

# Penicillium 属菌によるマンゴー炭疽病の生物防除

沖縄県農業試験場宮古支場 澤 崎 哲 や  
琉球大学農学部 もろ 見 り ぜん 一

## はじめに

沖縄県では、簡易なビニールハウスなどによる雨除け栽培および着果技術の確立によりマンゴーの商業的栽培が可能になった。その栽培面積および出荷量は年々増加の一途をたどっており、今後最も期待される熱帯果樹である。しかし、本県は亜熱帯モンスーン気候でマンゴーの開花時期に当たる2月から幼果が肥大する5月頃まで降雨量が多く、そのため炭疽病が多発し、特に花落ちや果実の着果障害の原因となっている。また、圃場で感染した無病徴の果実が、収穫後に表面に黒い病斑を形成し、商品価値を著しく低下させるため経済的な損失は大きい。一方、マンゴーは全国レベルでみるとマイナー作物であり、それに発生する各種病害の試験も立ち遅れているのが現状である。現在（2004年）炭疽病防除の登録農薬はキャプタン剤のみであり、そのほか、果実には温湯処理がなされているが、収穫後の果実の発病抑制効果が認められるものの、果実面のつやや色のが悪くなるなどが指摘されている（沖縄県植物防疫協会，2001）。これらのことから、効果の高い代替技術の開発が早急に望まれている。

筆者らは、薬剤を撒布した場合でも、薬剤のかからなかったわずかな部分に炭疽病の発生が認められる場合がある一方、薬散をしていない葉の中に炭疽病が全く発生しないものもあることに注目し、その主要因が生物学的なものではないかと考え、健全マンゴー葉面に生息する微生物相を調べ、その中から炭疽病の生物防除に利用可能な微生物の探索を行った。また、最も高い拮抗性を示した *P. waksmanii* (T-141) の拮抗のメカニズム、化学農薬との併用の可能性、および防除試験と大量培養についてもあわせて検討した（諸見里ら，2003）。ここではその概要を記する。

Study on the Biological Control of Mango Anthracnose using *Penicillium* Species. By Tetsuya TAKUSHI and Zen-ichi MOROMIZATO

（キーワード：熱帯果樹病害，炭疽病，生物防除，*Penicillium* 属菌）

## I 健全マンゴー葉面における微生物相の遷移

マンゴー葉面微生物相は葉齢とともに変化し、葉面 25 cm<sup>2</sup> 当たりの細菌数は  $1.94 \times 10^6$  から  $18.3 \times 10^6$ ，糸状菌数は  $1.06 \times 10^5$  から  $5.78 \times 10^5$  の範囲であった（表-1）。また、幼葉、成熟葉および老化葉など生きた葉面では細菌と糸状菌数に大きな差異は認められなかったが、枯死葉面では両菌数ともに著しく増加した。細菌では、気中および各齢の葉面ともに黄色または白色の色素性細菌が優占した。なかでも、黄色グラム陰性球菌と白色グラム陰性球菌がそれぞれ 28.0% および 10.0% と高い割合を占め、また幼葉、成熟葉および老化葉では、黄色グラム陰性菌と白色グラム陰性菌が安定して認められたのに対し、枯死葉からは白色グラム陰性細菌は全く分離されず、黄色グラム陽性細菌の優占に変遷した。細菌をグラム陰性菌と陽性菌に注目して、空気中と葉面を比

表-1 各葉齢のマンゴー葉における細菌および糸状菌数

| 葉 齢 | 微生物数 <sup>a)</sup>  |                    |
|-----|---------------------|--------------------|
|     | 細菌                  | 糸状菌                |
| 幼葉  | $2.28 \times 10^6$  | $1.06 \times 10^5$ |
| 成熟葉 | $4.20 \times 10^6$  | $2.50 \times 10^5$ |
| 老化葉 | $1.94 \times 10^6$  | $1.46 \times 10^5$ |
| 落葉  | $18.30 \times 10^6$ | $5.78 \times 10^5$ |

<sup>a)</sup> 5 × 5 cm 当たりの菌数。

表-2 気中および各葉齢のマンゴー葉におけるグラム陽性菌とグラム陰性菌の比率

| 細菌  | 気中 <sup>a)</sup>   | 葉 齢  |      |      |      |
|-----|--------------------|------|------|------|------|
|     |                    | 幼葉   | 成熟葉  | 老化葉  | 落葉   |
| 陽性菌 | 47.5 <sup>b)</sup> | 92.5 | 37.5 | 90.0 | 25.0 |
| 陰性菌 | 52.5               | 2.5  | 60.0 | 5.0  | 72.5 |

<sup>a)</sup> ビニールハウス内（高さ 2.5 m）の菌数。 <sup>b)</sup> 各 40 分離株中の比率（%）。

較すると、気中ではグラム陰性菌とグラム陽性菌がほぼ同じ割合であるのに対し、生葉面ではグラム陰性菌が優占したが、落葉上では逆にグラム陽性菌の優占に変遷した(表-2)。このことから、気中の細菌が葉に定着・増殖する際何らかの選択が起こるものと考えられ、植物病原細菌の多くがグラム陰性菌であることから注目すべき点である。

一方、糸状菌では、マンゴーハウス内の気中からは不完全菌類 16 属、接合菌類および分生子形成菌が分離された。各齢の葉面からは不完全菌類 10 属と酵母、厚膜胞子形成菌および分生子果形成菌が分離されたが、気中と比較すると菌相が単純化する傾向が認められた。気中および各齢の葉面で共通に認められた菌は *Cladosporium* および *Penicillium* 属菌のみで、全体をみても両菌の分離率はそれぞれ 22.0%と 19.5%と高い割合を示した。また、酵母菌は幼葉と老化葉からは分離されたが落葉からは全く分離されなかった。これに対し、*Penicillium* 属菌は気中および生葉でも分離されたが、落葉上では全糸状菌の 60%を占めた。

## II マンゴー炭疽病菌の菌糸伸長に及ぼす葉面微生物の影響

具志川市のマンゴー園で栽培されているマンゴー葉から、炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides* Penzig & Sacc.) を分離した。PDA 上での対峙培養により本菌に対する拮抗性の有無および程度を判定した。その結果、細菌では 20%以上の菌糸伸長阻止率を示したものは成熟葉から分離された白色グラム陽性桿菌 (B-13 株) のみで、他の細菌では強い拮抗性は認められず、中にはむしろ炭疽病菌の菌糸伸長を促進するものも認められた。

一方、糸状菌では酵母菌などのように促進するものもあったが、ほとんどが拮抗性を示した。特に *Penicillium* 属菌はほとんどの分離株が高い拮抗性を示し、6 分離株では 20%以上、なかでも *P. citrinum* Thom (T-203 株) と *P. waksmanii* Zaleski (T-141 株) はそれぞれ 30.72%および 32.53%と極めて高い拮抗性を示した(表-3)。

## III マンゴー炭疽病菌の菌糸伸長、胞子発芽および付着器形成に及ぼす *P. waksmanii* (T-141 株) の培養ろ液の影響

PS 液体培養ろ液からクロロホルムで抗菌物質を抽出

表-3 マンゴー炭疽病菌に対するマンゴー葉から分離した糸状菌の拮抗性

| 糸状菌                          | 菌株番号  | 拮抗性指数               |
|------------------------------|-------|---------------------|
| <i>Aspergillus</i> sp.       | A-1   | 16.67 <sup>a)</sup> |
| <i>Cladosporium</i> sp.      | C-1   | 4.61                |
| <i>Diplodia</i> sp.          | D-1   | 3.21                |
| <i>Monilia</i> sp.           | M-1   | 4.21                |
| <i>Penicillium adametzii</i> | P-1   | 25.15               |
| <i>P. citrinum</i>           | T-203 | 30.72               |
| <i>P. waksmanii</i>          | T-141 | 32.53               |
| <i>P. frequentas</i>         | P-2   | 19.31               |
| <i>P. implicatum</i>         | P-3   | 23.25               |
| <i>P. lividum</i>            | P-4   | 9.52                |
| <i>P. restrictum</i>         | P-5   | 27.93               |
| <i>P. sp.</i>                | P-6   | 25.26               |
| <i>Pestalotia</i> sp.        | Pe-1  | 13.08               |
| <i>Phoma</i> sp.             | Ph-1  | - 3.29              |
| <i>Phomopsis</i> sp.         | Ps-1  | - 1.02              |
| <i>Volutella</i> sp.         | V-1   | 11.18               |
| Yeast                        | Y-1   | - 6.83              |

a) 対峙培養における炭疽病菌の菌糸伸長の抑制率 (%)。

b) 5 シャーレの平均。

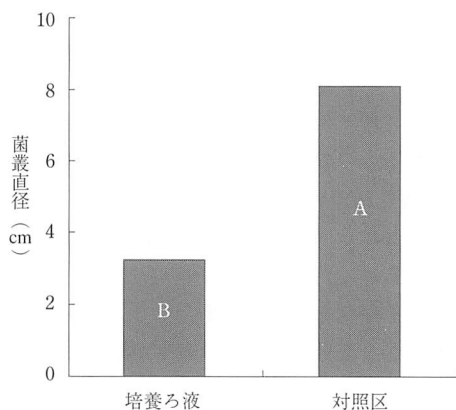


図-1 マンゴー炭疽病菌の菌糸伸長に及ぼす *P. waksmanii* (T-141) の培養ろ液の影響  
菌叢直径は培養 6 日後に測定した。文字間の違いは、1% レベルでの有意差を示す。

し、炭疽病菌の菌糸伸長に及ぼす影響を検討した。その結果、対照区においては、炭疽病菌は培養 6 日後には直径 8.15 cm まで伸張したが、培養ろ液の抽出液を加えた区では 3.25 cm と抑制効果を示した(図-1)。また抽出液を 4 段階に希釈し、炭疽病菌の胞子発芽や付着器形成に及ぼす影響を検討した結果、対照区では 48 時間後に

表-4 マンゴー炭疽病菌の胞子発芽および付着器形成に及ぼす *P. waksmanii* (T-141) が産生する抗菌物質の影響

| 濃度<br>(%) | 胞子発芽率<br>(%)       | 発芽管長<br>( $\mu$ )   | 付着器形成率<br>(%)      |
|-----------|--------------------|---------------------|--------------------|
| 0         | 40.0 <sup>a)</sup> | 373.0 <sup>b)</sup> | 28.3 <sup>c)</sup> |
| 1         | 25.3               | 174.0               | 16.3               |
| 10        | 12.3               | 116.0               | 7.7                |
| 100       | 0.0                | 0.0                 | 0.0                |

<sup>a)</sup> 48時間後の発芽率, <sup>b)</sup> 胞子30個の平均, <sup>c)</sup> 発芽胞子からの付着器の形成率.

は40%発芽し, 付着器も28.3%形成されたのに対し, 1%区でも対照区に比べ発芽率および付着器形成率で40%程度の抑止効果が認められ, また発芽しても発芽管の伸長は著しく阻害された。さらに, その効果は抗菌物質の濃度に比例して高くなり, 原液(100%区)では胞子の発芽は全く認められなかった(表-4)。

#### IV マンゴー葉における感染・発病抑制効果

シャーレ上での対峙培養による拮抗試験の結果, 最も高い拮抗性を示した *P. waksmanii* (T-141 株) を選抜し, マンゴー葉での抑制効果を検討した。

葉に炭疽病菌を単独接種すると約20日後からすべての葉に淡褐色の病斑が生じ, 被害度73と葉の大部分が病斑に覆われた(図-2)。これに対しT-141と炭疽病菌を同時接種すると25, T-141を前処理した後に炭疽病菌を接種すると5と被害度は著しく減少した。また, 通常マンゴー葉面には炭疽病菌が常在しており, 葉に滅菌水を噴霧して24時間程度過湿状態におくと, 外的に炭疽病菌を接種しなくても発病が認められるが, T-141のみを接種すると病斑は全く現れなかった。

#### V マンゴー果実における感染・発病抑止効果

次いで, 中熟程度のマンゴー(アーウィン種)を用いて接種試験を行った。その結果, 炭疽病菌とT-141を同時に接種すると, 2, 3日後から病斑が現れ, 7日後には小黑斑点が融合し, 10日後には果実の大部分が黒色病斑に覆われ抑制効果は認められなかった。しかし, 炭疽病菌を接種する3日前にT-141を前接種しておくと, 最初の病斑は5日頃から現れ, 7日後の被害度が19と病斑は形成されるものの小斑点にとどまり, 10日後でも62と病斑の進展抑制効果が認められた(図-3)。

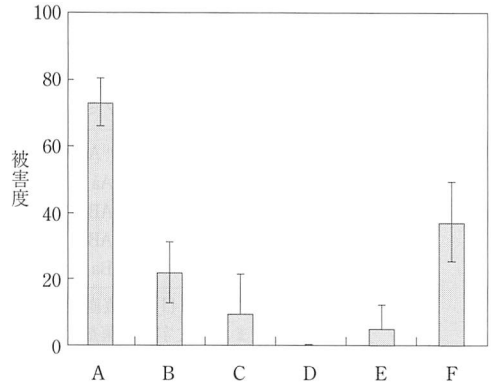


図-2 マンゴー葉上における炭疽病の病勢進展に及ぼす *P. waksmanii* (T-141) の影響

A : 炭疽病菌単独, B : *P. waks.* と炭疽病菌同時接種, C : *P. waks.* 前接種, D : *P. waks.* 単独, E : ベノミル処理, F : 滅菌水散布.

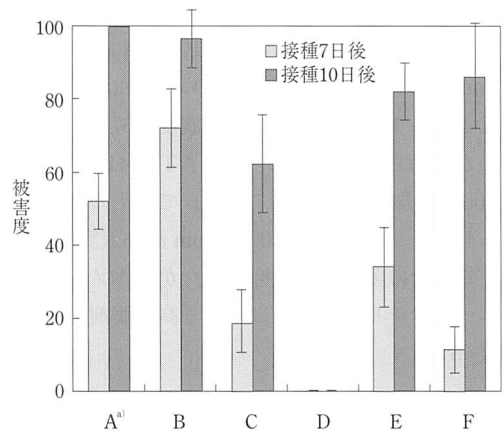


図-3 マンゴー果実上における炭疽病の病徴進展に及ぼす *P. waksmanii* (T-141) の影響

<sup>a)</sup> 処理区は図-2に準じる.

#### VI 大量培養法の検討

重量当たり80%の水を加え殺菌したフスマ, 米ヌカおよびフスマ・米ヌカ混合資材にT-141を接種し10日間培養し, 2日ごとの胞子数を計測した。その結果, 増殖パターンおよび最終的な菌数とも3区でそれほどの差異は認められず, 10日後には $10^9$ レベルまで増加した。

#### VII 化学薬剤との併用の可能性

T-141と各種殺菌剤の併用の可能性を検討した。ベノミル水和剤, キャブタン水和剤, チオファネートメチル水和剤およびマンネブ水和剤の4種の殺菌剤を1から

表-5 *P. waksmanii* (T-141) の菌糸伸長に及ぼす殺菌剤の影響

| 濃度 (ppm) | 殺菌剤                                |            |        |         |
|----------|------------------------------------|------------|--------|---------|
|          | ベノミル                               | チオファネートメチル | キャプタン  | マンネブ    |
| 0        | 6.3 <sup>a)</sup> Aa <sup>b)</sup> | 6.4 Aa     | 6.4 Ab | 6.4 Aa  |
| 0.67     | 6.3 Aa                             | 6.0 Aab    | 5.9 Ab | 5.8 Ab  |
| 6.67     | 6.0 ABa                            | 5.9 BDac   | 5.5 Bb | 5.5 Abc |
| 66.67    | 5.7 ABa                            | 5.7 CDa    | 5.3 Ca | 4.2 Bb  |
| 666.67   | 5.4 Ba                             | 5.6 Ca     | 1.8 Db | 0.0 Bc  |

<sup>a)</sup> 培養 5 日目の菌叢直径の平均, <sup>b)</sup> 大文字はダンカン多重検定法による濃度区間, また小文字は殺菌剤間の有意差を示す。

10,000 ppm までの薬剤希釈液を調整し, その 1 ml を 14 ml の溶解して 45℃ に保った PDA 培地に加えシャーレに流し込み, 冷却後炭疽病菌と T-141 を接種し, 25℃ で培養した。その結果, マンゴー炭疽病菌に対しては各殺菌剤とも施用濃度が高くなるにつれて菌糸伸長抑制効果も高くなった。特にベノミルでは 10 ppm 添加 (実濃度 0.67 ppm) でも高い抑制効果が認められたが, 他の殺菌剤では 100 ~ 1,000 ppm 添加 (実濃度 6.67 ~ 66.7 ppm) で効果が認められた。これに対し, T-141 に対しては, 1,000 ppm 添加 (実濃度 66.7 ppm) で若干の抑制効果が認められた。マンネブは 1,0000 ppm 添加 (実濃度 666.7 ppm) で完全に菌糸伸長を抑制したが, ベノミルとチオファネートメチルに対してはかなり高い薬剤耐性を示した (表-5)。

## お わ り に

近年, 世界的にも拮抗菌を利用した生物的防除法が見直されている。我が国においても, 既に農薬登録された製品が現場で使用されている。2002 年には *Talaromyces flavas* (不完全時代: *Penicillium vermiculum*) を用いた製剤が, バイオトラスト水和剤としてイチゴ炭疽病およ

びうどんこ病の防除に供されている (鳴瀧, 2001)。本研究では, 葉面生息菌の一種と考えられる *P. waksmanii* (T-141) がマンゴー炭疽病菌に対して強い拮抗性を有することが明らかとなった。しかし, 一般に *in vitro* で高い拮抗性が認められた微生物も, *in vivo* さらに圃場レベルでとなると十分な効果を発揮し得ない例が多く, 生物農薬として供されるものはわずかである。その原因には, 微生物の植物への定着能および増殖能が指摘されている。分離・選抜した T-141 は上記の効果を踏まえ, 現在圃場レベルでの炭疽病防除効果を試験中である。

一方, 沖縄県においては従来の *C. gloeosporioides* のほか *C. acutatum* による炭疽病 (田場ら, 2004) やベノミル耐性菌の出現も認められている。これらのことは, 本県には種々の系統の炭疽病菌が存在することを示唆しており, T-141 株がこれらのいずれの系統にも効果があるのか, あるいは限定された系統のみにしか効果がないのか, 今後検討する必要がある。

## 引 用 文 献

- 1) 沖縄県植物防疫協会 (2003): 平成 15 年度主要農作物病害虫防除の手引き, 沖縄県植物防疫協会, p. 336 ~ 338.
- 2) 田場 聡ら (2004): 熱帯農業 48: 57 ~ 61.
- 3) 諸見里善一ら (2003): 同上 47: 34 ~ 41.
- 4) 鳴瀧昭彦 (2001): 農耕と園芸 11 月号: 1 ~ 4.

## ！好評の「ひと目でわかる果樹の病害虫」！

全 3 巻 B5 判

### 第 1 巻

ミカン・ビワ・キウイ (改訂版)

本文 176 頁 カラー写真 562 点以上

定価 4,830 円税込 (本体 4,600 円) 送料 340 円

### 第 2 巻

ナシ・ブドウ・カキ・クリ・イチジク (改訂版)

本文 238 頁 カラー写真 937 点以上

定価 6,720 円税込 (本体 6,400 円) 送料 380 円

### 第 3 巻

リンゴ・マルメロ・カリン・モモ・スモモ・アンズ・プルーン・ウメ・オウトウ・ハスカップ

本文 262 頁 カラー写真 991 点

定価 6,117 円税込 (本体 5,826 円) 送料 340 円