

未硬化葉を用いたマンゴー炭疽病の簡易病原性検定法と マンゴー遺伝資源における抵抗性品種の選抜

澤岬 哲也^{1*}・與儀喜代政¹・仲村 昌剛²・松村まさと³

ABSTRACT

TAKUSHI, T.^{1*}, YOGI, K.¹, NAKAMURA, M.² and MATSUMURA, M.³ (2019). Simple evaluation method for testing mango anthracnose virulence using uncured mango leaves and for screening anthracnose-resistant genetic resources of mango (*Mangifera indica* L.). Jpn. J. Phytopathol. 85: 345–352.

The main mango cultivar grown in Japan, cv. Irwin, is susceptible to *Colletotrichum* species that cause mango anthracnose and requires the application of fungicides several times a year before harvest. Increased consumer demand for safe, secure foodstuffs and the desire to reduce labor and costs are driving the development of mango cultivars with strong resistance to anthracnose. Therefore, in this study, we developed a simple, accurate method to evaluate the susceptibility of mango cultivars to anthracnose to identify anthracnose-resistant breeding stock. For 27 mango cultivars, uncured leaves that had chlorophyll SPAD values of 9.5–24.3 were inoculated with conidial suspensions of *C. asianum* (Nga-05) containing a minimum of 10⁴ conidia/ml and incubated at 25° to 30°C for 5 days in the dark to promote lesion formation. Disease severity on each of the 27 cultivars was positively correlated with disease severity on inoculated fruits. Cv. Golden Nugget was identified as the most resistant to mango anthracnose. Based on these findings, we concluded that the developed method can be used to efficiently evaluate disease resistance and to identify disease-resistant varieties from genetic resources of mango and mango hybrid progeny.

(Received April 10, 2019; Accepted June 28, 2019)

Key words: anthracnose, mango, resistant cultivar, uncured leaves, virulence

緒 言

我が国のマンゴー栽培における主要品種の‘アーウィン’は、マンゴー炭疽病への感受性が高く (Nishijima, 1993), 出荷後の輸送過程で果皮に黒色斑点が生じ、品質低下がしばしば問題となる (澤岬ら, 2012). 本病は *Colletotrichum gloeosporioides* 種複合体 (Weir *et al.*, 2012) および *C. acutatum* 種複合体 (Damm *et al.*, 2012) に属する複数の *Colletotrichum* 属菌によって引き起こされ (澤岬ら, 2015; 安次富ら, 2017), ハウス内でのこれら病原菌は、外観上健全な頂芽 (沖縄県で1月), 花芽 (2月), 花序 (3月) および幼果 (4月) で既に潜在感染し、感染後は開花、結実、果実肥大から収

穫に至る過程において長期間、植物組織内で潜伏しながら、収穫後の完熟果の果皮上で病斑を形成する (澤岬ら, 2013). 現在、本病の防除対策として果実の収穫までに年数回の薬剤体系散布が行われており (澤岬ら, 2018), 一定の効果は認められるものの、多くの労力・費用を必要とし、生産面での負担が大きい. さらに、近年の安心・安全な食料要求の高まりから、殺菌剤の使用量低減を望む消費者の声も強い. こうした背景から、炭疽病に強い抵抗性品種の開発は重要である. 一方、沖縄県農業研究センター名護支所ではマンゴー新品種の育種研究を進めているが、これまでに本病に対する抵抗性を評価した事例はなく、育種現場で活用できる抵抗性の検定方法は未確立である. 海外では

¹ 沖縄県農業研究センター (〒 901-0336 沖縄県糸満市真壁 820) Okinawa Prefectural Agricultural Research Center, 820 Makabe, Itoman, Okinawa 901-0336, Japan

² 沖縄県農林水産部園芸振興課 (〒 900-8570 沖縄県那覇市泉崎 1-2-2) Department of Agriculture, Forestry and Fisheries, Horticulture Promotion Division, 1-2-2 Izumizaki, Naha, Okinawa 900-8570, Japan

³ 沖縄県農業研究センター名護支所 (〒 905-0012 沖縄県名護市名護 4605-3) Okinawa Prefectural Agricultural Research Center Nago Branch, 4605-3 Nago, Nago, Okinawa 905-0012, Japan

* Corresponding author (E-mail: takusht@pref.okinawa.lg.jp)

一般的に自然発病条件下での果実による抵抗性の評価が行われているが (Bhagwat *et al.*, 2015; Gupta *et al.*, 2017), 年次間の圃場の環境条件に結果が左右されることから, 正確に抵抗性を判定するのが難しい場合が多い. また, 実際の育種作業では多数の個体を扱うため, より早い生育段階での評価が求められるが, 果実での評価は実生から収穫までに 4~5 年以上の時間を要するため作業効率が悪い. そのため, 遺伝資源や雑種後代の中から効率よく短期間で本病に強い品種・系統を評価・選抜するためには, 簡易で安定的に抵抗性を検定できる方法を確認する必要がある. そこで, 本研究ではマンゴー未硬化葉を活用した本病の病原性検定法を開発するとともに, 本検定法を用いた名護支所保存のマンゴー遺伝資源 29 品種の炭疽病抵抗性を評価し, 同病害に強い育種素材の選抜を行ったので, その結果を報告する.

材料および方法

1. 未硬化葉を用いた簡易病原性検定法の検討

(1) 接種源 供試菌株は 2016 年 4 月に名護支所内の露地マンゴー (品種: ‘アーウィン’) の罹病葉より単孢子分離で得られた *Colletotrichum asianum* Prihastuti, L. Cai & K.D. Hyde (Nga-02, 04 および 05 株) の計 3 菌株を用いた. 本種は近年のマンゴー炭疽病菌の再分類により明らかにされた *C. gloeosporioides* 種複合体 6 種の中で果実に最も病原力が強い菌種である (安次富ら, 2017). 分生子懸濁液は以下のとおりに作成した. 供試菌株を PDA 平板培地に明条件下, 25°C で 10 日間培養して菌叢上に分生子塊を形成させ, 滅菌した柄付き針で培地上の分生子塊をかき取り, 2 ml 滅菌水の入ったマイクロチューブ内で分生子塊を懸濁させた. その後, トーマ血球計算盤 (A106: Thoma) にて懸濁液の分生子濃度を調整して, 各試験に供試した.

(2) 葉緑素含量値 (SPAD 値) の測定 名護支所内の施設マンゴー (品種: ‘アーウィン’) の成木 (樹齢 10 年生) より, 未硬化葉 (茶褐色または赤褐色の柔らかい葉), 若葉 (硬化しているが葉色が淡緑色の葉) および成葉 (硬化して葉色が濃緑色の葉) の 3 パターンの葉 (第 1 図) をそれぞれ 75~98 枚採集した. 葉緑素含量値の計測は葉緑素計 (SPAD-502Plus: KONICA MINOLTA) を用いて行い, 1 葉につき 3 カ所の平均値を測定した.

(3) 葉への接種法 採集したマンゴー葉を水道水で軽く洗浄し, 7×5 cm 程度の大きさに切り取り, 70%エタノールで 20 秒間浸漬した後, 滅菌水で洗浄し, 室内にて 1 時間程度風乾させた. その後, 湿らせたろ紙を敷いた 9 cm シャーレ内に葉を収め, 葉表 3 カ所に供試菌株の分生子懸濁液 (10⁵ 個/ml) を 25 μ l ずつ滴下した. なお, 接種は無傷で行った.



第 1 図 各葉齢のマンゴー葉 (品種: ‘アーウィン’) 左: 未硬化葉, 中: 若葉, 右: 成葉, 数字は各葉の SPAD 値の平均値を示す.

接種葉は 25°C 暗条件下の恒温培養器内で 5 日間培養し, 接種箇所に形成された黒色病斑の直径 (長径および短径の平均) を測定した. 対照区として蒸留水を同様に処理した.

(4) 葉齢の影響 名護支所内の施設マンゴー (品種: ‘アーウィン’) の成木 (樹齢 10 年生) より未硬化葉, 若葉および成葉の 3 パターンの葉を採集し, 供試 3 菌株の分生子懸濁液 (5.6×10⁵ 個/ml) を上記と同様な方法で接種し, 病斑の直径を測定した. なお, 採集した葉のそれぞれの SPAD 値を測定したところ, 未硬化葉は 15.3~21.2, 若葉は 32.3~40.4 および成葉は 53.9~59.7 の範囲であった. 試験は各葉につき 5 反復で行った.

(5) 分生子濃度の影響 上記試験で他の菌株と同等の病原性を認めた供試菌株 (Nga-05 株) の分生子懸濁液を 7 段階の濃度 (1×10⁰~10⁶ 個/ml) で調整して作成した. 名護支所内の施設マンゴー (品種: ‘アーウィン’) の成木 (樹齢 10 年生) より採集した未硬化葉 (SPAD 値: 14.3~22.8) に各濃度の分生子懸濁液を上記と同様な方法で接種し, 病斑の直径を測定した. 試験は各濃度につき 9 反復で行った.

(6) 培養温度の影響 供試菌株 (Nga-05 株) の分生子懸濁液 (6.5×10^5 個/ml) を、名護支所内の施設マンゴー (品種: ‘アーウィン’) の成木 (樹齢 10 年生) より採集した未硬化葉 (SPAD 値: 11.8~19.0) に上記と同様な方法で接種し、15~40°C (5°C 間隔) の 6 段階の温度に調整した恒温培養器内でそれぞれ培養し、5 日後の病斑の直径を測定した。試験は各温度区につき 9 反復で行った。

2. 簡易病原性検定法による炭疽病抵抗性品種の選抜

(1) 葉検定法 2016 年 6~10 月にかけて、名護支所内の施設に保存している海外から導入されたマンゴー遺伝資源 (28 品種, 第 1 表) の各成木 (樹齢 15 年生) より未硬化葉 (SPAD 値: 8.7~23.3) を採集し、上記と同様な方法で供試菌株 (Nga-05 株) の分生子懸濁液 (6.5×10^5 個/ml) を接種し、病斑の直径を測定した。試験は各品種ともに 3 反復で行った。発病度は以下の基準に従って算出した。指数 0: 病斑なし, 指数 1: 病斑の直径が 1.5 cm 以下, 指数 2: 病斑の直径が 1.6~2.4 cm, 指数 3: 病斑の直径が 2.5 cm 以上, 発病度 = $\{\sum(\text{指数別病斑数} \times \text{指数}) \div (3 \times \text{調査病斑数})\} \times 100$ 。また、各品種の抵抗性の程度は、葉検定法では病斑の直径 (cm) と発病度、果実接種では発病指数と発病度の値をもとにソフトウェア (エクセル統計: BellCurve) を用いてユーグリット平方距離を求め、群平均法による階層的クラスター分析を行い、その結果から、抵抗性・強 (R), 抵抗性・中 (MR), 抵抗性・弱 (S) および抵抗性・極弱 (HS) の 4 グループに分類して評価した。

(2) 果実への接種法 2016 および 2017 年の 6~9 月にかけて、名護支所内の施設に保存しているマンゴー遺伝資源 (28 品種, 第 1 表) の各成木 (樹齢 15 年生) より収穫適期の果実 (果皮色が黄色や赤色に鮮明に発色し始め、触手で果肉の軟化が確認されたもの、または離層形成後に袋内で自然落果したもの) を収穫した。果実を 70% エタノールに 20 秒間浸漬した後、滅菌水で洗浄し、室内で風乾させた。その後、上記の方法で作成した供試菌株 (Nga-05 株) の分生子懸濁液 (2.4×10^5 個/ml) を 1 果につき約 2.3 ml ずつ果実全体に噴霧接種した。なお、1 品種につき 5~21 個の果実を使用した。接種果実は加湿した密閉容器内で概ね 27°C の室温下にて 48 時間保存し、その後容器から取り出して室内で追熟させた。収穫から保存 10 日後の発病果数と発病度を調査した。発病度は以下の澤嵜ら (2018) の基準に従って算出した。指数 0: 発病なし, 指数 1: 2 mm 以下の病斑が 2 個以下, 指数 2: 2 mm 以下の病斑が 3~6 個また 2~5 mm の病斑が 1 個, 指数 3: 直径 5 mm 以上の病斑が 1 個以上または指数 2 以上, 発病度 = $\{\sum(\text{指数別発病果数} \times \text{指数}) \div (3 \times \text{調査果数})\} \times 100$ 。また、各品種の抵抗性の程度は、

上記の葉検定法と同様に群平均法を用いた階層的クラスター分析により、4 グループに分類して評価した。

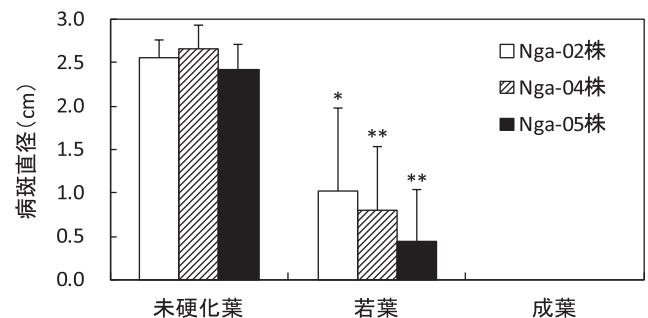
結 果

未硬化葉を用いた簡易病原性検定法の検討

マンゴーの各葉齢における SPAD 値は、未硬化葉 ($n=98$) が 9.5~24.3 で平均値は 17.1 ($SD \pm 2.5$)、若葉 ($n=75$) は 23.8~42.8 で平均値は 34.3 ($SD \pm 3.9$)、成葉 ($n=75$) は 44.5~66.0 で平均値は 55.2 ($SD \pm 4.4$) であり、未硬化葉の値は他の葉齢の葉と比べて有意に低かった ($p < 0.01$, Tukey-Kramer 法)。未硬化葉では病斑の直径が平均 2.4~2.7 cm と若葉と比べて有意に大きく ($p < 0.05$)、安定した病斑の形成を示した。一方、若葉の病斑の直径は平均 0.4~1 cm と有意に小さく、偏差も大きく病斑の形成は不安定であった。成葉では病斑の形成は全くみられなかった。また、3 菌株間に病原力の違いは認められなかった (第 2 図)。分生子濃度の影響では、 10^4 個/ml 以上で病斑の直径は平均 2.5 cm と有意に大きく ($p < 0.01$, Tukey-Kramer 法)、安定した病斑の形成を示した。一方、 10^3 個/ml 以下で病斑の直径は平均 1.2 cm 以下と有意に小さく ($p < 0.01$)、偏差も大きく病斑の形成は不安定であった (第 3 図)。培養温度の影響では、25~30°C の範囲で病斑の直径は平均 2.4~2.8 cm と最も大きくなった。一方、20°C 以下および 35°C 以上では、病斑の直径は平均 1.4 cm 以下と有意に小さくなり ($p < 0.01$)、40°C では病斑の形成は全くみられなかった (第 4 図)。

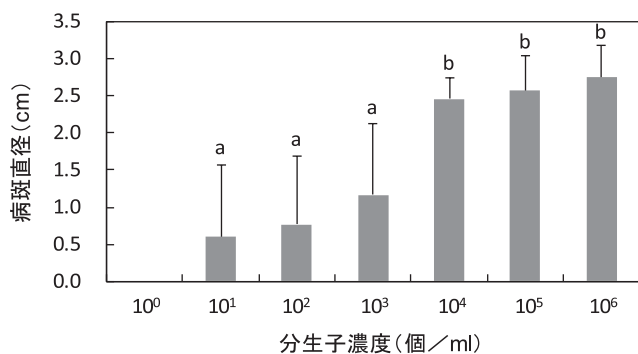
簡易病原性検定法による炭疽病抵抗性品種の選抜

未硬化葉への菌接種による簡易病原性検定法 (以下、葉検定法) では、群平均法によるクラスター分析の結果、分類距離を 18.5 で括ると 4 つの抵抗性程度のグループに類別され、炭疽病に対し ‘アーウィン’ を含む 28 品種中 11 品種が病斑の直径 2.5~3.1 cm (平均)、発病度 88.9~100 の範

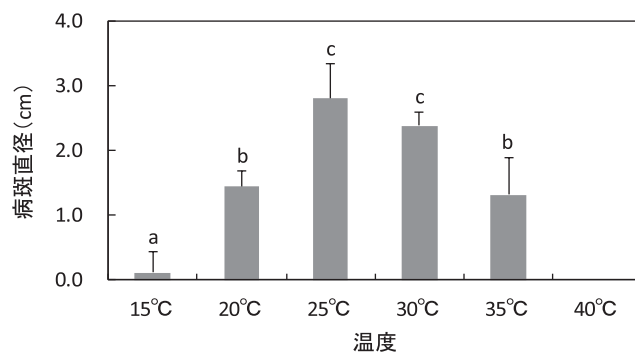


第 2 図 マンゴー葉の葉齢の違いが炭疽病の病斑の形成に及ぼす影響

アスタリスクは葉齢間における有意差を示す。若葉の値は未硬化葉に比べ有意に低い (Welch's t test, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$)。エラーバーは標準偏差を示す。



第3図 炭疽病菌の分生子濃度の違いが病斑の形成に及ぼす影響
アルファベットが異なれば濃度間で有意差あり (Tukey-Kramer 法, $p < 0.01$). エラーバーは標準偏差を示す.



第4図 培養温度の違いが炭疽病の病斑の形成に及ぼす影響
アルファベットが異なれば温度間で有意差あり (Tukey-Kramer 法, $p < 0.01$). エラーバーは標準偏差を示す.

第1表 葉検定法および果実接種によるマンゴー炭疽病抵抗性の品種間差異

品種	葉検定法			果実接種		
	病斑直径 (cm)	発病度	抵抗性の程度	発病指数	発病度	抵抗性の程度
アーウィン	3.0 ¹⁾	92.6	HS ²⁾	2.8 ¹⁾	94.9	HS ²⁾
紅龍	2.4	81.5	S	3.0	100.0	HS
バレンシアプライド	2.4	77.8	S	3.0	100.0	HS
エドワード	3.0	100.0	HS	3.0	100.0	HS
グレン	2.7	96.3	HS	3.0	100.0	HS
ターペンティン	2.4	81.5	S	3.0	100.0	HS
ヘーデン	3.0	100.0	HS	3.0	100.0	HS
スピリット of '76	2.7	100.0	HS	—	—	—
金煌	2.6	88.9	HS	3.0	100.0	HS
クシュマン	2.5	92.6	HS	3.0	100.0	HS
リリー	2.3	81.5	S	2.9	96.3	HS
マヤ	2.5	81.5	S	2.8	94.4	HS
スプリングフェルズ	2.8	88.9	HS	3.0	100.0	HS
ゴールデンリペンス	2.5	88.9	HS	2.8	92.2	HS
紅キーツ	2.6	88.9	HS	2.5	83.3	S
ナムドクマイ	—	—	—	2.5	83.3	S
台農1号	2.2	74.1	S	2.5	81.8	S
リペンス	2.5	81.5	S	2.5	81.8	S
フクダ	2.3	74.1	S	2.4	79.2	S
キーツ	2.3	77.8	S	2.4	79.2	S
ベッキー	2.5	85.2	S	2.3	77.8	S
バンダイク	3.1	100.0	HS	2.3	75.0	S
パール	2.4	81.5	S	2.2	73.3	S
ドット	2.4	81.5	S	2.1	71.4	S
カットトラング	1.4	40.7	R	2.6	85.7	S
バルビン	1.7	55.6	MR	1.8	60.0	MR
オースティン	2.1	66.7	MR	1.2	40.7	R
フェアチャイルド	2.0	66.7	MR	1.0	31.7	R
ゴールデンナゲット	1.1	33.3	R	0.7	22.2	R

1) 平均値を示す.

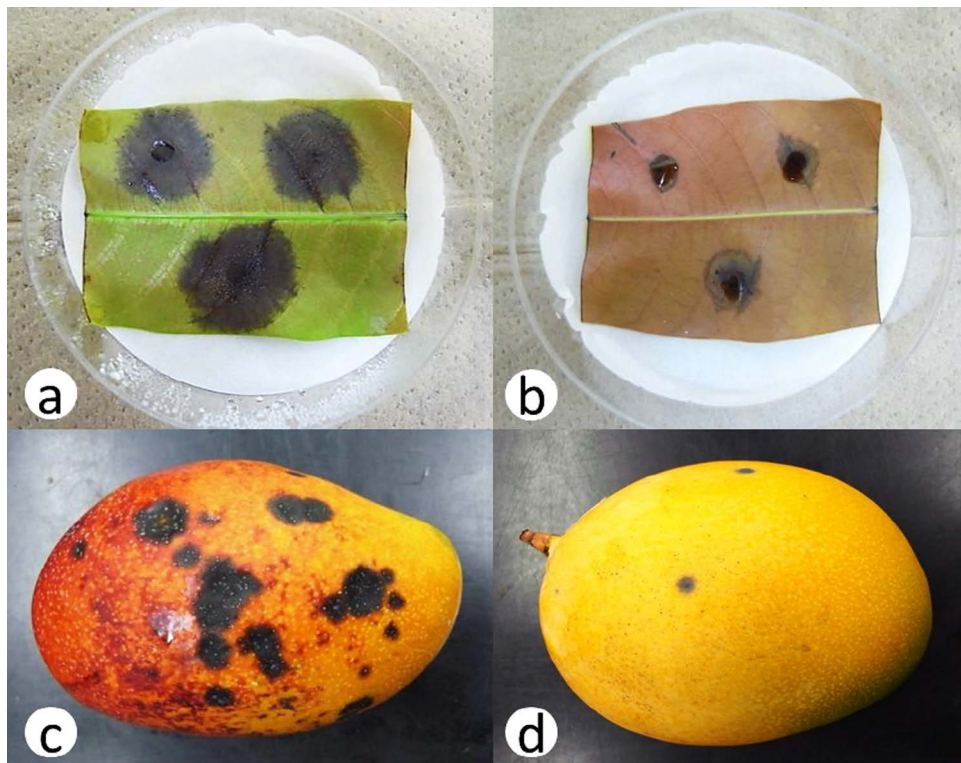
2) クラスター分析 (群平均法) により, 次の4グループに分類した. HS: 抵抗性・極弱, S: 抵抗性・弱, MR: 抵抗性・中, R: 抵抗性・強, —: データなし

囲で抵抗性・極弱 (HS), 12 品種が病斑の直径 2.2~2.5 cm (平均), 発病度 74.1~85.2 の範囲で抵抗性・弱 (S), 3 品種が病斑の直径 1.7~2.1 cm (平均), 発病度 55.6~66.7 の範囲で抵抗性・中 (MR), 2 品種が病斑の直径 1.1~1.4 cm (平均), 発病度 33.3~40.7 で抵抗性・強 (R) であった. 抵抗性・強の品種は‘ゴールデンナゲット’および‘カットトラング’であった (第 1 表, 第 5 図). 果実への菌接種による検定 (以下, 果実接種) では, クラスター分析により分類距離を 14.4 で括ると葉検定法と同様に 4 グループの抵抗性程度に類別され, 炭疽病に対し‘アーウィン’を含む 28 品種中 13 品種が発病指数 2.8~3.0 (平均), 発病度 92.2~100 の範囲で抵抗性・極弱 (HS), 11 品種が発病指数 2.1~2.6 (平均), 発病度 71.4~85.7 の範囲で抵抗性・弱 (S), 1 品種が発病指数 1.8 (平均), 発病度 60 で抵抗性・中 (MR), 3 品種が発病指数 0.7~1.2 (平均), 発病度 22.2~40.7 の範囲で抵抗性・強 (R) であった. 抵抗性・強の品種は‘オースティン’, ‘フェアチャイルド’および‘ゴールデンナゲット’であった (第 1 表, 第 5 図). 葉検定法と果実接種の両検定法で抵抗性・強 (R) と評価されたのは, ‘ゴールデンナゲット’のみであった. 一方, ‘カットトラング’は両検定法による抵抗性の評価が逆転し, 一致しなかった (第 1 表). また, 供試 27 品種の葉検定法による発病度と果実接種による発病度との間

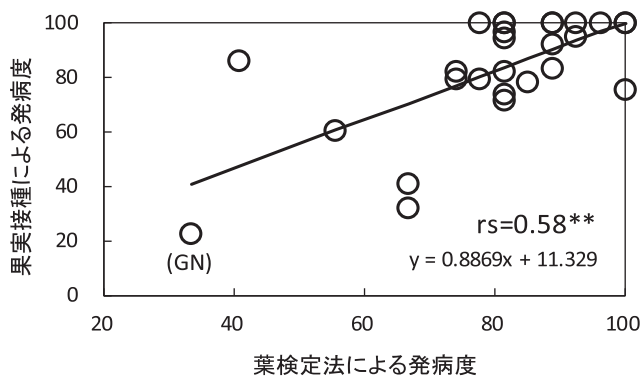
に, 正の相関関係 (スピアマンの順位相関係数: $rs=0.58$, $p<0.01$) が認められた (第 6 図).

考 察

本研究では, マンゴー炭疽病の抵抗性育種の研究で活用できる簡易で安定的な病原性検定法の開発とその適正な検定条件を明らかにし, マンゴー遺伝資源 29 品種を供試して葉検定法による評価と果実接種による発病程度との関係を比較しながら, その有効性について検討した. その結果, マンゴー未硬化葉 (SPAD 値: 9.5~24.3) を接種葉とし, 接種時の分生子濃度を 10^4 個/ml 以上, 培養温度を 25~30°C に設定して, 暗条件下で 5 日間培養することで安定して病原性を評価できることが明らかになった. 宿主の葉齢については, 未硬化葉, 若葉および成葉の各葉齢間で SPAD 値に明瞭な差が認められ, 生育が進むほど葉内のクロロフィル濃度が増加することが確認された. これまで現地での葉齢の区別は, 葉の触感と葉色で判断したが, 採集者によってバラツキが大きく, 検定に適する葉の基準を統一するのが難しかった. しかし, 本研究の結果から, 葉緑素計を用いることで容易に葉齢を判別して未硬化葉を採集できると考えられる. また, 多くの植物で葉齢が進むほど病害に対する抵抗性が増大する事例が報告されており (Roumen *et*



第 5 図 葉検定法および果実接種によるマンゴー炭疽病の発病状況
a, c: ‘アーウィン’, b, d: ‘ゴールデンナゲット’, 葉: 接種後 5 日目, 果実: 接種後 10 日目.



第 6 図 マンゴー品種における炭疽病菌の果実接種による発病度と葉検定法による発病度との相関
両接種法のデータがそろった 27 品種での解析結果を示す。図中の○は実測値、(GN)は「ゴールデンナゲット」の値を示す。rs はスピアマンの順位相関係数を示し、** は 1%水準で有意であることを示す。

al., 1992; Turechek and Stevenson, 1998), 本研究においても硬化した若葉と比べて未硬化葉で炭疽病の病斑が安定して大きくなり、葉齢により病斑の拡大に差があることが示された。これまでにブドウべと病では、ブドウ成葉と比べて若葉で旺盛に病斑を形成し、成葉内にはファイトアレキシンとなる過酸化水素や抗菌性のフェノール成分が若葉よりも多く蓄積することが報告されている (Steimetz et al., 2012)。マンゴー葉でも同様に葉齢によって表皮細胞の物理的強度の違いや葉内の抗菌成分の変化が関連している可能性がある。葉齢については、菌株間の病原力の違いを確認するために同一種で分離源が異なる *C. asianum* の 3 菌株を供試菌株として接種に用いたが、いずれの葉齢でも菌株間で病原力に差は認められなかった。分生子濃度については、一般に地上部病害の接種時の場合、例えばイチゴ葉に対する炭疽病菌の接種では $10^4 \sim 5$ 個/ml に調整して行うが (大畑, 1995)、マンゴー未硬化葉においても同様に 10^4 個/ml 以上の分生子濃度で安定した病斑の形成が認められた。一方、 10^3 個/ml 以下の低濃度の分生子懸濁液で接種を行うと、安定した病斑の形成は得られなかったことから、未硬化葉を用いた病原性検定では 10^4 個/ml 以上の高濃度の分生子が必要になると考えられる。温度については、 $15 \sim 25^\circ\text{C}$ の範囲では温度の上昇とともに未硬化葉上の病斑の直径も有意に大きくなり、 35°C 以上では高温により逆に小さくなることから、発病適温は $25 \sim 30^\circ\text{C}$ の範囲であると考えられた。接種に用いた *C. asianum* の生育適温は 28°C であり (Prihastuti et al., 2009)、未硬化葉上の発病適温 ($25 \sim 30^\circ\text{C}$) と生育適温が概ね一致することが確認された。以上のことから、葉検定法の最適な検定条件 (分生子濃度: 10^4 個/ml 以上、培

養温度: $25 \sim 30^\circ\text{C}$) は、マンゴーにおいて高度な抵抗性を有する育種素材だけを選抜したい時や抵抗性の有無を早期に判断したい場合には、効率的な条件であると考えられた。

マンゴー遺伝資源 27 品種について、未硬化葉を用いた葉検定法による発病度と果実接種による発病度を比較すると、両接種法による発病程度間に正の相関関係 (スピアマンの順位相関係数: $rs = 0.58$, $p < 0.01$) が認められ、葉検定法によりマンゴー炭疽病抵抗性の品種間差異を判定できることが示された。これまでに、イネいもち病では一部の品種・系統を除き、葉いもちと穂いもちの発病程度には高い相関があり、葉いもちの検定によって穂いもちの圃場抵抗性が推定できる事例が報告されているが (浅賀, 1981)、一般に異なる植物部位間で病害抵抗性に相関を示す報告は少なく、本研究では相関係数は高い値ではないが、マンゴーの葉と果実で抵抗性程度に相関が認められたのは初めての事例である。本法を用いることで、年次間の圃場環境に左右されることなく、抵抗性が判定できるだけでなく、マンゴー幼苗時の未硬化葉での評価が可能となり、遺伝資源や雑種後代の中から抵抗性を持つ多数の個体を効率よく短期間で評価・選抜できる。育種現場では実生段階での 1 次選抜で本法による評価を行い、2 次選抜から系適試験にかけては果実接種による評価を併用する 2 段階評価を行うことで、効率的に精度の高い抵抗性個体の選抜が可能になると考えられる。以上のことから、本検定法が育種現場で活用できるマンゴー炭疽病の病原性検定法として有効であると判断した。しかし、沖縄県におけるマンゴー育種では、供試したほとんどの品種で過去に炭疽病に対する圃場抵抗性を調べた事例はなく、本研究では品種間の抵抗性を裏付けるための葉検定法の結果と実際の圃場抵抗性との相関を検証することができなかった。これまでに、ブドウ炭疽病抵抗性を評価するための葉を用いた室内検定の結果が、圃場での葉の発病程度と高い相関 (相関係数: $0.71 \sim 0.72$) を示すことが報告されており (Poolsawat et al., 2012)、マンゴーにおいても今後は各品種の圃場抵抗性についてデータを蓄積し、葉検定法による結果との相関に基づいた評価を行う必要がある。また、果実接種による評価と葉検定法による評価が必ずしも一致しない品種 (‘カットトラング’) も確認されており、これは未硬化葉と果実で病原菌の接種方法が異なることや植物から切り離れた未硬化葉の生理状態が、保存時間の経過とともに完熟に向かって常に熟度が変化する果実とは異なることから、抵抗性の判定結果に違いが生じる場合もあると考えられる。これらの品種については、今後サンプル数を増やして再度、抵抗性を検証するとともに、圃場抵抗性の結果とも併せて比較する必要がある。

今回供試した 29 品種の抵抗性評価では、‘ゴールデンナゲット’が炭疽病に最も強い抵抗性品種であると判定された。本品種はフロリダで育成され、果実重が約 420 g、果皮色は黄橙で糖度は約 17°Bx、酸度は約 0.3% の特性を有しており（国際農林水産業研究センター, 2017）、本品種の炭疽病抵抗性を明らかにしたのは本研究が初めてである。本品種の食味はテルペン臭が強く、クセがあるため、一般向けの品種としてそのまま利用するにはやや問題があるが、炭疽病抵抗性を有する品種開発のための育種素材として今後、有望であると考えられる。一方、本研究で抵抗性・極弱（HS）または弱（S）と判定された多くの品種は圃場で炭疽病に罹病しやすい品種であり、主に沖縄県で栽培される‘アーウィン’、‘キーツ’、‘リペンス’および‘バレンシアプライド’の 4 品種はいずれも罹病性であることが確認された。これらの品種を育種素材として利用する場合は‘ゴールデンナゲット’のような抵抗性を持つ品種との交配を考慮する必要がある。また、Hassan *et al.* (2007) が行ったマンゴー炭疽病の発病機構に関する研究では、マンゴー未熟果皮にはフェノール類の抗菌成分であるレゾルシノールが含まれており、本病に比較的強い抵抗性を有する品種（‘ケンジントンプライド’）の果皮には、弱い品種（‘ケント’および‘ナムドクマイ’）と比べて本成分がより多く含まれていること、未熟果ではレゾルシノールによって病徴の発現が抑制され、収穫後の追熟の進行とともに本成分が減少することによって、完熟果実で病徴が発現することが明らかになっている。本研究で強い抵抗性が判明した‘ゴールデンナゲット’についても、今後は果皮や未硬化葉にレゾルシノールが多く含まれているか検証するとともに、その他の供試品種についても抗菌成分の検出と成分含量の比較を検討する必要がある。

我が国では *C. gloeosporioides* 種複合体のうちマンゴー炭疽病の病原菌として *C. aenigma*, *C. asianum*, *C. fructicola*, *C. gloeosporioides sensu strict*, *C. siamense* および *C. tropicale* の 6 種が明らかにされており（安次富ら, 2017）、それぞれの種の全国的な分布や種構成は不明であるが、本研究ではこの中で果実に最も強い病原性を有する *C. asianum* を代表の供試菌株として使用した。しかし、これまでにイチゴ品種において *C. gloeosporioides* 種複合体の構成種によって異なる抵抗性程度を示す品種（‘恋みのり’）も確認されている（遠藤, 2018）。このことから、マンゴーにおいても特に抵抗性が明らかになった‘ゴールデンナゲット’については菌種別での炭疽病抵抗性の検討も必要である。また、今後はこのような多様な病原菌の種複合体に対して安定的な抵抗性を有する品種を開発するために、抵抗性についてさらなる

知見を集積するとともに、迅速な抵抗性品種の選抜を可能にする遺伝子マーカーの開発や適正な病原性検定のための接種用菌株の選定なども行う必要があると考えられる。

摘 要

我が国のマンゴーの主要品種‘アーウィン’は炭疽病に弱いため、収穫までに年数回の薬剤防除が行われるが、労力・コストの負担軽減と安心・安全な食料要求の高まりから、炭疽病に強い抵抗性品種の開発が求められている。そこで、本研究では簡易で正確な本病の病原性検定法を確立し、本検定法を用いたマンゴー遺伝資源の炭疽病抵抗性を評価し、本病に強い育種素材の選抜を行った。その結果、マンゴー未硬化葉（SPAD 値：9.5～24.3）を接種葉とし、病原菌接種時の分生子濃度は 10^4 個/ml 以上、培養温度を 25～30°C に設定して、暗条件下で 5 日間培養することで、安定した病斑の形成を示した。そこで、遺伝資源 27 品種について本検定法と果実接種による評価を比較した結果、両接種間の発病度に正の相関が認められ、本病に強い抵抗性品種として‘ゴールデンナゲット’が明らかになった。以上より、本検定法を用いることでマンゴーの遺伝資源や雑種後代の中から効率よく炭疽病抵抗性を評価・選抜できると考えられる。

謝 辞

本研究を行うにあたり、沖縄県農業研究センター石垣支所の安次富厚氏には供試菌株の同定で多大なご協力を頂いた。ここに記して感謝の意を表する。本研究は沖縄県科学技術振興費「沖縄県産業振興重点研究推進事業」の一環として行われたものである。

引用文献

- 安次富厚・澤岨哲也・大城 篤・山城麻希・佐藤豊三 (2017). マンゴー炭疽病を引き起こす *Colletotrichum gloeosporioides* 種複合体の再同定. 日植病報 83: 81. (講要)
- 浅賀宏一 (1981). イネ品種のいもち病に対する圃場抵抗性の検定方法に関する研究. 農事試験場研究報告 35: 51–138.
- Bhagwat, R.G., Mehta, B.P., Patil, V.A. and Sharma, H. (2015). Screening of cultivars/varieties against mango anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Int. J. Env. Agri. Res. 1: 21–23.
- Damm, U., Cannon, P.F., Woudenberg, J.H.C. and Crous, P.W. (2012). The *Colletotrichum acutatum* species complex. Stud. Mycol. 73: 37–113.
- 遠藤 (飛川) みのり (2018). イチゴ新品種‘恋みのり’が有する炭疽病抵抗性. *Colletotrichum gloeosporioides* 種複合体の菌種による差異の一例. 植物防疫 72: 236–240.
- Gupta, S., Singh, K.P. and Singh, A.K. (2017). Sources of multiple resistances to foliar diseases of mango. J. Pharmacogn. Phytochem. 6: 148–151.

- Hassan, M.K., Dann, E.K., Irving, D.E. and Coates, L.M. (2007). Concentrations of constitutive alk(en)ylresorcinols in peel of commercial mango varieties and resistance to postharvest anthracnose. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 71: 158–165.
- 国際農林水産業研究センター (2017). JIRCAS マンゴー遺伝資源サイト [Online] <https://www.jircas.go.jp/ja/database/mango/mango-top> (2018 年 7 月 29 日アクセス確認).
- Nishijima, W. (1993). Mango diseases and their control. *Proceedings: Conference on Mango in Hawaii* 20–24.
- 大畑貫一 (1995). 作物病原菌研究技法の基礎 (大畑貫一ほか編). pp. 211–213, 日本植物防疫協会, 東京.
- Poolsawat, O., Tharapreuksapong, A., Wongkaew, S., Chaowiset, W. and Tantasawat, P. (2012). Laboratory and field evaluations of resistance to *Sphaceloma ampelinum* causing anthracnose in grapevine. *Australasian Plant Pathology*. 41: 263–269.
- Prihastuti, H., Cai, L., Chen, H., McKenzie, E.H.C. and Hyde, K.D. (2009). Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in northern Thailand. *Fungal Divers.* 39: 89–109.
- Roumen, E.C., Bonman, J.M. and Parlevliet, J.E. (1992). Leaf age related partial resistance to *Pyricularia oryzae* in tropical lowland rice cultivars as measured by the number of sporulating lesions. *Phytopathology* 82: 1414–1417.
- Steimetz, E., Trouvelot, S., Gindro, K., Bordier, A., Poinssot, B., Adrian, M. and Daire, X. (2012). Influence of leaf age on induced resistance in grapevine against *Plasmopara viticola*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 79: 89–96.
- 澤岨哲也・亀川 藍・河野伸二・田場 聡・諸見里善一 (2012). 沖縄県から出荷したマンゴー果実における炭疽病の発病推移および圃場採集した果実における 2 種病原菌の分離頻度. *熱帯農業* 5: 20–24.
- 澤岨哲也・田場 聡・諸見里善一 (2013). 施設マンゴー果実における炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* および *C. acutatum* の潜在感染とその感染時期. *日植病報* 79: 142–149.
- 澤岨哲也・新崎千江美・大城 篤・佐藤豊三 (2015). マンゴー炭疽病を引き起こす *Colletotrichum acutatum* 種複合体菌株の再同定. *日植病報* 81: 206. (講要)
- 澤岨哲也・安次富厚・新崎千江美・大城 篤・田場 聡 (2018). マンゴー軸腐病および炭疽病の同時防除のための数種有効殺菌剤を用いた体系散布技術の確立. *熱帯農業* 11: 43–52.
- Turechek, W.W. and Stevenson, K.L. (1998). Effects of host resistance, temperature, leaf wetness, and leaf age on infection and lesion development of pecan scab. *Phytopathology* 88: 1294–1301.
- Weir, B.S., Johnston, P.R. and Damm, U. (2012). The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Stud. Mycol.* 73: 115–180.