

非病原性細菌を用いた適応病害の多い微生物農薬開発の試み

# モモせん孔細菌病の防除

岡山県農林水産総合センター農業研究所 かわ川 ぐち口 あきら章

## はじめに

モモせん孔細菌病はモモの葉、枝、果実に病斑を形成して被害を起こす細菌性病害である。岡山県は全国5位の696 haの栽培面積（農林水産省大臣官房統計部, 2010）を有するモモ主産県であるが、本病の発生が高品質なモモ生産の障害の一つとなっている。岡山県における本病の防除体系は、開花前と収穫後の銅水和剤の散布、生育期の抗生物質剤およびその他系統の殺菌剤の散布が基本となっている。しかし、耐病性品種や卓効を示す殺菌剤が少ないうえに、殺菌剤の使用時期の制限により収穫期に近づくにつれて使用できない剤が増え、多発生時には薬剤防除だけでは被害を防ぎきれないことがあるなど、防除上多くの問題を抱えており、現在も本病はモモの難防除病害である。

一方、本病の病原細菌は、キサントモナス属細菌である *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, シュードモナス属細菌である *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, エルビニア属細菌である *Erwinia nigrifluence* の3種が日本有用植物病名目録に記載されており、全国的には *X. arboricola* pv. *pruni* が主体で、次いで *P. syringae* pv. *syringae* であり、*E. nigrifluence* はごくまれであるとされている（高梨, 1985）。筆者が岡山県の主要モモ産地における本病原細菌を4年間調査した結果、岡山県においても *X. arboricola* pv. *pruni* が優占種であることが明らかになった（川口, 2012 b ; 2013 ; KAWAGUCHI, 2014）。また、岡山県内に分布している *X. arboricola* pv. *pruni* は遺伝的類似性が高く、一つにまとまった遺伝系統である可能性が示唆された（川口, 2012 b ; 2013 ; KAWAGUCHI, 2014）。

農研機構 中央農業総合研究センターによって発見された非病原性キサントモナス細菌は、植物病原性キサントモナス属細菌に対して防除効果が期待できるという点から、岡山県における本病の防除への応用が期待された。そこで、非病原性キサントモナス属細菌の数種の菌株について、圃場レベルでのせん孔細菌病の防除効果を

検討した。

なお、本研究は農林水産省の農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「主要作物をキサントモナス属病害から守る新規微生物農薬の開発（2011～13年度）」において実施した。また、本稿の一部は既に報告した（KAWAGUCHI et al., 2014）ので、詳細はこれらを参照されたい。

## I 非病原性キサントモナス属細菌による葉の発病抑制効果

### 1 圃場レベルでの防除試験

圃場レベルでの防除試験はすべて岡山県農林水産総合センター農業研究所内の複数のモモ園において実施した。品種は主に‘まさひめ’、‘白鳳’、‘清水白桃’（すべて露地栽培）を供試した。非病原性キサントモナス属細菌の菌株は、AZ98101株、AZ98106株、11-100-01株、11-110-01株の4菌株を供試したが、本報告では主にAZ98101株と11-100-01株の結果を示す。各圃場試験において、モモ樹が小さい場合（10年生未満）には1樹を1処理区として1処理当たり3～5樹を供試し、モモ樹が大きい場合（10年生以上）には、1本の亜主枝を1処理区として1樹内に2～3の処理区と無処理区を配置した樹を3～4樹供試した。また、各非病原性菌株を液体培地で36～48時間培養した後、菌体を回収して  $1 \times 10^8$  cells/ml の濃度に希釈したものを“非病原性菌液”とし、5月下旬～6月下旬の約1か月間に2～4回を等間隔で処理区に十分量（菌液が滴り落ちるまで）散布した。発病を促すため、非病原性菌液を散布した1～2日後に、岡山県の主要モモ産地で分離されたモモせん孔細菌病菌 *X. arboricola* pv. *pruni* の菌液（ $1 \sim 5 \times 10^7$  cells/ml）を樹全体に十分量散布した。調査は7月上旬に行った。その結果、AZ98101株および11-100-01株は、対照薬剤として供試したバリダマイシン液剤と同等以上の防除効果が認められた（表-1, 11-100-01株のデータのみ記載）。また、非病原性キサントモナス属細菌を散布したことによる葉害（モモの生育への影響）は認められなかった。

### 2 メタアナリシスによる複数の防除試験事例の統合評価

一般的に、拮抗微生物を用いた生物防除は化学農薬と

Biological Control of Bacterial Spot on Peach by Nonpathogenic *Xanthomonas* spp. By Akira KAWAGUCHI

（キーワード：モモせん孔細菌病, 非病原性キサントモナス属細菌, *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, 生物防除）

表-1 モモセン孔細菌病に対する 11-100-01 株の葉における発病抑制効果 (品種‘白鳳’)

供試菌株または殺菌剤名	菌濃度または希釈倍率	樹	発病葉数	健全葉数	発病葉割合 (%) <sup>a)</sup>	防除価 <sup>b)</sup>	薬害
非病原性 <i>Xanthomonas</i> sp. 11-100-01 株	菌数 $1 \times 10^8$ cells/ml	I	5	84	5.6	60.3	—
		II	20	82	19.6		
		III	20	93	17.7		
		平均			14.3 a		
バリダマイシン液剤	500 倍	I	18	56	24.3	44.7	—
		II	20	73	21.5		
		III	15	92	14.0		
		平均			19.9 a		
無処理		I	30	62	32.6	36.1 b	—
		II	38	70	35.2		
		III	44	65	40.4		
		平均					

<sup>a)</sup> Ryan 法により, 異英文字間には有意差あり ( $p < 0.05$ ).

<sup>b)</sup> 防除価 =  $100 \times (\text{無処理区の発病葉割合} - \text{処理区の発病葉割合}) / (\text{無処理区の発病葉割合})$ .

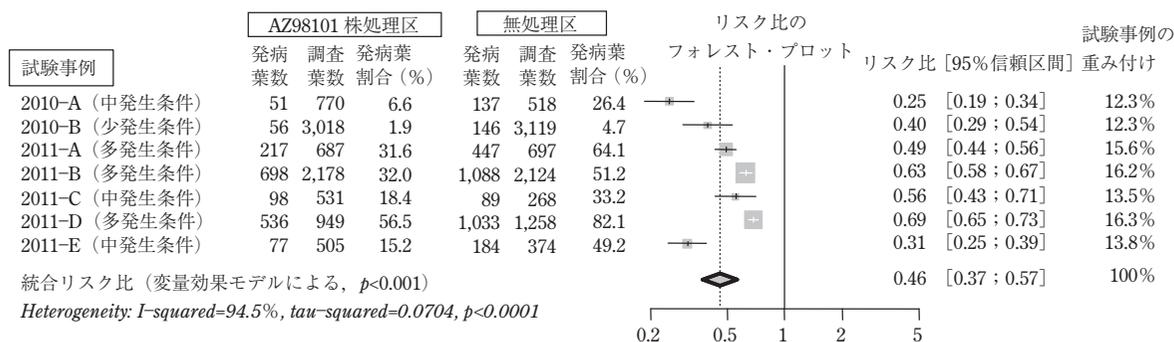


図-1 モモセン孔細菌病の葉の発病に対する非病原性キサントモナス属細菌 AZ98101 株の防除試験事例のメタアナリシス (リスク比の評価)

2010 ~ 11 年に異なる五つの圃場 (A ~ E) で実施した防除試験 7 事例を変量効果モデル統合方法である DerSimonian-Laird method ( $n = 7$ ) で解析し, AZ98101 株処理区と無処理区の発病割合の比をリスク比とした。無処理区に対する統合リスク比は 0.46 ( $p < 0.001$ ) となり, 防除効果が有意に認められた。

比べて防除効果が安定しない場合が多く, 同じ試験条件でも, よく効いた事例もあればあまり効かなかった事例もあり, 多発生条件では効果が著しく低下した事例も見られる。故に, その効果を正確に評価するためには複数の試験事例が必要になる。そこで, AZ98101 株と 11-100-01 株の各試験事例についてメタアナリシスを用いて統合評価した。メタアナリシスは同じ研究デザイン, 研究目的および試験設計で実施された複数の独立した研究事例を統合評価するための統計解析であり, 植物病理学の分野でも用いられている (田代ら, 2008; 田代・井手, 2008; 川口ら, 2010; 川口, 2010; 岩館ら, 2011; 川口, 2012 a; KAWAGUCHI, 2013; KAWAGUCHI et al., 2014)。

メタアナリシスには, AZ98101 株と 11-100-01 株の試験事例をすべて用いた。すなわち, AZ98101 株については 2010 年に 2 事例, 2011 年に 5 事例の計 7 事例, 11-100-01 株は 2012 年に 4 事例, 2013 年に 3 事例の計 7 事例をそれぞれ供試した。メタアナリシスには, 評価の指標として“リスク差”, “リスク比”, “オッズ比”があるが, ここではメタアナリシスでよく用いられる“リスク比 (Risk ratio, 防除効果の比, ここでは発病葉割合の比)”を選択した。リスク比 = (非病原性菌液処理区の発病葉割合) / (無処理区の発病葉割合) で示される。メタアナリシスにはいくつかの計算方法があるが, ここでは変量効果モデル (Random effects model) の一つである Der-

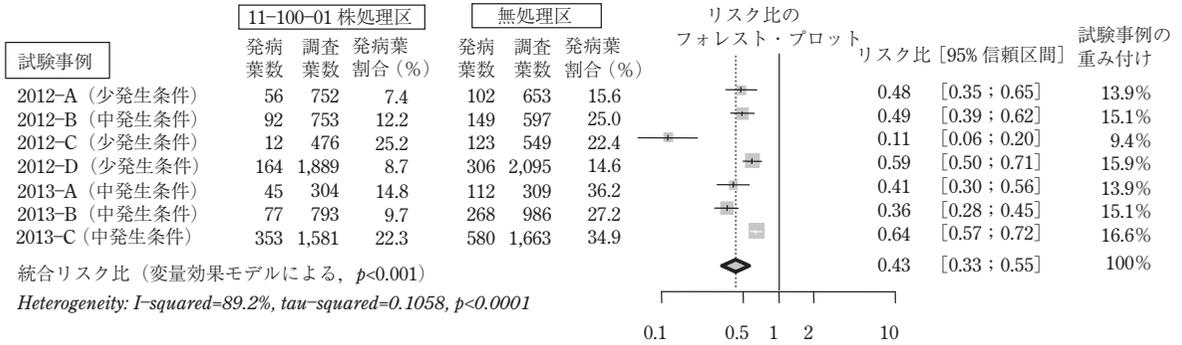


図-2 モモせん孔細菌病の葉の発病に対する非病原性キサントモナス属細菌 11-100-01 株の防除試験事例のメタアナリシス (リスク比の評価)  
 2011 ~ 12 年に異なる四つの圃場 (A ~ D) で実施した防除試験 7 事例を変量効果モデル統合方法である DerSimonian-Laird method ( $n = 7$ ) で解析し, 11-100-01 株処理区と無処理区の発病割合の比をリスク比とした。  
 無処理区に対する統合リスク比は 0.43 ( $p < 0.001$ ) となり, 防除効果が有意に認められた。

表-2 モモせん孔細菌病に対する 11-100-01 株の果実における発病抑制効果 (品種 '清水白桃', 無袋栽培)

供試菌株または殺菌剤名	菌濃度または希釈倍率	区 a)	発病果数	健全果数	発病果割合 (%) <sup>b)</sup>	防除価 <sup>c)</sup>	葉害
非病原性 <i>Xanthomonas</i> sp. 11-100-01 株	菌数 $1 \times 10^8$ cells/ml	I	2	46	4.2	—	
		II	10	198	4.8	—	
		III	32	148	17.8	—	
		平均			8.9 a	48.6	
バリダマイシン液剤	500 倍	I	8	67	10.7	—	
		II	9	205	4.2	—	
		III	38	185	17.0	—	
		平均			10.6 a	38.6	
無処理		I	18	111	14.0	—	
		II	9	91	9.0	—	
		III	29	71	29.0	—	
		平均			17.3 b		

a) 同じローマ数字は同じ樹を示す。1 樹の中で亜主枝ごとに処理区を設定した (ブロック試験)。  
 b) Ryan 法により, 異英文字間には有意差あり ( $p < 0.05$ )。  
 c) 防除価 =  $100 \times (\text{無処理区の発病果割合} - \text{処理区の発病果割合}) / (\text{無処理区の発病果割合})$ 。

Simonian-Laird method を用いた。その結果, AZ98101 株の統合リスク比は 0.46 ( $p < 0.001$ , 95%信頼区間 0.37 ~ 0.57), 11-100-01 株の統合リスク比は 0.43 ( $p < 0.001$ , 95%信頼区間 0.35 ~ 0.55) となり, 両菌株ともほぼ同等の防除効果が認められた (図-1, 2)。また,  $100 \times (1 - \text{リスク比})$  を算出し表-1 に示している防除価に変換すると, AZ98101 株の防除価は 54 (95%信頼区間 43 ~ 63), 11-100-01 株の防除価は 57 (95%信頼区間 45 ~ 65) となるが, メタアナリシスの結果から導かれるこれら防除価の 95%信頼区間に注目すると, それぞれ 20 前後の幅がある。このことは, 今後同じような条件で両菌

株を用いた防除を行う場合, 防除価が 40 ~ 60 台の範囲で変動する可能性が高いことを示している。メタアナリシスはこのように, 防除効果の変動幅を数値化してくれるので, 拮抗菌や非病原性菌を用いた生物防除において, 効果を定量的かつ具体的に評価する方法として極めて有効である。メタアナリシスの計算方法については Kawaguchi et al. (2014) に詳しく記載しているので, 興味を持った方は参照していただきたい。

## II 非病原性キサントモナス属細菌による 果実の発病抑制効果

果実の発病抑制効果についても、圃場試験はすべて農業研究所内のモモ園で行った。品種は‘清水白桃’（露地栽培）を供試した。試験は前述の葉の発病抑制効果試験と同様に行い、発病調査を本県の清水白桃の収穫最盛期である7月下旬に行った。その結果、AZ98101株および11-100-01株は対照薬剤のバリダマイシン液剤と同等以上の防除効果が認められた（表-2、無袋栽培、11-100-01株のデータのみ記載）。試験は無袋栽培と有袋栽培の両方で行ったが、どちらの栽培条件でも防除効果が認められた。非病原性キサントモナス属細菌を散布したことによる葉害は果実においても認められなかった。

### おわりに

本稿では、非病原性キサントモナス属細菌を一般的な殺菌剤と同じようにモモの樹に散布することによって、せん孔細菌病の発病を抑制できることを示した。非病原

性キサントモナス属細菌は本病に対する新しい防除手段として期待できると考えている。本菌株の実用化には、製剤化に伴う技術開発はもちろんのこと、実際に使用する場合には効果的な散布時期を明らかにする必要がある等、まだクリアすべきいくつかの課題が残されている。序論でも述べたように、モモせん孔細菌病はモモ生産上の難防除病害であり、多発生を最も警戒する病害の一つである。今後とも、モモせん孔細菌病に対する新たな防除技術の開発は継続していく必要がある。

### 引用文献

- 1) 岩館康哉ら (2011): 日植病報 **77**: 278 ~ 286.
- 2) 川口 章 (2010): EBC 研究会誌 **7**: 1 ~ 10.
- 3) ———ら (2010): 近中四農研 **18**: 13 ~ 17.
- 4) ——— (2012 a): 植物防疫 **66**: 450 ~ 455.
- 5) ——— (2012 b): 関西病虫研報 **54**: 105 ~ 107.
- 6) ——— (2013): 植物防疫 **67**: 266 ~ 269.
- 7) KAWAGUCHI, A. (2013): Microbe Environ. **28**: 306 ~ 311.
- 8) ——— et al., (2014): J. Gen. Plant Pathol. **80**: 158 ~ 163.
- 9) ——— (2014): *ibid.* **80**. (in press)
- 10) 農林水産省大臣官房統計部 (2010): 農林水産統計, 平成 22 年果樹及び茶栽培面積, 農林水産省, 東京, p. 4 ~ 5.
- 11) 高梨和雄 (1985): 日植病報 **39**: 57 ~ 60.
- 12) 田代暢哉ら (2008): 日植病報 **74**: 89 ~ 96.
- 13) ———・井手洋一 (2008): 同上 **74**: 297 ~ 303.