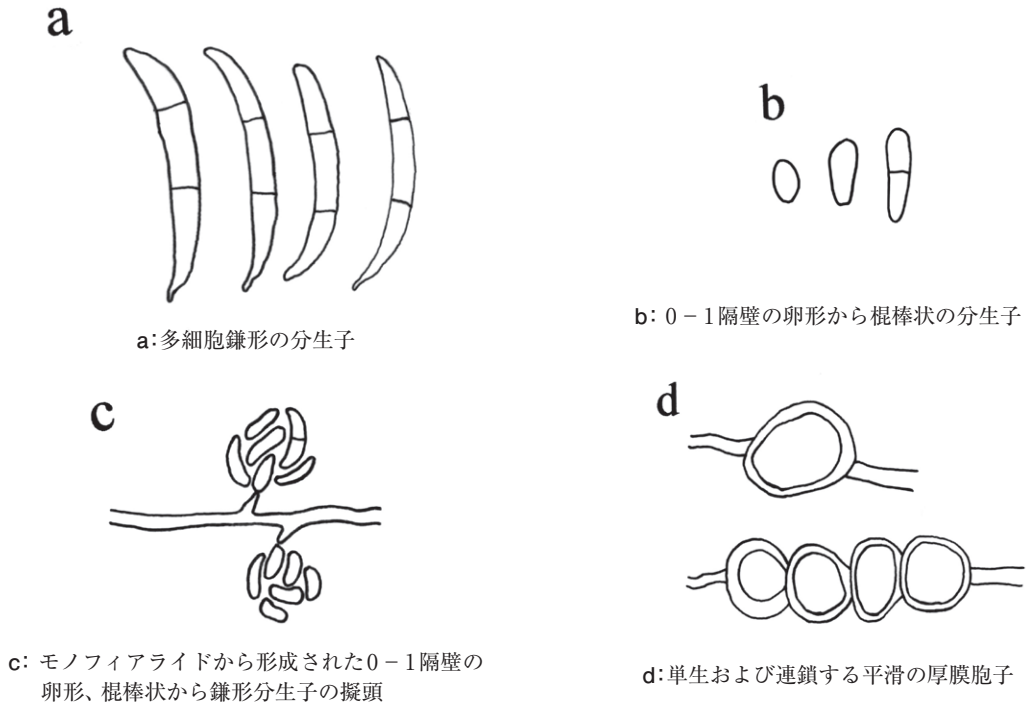


図1 *Fusarium* 属菌の形態的特徴

柄(sporodochial conidiophores)と気生分生子柄(aerial conidiophores)の2つのタイプが認識されている。分生子座性分生子上に形成される一般的に大形分生子と呼ばれる多細胞分生子はフィアロ型に形成され、分生子基部には分生子がフィアライドから形成されたことを示す、柄足細胞(foot-cell)を生じる。一方、出芽型に形成される気生分生子柄上の多細胞分生子には、基部に柄足細胞はなく裁断状となる。また、気生分生子柄上の出芽型分生子の形態は紡錘形、槍状、棍棒状であり多細胞の分生子だけではなく単細胞の分生子も含まれ、フィアロ型のみと考えられてきた小型分生子にも定義に一致しないものが含まれることが明らかとなった(駒田ら, 2011)。しかしながら、形態的特徴の再評価が進むにつれ、定義に一致しないものが多く認識され、中型分生子の呼称が提案されたりしたが、大・中・小分生子にもあてはまらない例や複数の型の分生子を形成する菌種が次々に見出され、類型化することはもはや不可能となっているのが現状である。また、気生分生子の場合、

複数個の分生子が連続的に形成し、連鎖や擬頭状になる場合があり、種を識別する重要な形質の一つである(図1, c)。加えて、分生子以外の形成構造以外に厚膜胞子や不稔の菌糸要素等も観察される。厚膜胞子は菌糸上や分生子上で形成され、単独または連鎖、ときには塊状で、表面は平滑から粗面、菌糸の先端にできる頂生と菌糸や分生子中に形成される間生が観察される(図1, d)。一般的に二重壁の厚膜のものを厚膜胞子と呼び、一重壁のものを菌糸膨大部と呼ぶが、両者の区別は必ずしも明確ではない。この厚膜胞子は土壤中での生存と極めて深い関係にあり、耐久器官として知られている。

分類体系の変遷

Fusarium 属の近代的な分類の出発点は Wolle-
nweber & Reinking (1935) に遡る。1809年に Link が本属を創設してから1900年初頭までに顕花植物、隠花植物、動物、粗原料、土壌等から600以上の *Fusarium* 属菌の種が記載されてきた。

Wollenweber & Reinking (1935)は形態学的に識別できるものを細かく分類するスプリッター(splitter)の立場をとり16節(section:形態的に類似したグループ)65種(species)55変種(variety)22品種(forma)にまとめた。一方, Snyder & Hansen (1940, 1941, 1945)の分類体系では種概念を広く取り扱うランパー(lumper)の立場をとり, Wollenweber & Reinkingの節の区切りに対応する形で9種を認める, 9種システム(the 9 species system)を考案した。この分類体系では種以下の階級で国際植物命名規約外である宿主植物に対する病原性に対応する分化型(forma speciales)の概念を導入し, 世界の植物病理学者から大いに受け入れられた。さらにそれらに1種を加えた10種とする信州大学の松尾卓見(Matuo 1972)の分類体系が広く採用され, 種概念を広く捉える考えが主流となった。その後, これらの相反する考え方(スプリッターとランパー)の分類体系は弟子筋に引き継がれたが, 両学派の対立は, 中間的な立場をとるBooth (1971)のモノグラフ(45種7変種)と共に長らく, 体系間の学名不一致に見られる対立と混乱を利用者に与えてきた。Nelsonら(1983)はSnyder & Hansenの分類体系を放棄し, それまで対立していたWollenweber & Reinkingの分類体系を採用し, 交配群を重視した生物学的種概念を採用し, これまでの分類体系に大きな変化をもたらした。本属菌の分類学にさらに大きな変化と影響を及ぼしているのが, 近年導入された遺伝子配列に基づいた分子系統学的手法である。これまで分類に用いられてきた形態的特徴に基づく分類形質を進化・類縁関係から再検討されつつある。O'Donnell (1996)はribosomal DNAのLSU (large sub unit), β -tubulin, mtSSU (mitochondria small sub unit), ITS (internal transcribed spacer), SSU (small sub unit)等について系統解析を行った。この結果, 既存の菌種から隠蔽種(cryptic species)の存在が明らかとなり, これまで以上の種が存在することが指摘されている。現在, これらの結果を踏まえ, 新たな遺伝子領域追加し, 多領域を用いた系統解析結果と詳細な形態学的特徴を精査し, 組み合わせが行われている状態である。このように,

これまで行われてきた人為分類とは異なる分子系統解析を加味した新たな分類体系が構築されつつあるものの, 現状では*Fusarium*属全体を包括した有効な分類体系は無く, 再構築に向けて個々の菌種について細かい分類学的見直しがなされている最中である。このような現状のなかでは, 暫定的ではあるがGerlach & Nirenberg (1982)等の種の記載に詳細な形態学的な情報を加味したものを基礎とし, 最新の論文等と合わせながら菌種について調査するべきである(駒田ら 2011)。

選択培地による検出

植物および動物組織, 土壌, 水, 大気などから*Fusarium*属菌のみを効率的に分離するためには選択培地が用いられている。通常, 様々な環境中には多くの微生物が存在している。土壌中には1g中に数百万から数千万, ときにはそれ以上の微生物が存在し, 動植物体内においても多くの微生物が存在し, その腐敗に伴い膨大な微生物が増殖すると考えられる。従って, このような環境から*Fusarium*属を分離するためには, 選択培地が必要不可欠とも言える。ここでは, いくつかある*Fusarium*属選択培地のうち, 世界で最も使用されていると思われる駒田培地を紹介する。

駒田培地

① 基本培地

K_2HPO_4	1g
KCl.....	500mg
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	500mg
Fe-EDTA.....	10mg
D-ガラクトース.....	20g
L-アスパラギン.....	2g
寒天.....	13 ~ 15g
H_2O	1l

② 抗生物質

PCNB(75%水和剤).....1g
 オックスゴール(コール酸ナトリウム).....500mg
 $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$1g
 硫酸ストレプトマイシン(注射用).....300mg
 加熱溶解した①基本培地に②抗生物質を添加し, よく混和する。10%の H_3PO_4 などで水素イオ

ン濃度を pH3.8 ~ 4.0 に調整する。その後、9cm のシャーレに 15ml ずつ分注し、固化して使用する。

培養方法

分離した *Fusarium* 属菌は継代培養すると性質を変化させ、色素生産能力や分生子形成や病原性を消失することがよくある。その他、菌糸生育量の変化や成長速度や性状の異なるセクターを生じる例も知られている。これらが生じた場合、野生型の性状に回復するのは困難で、富栄養培地上で培養するとこれらの変異を生じやすい。これらの回避方法として PDA 培地を含む富栄養培地上での培養・保存しないことが挙げられる。PDA 培地は本属菌の培養性状を調べるための必須の培地であるが、菌株の保存と性質維持に関しては別と考えるべきである。凍結保存設備がある場合は一般的な凍結保存が有効である。凍結保存設備がない場合は、本属菌の保存に用いられる方法がいくつかあるが、カーネーション葉片寒天 (CLA) 培地や SNA (synthetic low nutrient agar) は保存および形態観察にも有効な培地である。

SNA (Synthetic low-Nutrient Agar) 培地

グルコース	0.2g
シュクロース	0.2g
KH ₂ PO ₄	1g
KNO ₃	1g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5g
KCl	0.5g
1N NaOH	0.6ml
寒天	23g
H ₂ O	11

参考文献

Aoki T, O'Donnell K, Homma Y, Lattanzi AR (2003) Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani*

species complex - *F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. *Mycologia* 95: 660-684.

Booth C (1971) The genus *Fusarium*. CMI, Kew, Surrey.

Gerlach W, Nirenberg H (1982) The genus *Fusarium*—a pictorial atlas. Mitt Biol Bundesanst Land- Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem 209:1-406.

O'Donnell K (1996) Progress towards a phylogenetic classification of *Fusarium*. *Sydowia* 48 (1) : 57-70.

Taylor JW, Jacobson DJ, Kroken S, Kasuga T, Geiser DM, Hibbett DS, Fisher MC (2000) Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fungal Genetics and Biology* 31: 21-32.

駒田旦・小川奎・青木孝之 (2011) フザリウム - 分類と生態・防除 -. 全国農村教育協会, 東京.

Matuo T (1972) Taxonomic studies of phytopathogenic fusaria in Japan. *Rev Plant Protec Res* 5:34-45.

Nelson PE, Toussoun TA, Marassas WFO (1983) *Fusarium* species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania, USA: Penn. State University Press.

Snyder WC, Hansen HN (1940) The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany* 27: 64-67.

Snyder WC, Hansen HN (1941) The species concept in *Fusarium* with reference to section Martiella. *American Journal of Botany* 28: 738-742.

Snyder WC, Hansen HN (1945) The species concept in *Fusarium* with reference to *Discolor* and other sections. *American Journal of Botany* 32: 657-666.

Wollenweber HW, Reinking OA (1935) Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung. Paul Parey, Berlin.

(もとはし・けいいち)

東京農業大学電子顕微鏡室)