

柑橘類の葉面糸状菌相に及ぼす 二酸化イオウの影響

雨宮良幹・吉村 道・平野和弥・飯田 格
(環境植物病理学研究室)

Influence of Sulfur Dioxide on Leaf Surface Fungal Flora of Citrus Trees

Yoshimiki AMEMIYA, Michi YOSHIMURA, Kazuya HIRANO, and Wataru IIDA
Laboratory of Plant Pathology

Abstract

Citrus trees were exposed to low concentration of SO_2 (average conc. was 0.105 ppm) or ambient air (control) for about 4 months in glasshouses. Leaves for isolation of fungi were sampled from young branches. The number of fungi per cm^2 leaf tissue increased with leaf age for all plants under both conditions. But the fungal population on SO_2 exposed plants was always found to be lower than that on control plants at each sampling period subsequent to 60 days of exposure. Most fungal species except *Penicillium* and yeasts (containing yeast-like fungi) present on control leaves were affected by SO_2 with a decrease of their population, and some of them became undetectable. Yeasts were detected more abundantly after SO_2 exposure.

大気汚染物質の一つである二酸化イオウ (SO_2) はそれ自体が植物に種々の障害を引き起こすことが知られている (千葉1970)。一方大気汚染地域では他の地域に比べて病害発生の多くなる場合があり、 SO_2 接触によるマツのすす枯病の発生増加 (CHIBA & TANAKA, 1968) などの例が報告されている。この原因の一つとしては、汚染物質による植物の病害抵抗性の低下があげられる。しかしながら植物の表面には病原菌やその拮抗微生物を含む種々の微生物が存在するため、大気汚染と病害発生との関係を問題とする場合、汚染物質が直接これらの微生物に及ぼす影響をも考慮する必要がある。この点についてはいくつかの糸状菌を用いた実験例 (HEAGLE, 1973) があるものの得られている知見は少ない。

そこで筆者らは、柑橘類を材料として低濃度の SO_2 を長期間にわたって接触させた場合の葉面微生物相、特に糸状菌相に及ぼす影響について調査したので、その結果を報告する。

実験材料及び方法

供試植物及び栽培条件

供試した柑橘類は、八朔 (*Citrus hassaku* Hort ex

Tanaka), 甘夏 (*Citrus natsudaidai* Hayata), ポンカン (*Citrus reticulata* Blanco) の3種でいずれも4年生苗を用い、1979年4月7日に1/2000アールワグネルポットに定植した。栽培に用いた土壌は鉾質土で、肥料は化成肥料 (N:P:K = 8:8:8) をポット当たり4月に10g、8月に15gと油かす8gを施用した。なお試験期間中はダニおよびアブラムシの防除のため殺虫剤 (アカル、デス、エストックス、マラソン乳剤) を1~2週間毎に、同一薬剤の連用を避けて散布した。

SO_2 の接触

SO_2 の接触はすべて電力中央研究所生物環境技術研究所のガラス室内で行なった。 SO_2 の濃度は0.10~0.15ppmに設定し、各植物それぞれ4個体を1979年6月5日から10月13日まで SO_2 に接触させた。また対照区として SO_2 無接触区を設けた。

葉面糸状菌の検出

葉面糸状菌の菌密度の調査は、 SO_2 接触前の5月3日および接触開始後約1ヵ月毎の7月5日、8月4日、9月4日、10月13日、さらに接触終了後の11月17日の合計6回行なった。その場合各植物の新梢の健全とみられる葉より、リーフパンチャーを用いて直径1.2cmのdiskを1試験区当り30個採取した。それら

を50mlの殺菌水を入れた100ml容三角フラスコに入れ、往復振とう機で20分間振とうして葉面微生物を遊離させた。この振とう液中の糸状菌数を乾杏煎汁寒天培地を用い、希釈平板法により求めた。菌数の測定は25℃下で10日間培養したのちに行ない、検出されたコロニー数から葉面積1cm²当りの菌数を算出した。糸状菌の同定は、培地上に出現したコロニーを直接顕微鏡下で観察して行なった。なお、本培地上で孢子形成の認め

られなかったものについては、それらをPDA培地上に単離移植して観察し、そこでもなお孢子形成をしなかったものはすべて未同定菌とした。

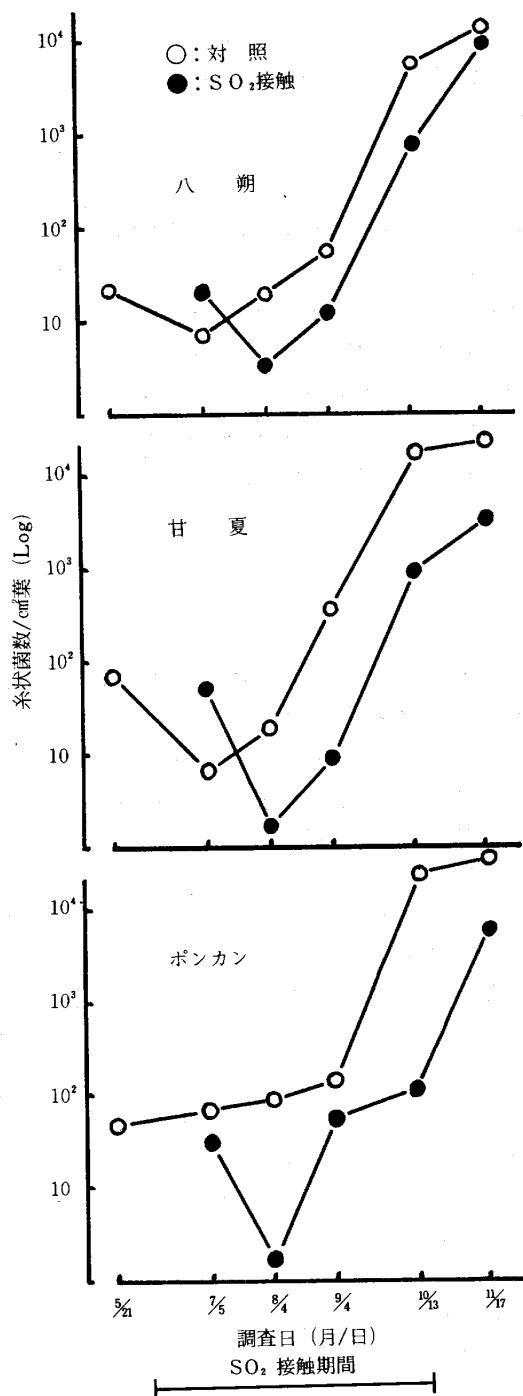
実験結果

SO₂ 接触による葉面糸状菌数の変動

無接触区における菌数は第1図に示したように5月から8月にかけて特に変動は見られなかったが、その後は葉令の進行とともに急激な増加が認められ、10月から11月には10⁴個のオーダーにまで達した。この傾向はいずれの植物においても同様で、菌数も植物間で特に差異は見られなかった。またSO₂を接触させた場合の菌数の時期的変動も無接触区と同様の傾向を示した。しかし各調査時の菌数を比較すると、接触後30日(7月)では八朔および甘夏において無接触区よりも菌数が多かったが接触後60日(8月)以降はいずれの植物においても無接触区よりも低い菌密度であった。以上のようにSO₂接触により葉面状菌数は減少する傾向が認められた。

SO₂ 接触による葉面糸状菌相の変動

6回にわたる分離試験の結果、検出同定された糸状菌は、*Alternaria*, *Aspergillus*, *Camarosporium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Colletotricum*, *Curvularia*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Mucoraceae*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Phoma*, *Stemphylium*, *Trichoderma*, および酵母(出芽型分生孢子を形成し、コロニーの形状が酵母に類似する酵母様糸状菌も含む)で、それらの調査時毎の菌数を第1, 2, 3表に示した。無接触区では上記の菌がほとんど検出されたが、時期によってその数、種類ともに変動が見られ、最も多くの菌種が検出されたのは9月であった。全体的に見て検出頻度の高かったのは、*Alternaria*, *Cladosporium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, 酵母で、全菌数の増加に応じてそれらの増加がみられた。しかし時期毎の全体に占める割合をみると、葉令の若い時期には *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* が比較的優勢であったが *Alternaria* および *Penicillium* はその後減少するのに対して *Cladosporium* は次第に優勢となり、10月および11月には全菌数の65~90%にまで達した。この傾向はいずれの植物においても同様であった。一方SO₂を接触させた場合、ほとんどの菌は無接触区に比べて菌数が減少し、また検出される菌種も減少した。しかしながら *Penicillium* はSO₂による影響があまり見られず、菌数は無接触区に比べて特に差異はなかった。したがって7月から9月にかけては全体に占める割合がかなり高くなった。さらに酵母もSO₂接触によってそれほど減少せず、接触終了後の調査では



第1図 SO₂ 接触による葉面糸状菌数の変動
SO₂ の平均濃度は0.105ppm である。

むしろ無接触区よりも高い菌密度であった。*Cladosporium* は無接触区よりも菌密度は低かったが全体からみればその占める割合はやはり高く、10月および11月には比較的優勢であった。

第1表 SO₂接触^aによる葉面微生物相の変動（八朔）

分 離 糸 状 菌	分 離 糸 状 菌 数 (菌数/葉面積 1 cm ²)										
	5月21日	7 月 5 日		8 月 4 日		9 月 4 日		10月13日		11月17日	
	対 照 ^b	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触
<i>Alternaria</i>	3.8 (17.9) ^c	— ^d	—	2.5 (13.8)	—	5.2 (9.5)	—	110 (1.9)	7.4 (0.9)	—	—
<i>Aspergillus</i>	—	—	—	0.5 (2.8)	—	2.9 (5.3)	—	20 (0.3)	—	700 (5.3)	300 (2.7)
<i>Camarosporium</i>	—	—	—	—	—	—	—	10 (0.2)	—	—	—
<i>Cladosporium</i>	0.9 (4.2)	—	—	2.5 (13.8)	—	2.2 (4.0)	—	3900 (67.8)	627 (76.6)	8600 (64.7)	8300 (73.5)
<i>Curvularia</i>	—	—	—	0.5 (2.8)	—	1.5 (2.7)	1.0 (8.2)	—	—	—	—
<i>Epicoccum</i>	5.6 (26.4)	—	—	—	—	1.5 (2.7)	—	—	—	—	—
<i>Helminthosporium</i>	—	—	—	—	—	0.7 (1.3)	—	—	—	—	—
<i>Mucoraceae</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	200 (1.5)	100 (0.9)
<i>Nigrospora</i>	—	0.5 (7.5)	—	1.0 (5.5)	—	10.3 (18.9)	0.5 (4.1)	30 (0.5)	—	700 (5.3)	—
<i>Penicillium</i>	0.3 (1.4)	3.9 (56.5)	20.6 (100)	1.5 (8.3)	1.5 (44.4)	11.8 (21.6)	3.9 (32.0)	80 (1.4)	37 (4.5)	2000 (15.0)	500 (4.4)
<i>Pestalotia</i>	1.2 (5.7)	—	—	—	—	—	2.0 (16.4)	—	—	—	—
<i>Stemphylium</i>	—	—	—	0.5 (2.8)	—	0.7 (1.3)	—	10 (0.2)	—	—	—
<i>Trichoderma</i>	—	—	—	—	—	—	0.5 (4.1)	—	—	—	—
Yeasts and Yeast-like fungi	5.0 (23.6)	—	—	3.4 (18.9)	—	3.7 (6.8)	—	110 (1.9)	66 (8.1)	600 (4.5)	1500 (13.3)
Unidentified fungi	4.4 (20.8)	2.5 (36.0)	—	5.7 (31.3)	1.9 (55.6)	13.7 (25.1)	4.3 (35.2)	1480 (25.7)	81 (9.9)	500 (3.7)	600 (5.2)

a SO₂（平均濃度0.105ppm）は6月5日から10月13日まで接触させた。

b SO₂無接触。

c () 内は全糸状菌数に対する割合を%で示す。

d その糸状菌は検出されなかった。

考 察

柑橘類に低濃度のSO₂を長期間接触させたところ、葉面糸状菌数は無接触区と同様葉令の進行に伴って増加するが、各調査時での比較では全菌数および菌の種類ともに無接触区よりも減少する結果が得られた。さらに検出された各糸状菌についてみた場合、*Penicillium*と酵母を除くほとんどの糸状菌がSO₂の接触により減少していた。同様な実験はMANNING & PAPIA（1972）によってオゾンに接触させた pinto bean を用いて行なわれているが、この場合には接触区での菌

数増加が認められている。またオゾンに対する菌の感受性は胞子の着色の有無によって差異があり、*Alternaria*や*Chaetomium*などは耐性が強いとされている（HIBBEN & STOTZKY, 1969）。しかし本実験において無接触区で比較的検出数の多かった *Alternaria* はSO₂の接触によってほとんど検出されなくなった。ところで、多くの糸状菌の胞子はSO₂に対して極めて抵抗性が強いが高湿下では逆に感受性が高くなると報告されている（HEAGLE, 1973）。また、葉面においては葉の蒸散作用などで比較的高湿な条件が生み出される可能性もある。したがってこのような場合、糸状

第2表 SO₂接触^aによる葉面糸状菌相の変動 (甘夏)

分離糸状菌	分離糸状菌数 (菌数/葉面積 1 cm ²)										
	5月21日	7月5日		8月4日		9月4日		10月13日		11月17日	
	対 照 ^b	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触
<i>Alternaria</i>	7.4 (10.5) ^c	1.0 (14.5)	2.0 (3.5)	4.9 (23.4)	— ^d	37.0 (10.0)	0.5 (5.4)	10 (0.1)	7.4 (0.8)	—	—
<i>Aspergillus</i>	—	—	—	8.8 (42.3)	—	2.2 (0.6)	—	—	—	—	200 (5.9)
<i>Cladosporium</i>	21.2 (29.9)	—	1.0 (1.8)	1.0 (4.8)	—	175.2 (47.3)	—	16660 (90.8)	435 (45.0)	22100 (91.7)	1800 (52.9)
<i>Colletotricum</i>	—	—	—	—	—	—	—	10 (0.1)	—	—	—
<i>Curvularia</i>	—	1.0 (14.5)	—	0.5 (2.4)	—	3.7 (1.0)	—	—	—	—	100 (2.9)
<i>Epicoccum</i>	10.9 (15.4)	—	—	—	—	3.7 (1.0)	—	10 (0.1)	—	—	—
<i>Helminthosporium</i>	—	1.0 (14.5)	0.5 (0.9)	—	—	3.7 (1.0)	—	—	—	—	—
<i>Mucoraceae</i>	—	—	1.0 (1.8)	—	—	2.2 (0.6)	2.9 (31.2)	—	—	100 (0.3)	—
<i>Nigrospora</i>	0.6 (0.8)	0.5 (7.2)	—	1.0 (4.8)	—	4.5 (1.2)	2.0 (21.5)	30 (0.3)	7.4 (0.8)	—	100 (2.9)
<i>Penicillium</i>	—	2.0 (29.0)	46.7 (82.7)	3.4 (16.3)	1.5 (100)	37.0 (10.0)	2.5 (26.9)	20 (0.2)	44 (4.6)	200 (0.8)	200 (5.9)
<i>Pestalotia</i>	0.9 (1.3)	—	0.5 (0.9)	0.5 (2.4)	—	—	—	—	—	—	—
<i>Phoma</i>	0.6 (0.8)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Stemphylium</i>	—	—	—	0.5 (2.4)	—	3.7 (1.0)	—	120 (0.7)	—	—	—
<i>Trichoderma</i>	—	—	—	—	—	—	—	10 (0.1)	—	—	—
Yeasts and Yeast-like fungi	13.3 (18.8)	—	—	—	—	47.0 (12.7)	—	370 (2.0)	103 (11.0)	600 (2.4)	900 (26.6)
Unidentified fungi	15.9 (22.5)	—	—	—	—	50.2 (13.6)	1.4 (15.0)	1030 (5.6)	365 (37.8)	1100 (4.8)	100 (2.9)

a SO₂ (平均濃度0.105ppm) は6月5日から10月13日まで接触させた。b SO₂無接触。

c () 内は全糸状菌数に対する割合を%で示す。

d その糸状菌は検出されなかった。

菌胞子は SO₂ に対する影響を受けやすくなると考えられる。以上の理由から本実験に示したように高温期 (8月) に菌数が減少するという結果が得られたものと推定される。SO₂ 汚染地域ではカシのうどんこ病 (HEAGLE 1973) やバラの黒星病 (SAUNDERS 1966) など、病害の発生が減少したという例が多く知られている。これらの原因についてはこれまでに明らかにされていないが、葉面に定着した病原菌が SO₂ に対して感受性であるとすればそれによる発病が汚染地域で減少することも十分考えられる。これとは別に今回の調査では SO₂ にあまり影響されないと思われるものも存在し、糸状菌に対する SO₂ の影響は必ずしも一様でないことが明らかとなった。したがって病原菌の

中にも SO₂ 耐性のものが存在する可能性がある。マツのすす葉枯病のように SO₂ 汚染地域で発生が多い病害が認められること (CHIBA & TANAKA 1968) は上述の仮定と関係があるのかもしれない。

一方、葉面微生物には病原菌に拮抗性を有するものなど、病原菌の行動に何らかの影響を及ぼすものも少なくない (赤井1977 a)。本実験では SO₂ 接触終了後に酵母および酵母様糸状菌が増加するという結果が得られた。葉上酵母は葉の浸出液中のアミノ酸の他葉の表皮細胞壁成分をも利用することが知られており、酵母細胞周辺ではワックスの消失することも観察されている (赤井1977 b)。病原菌の侵入阻止因子の一つでもあるワックスが消失すれば感染も容易となること

⑪

 第3表 SO₂接触^aによる葉面糸状菌相の変動（ポンカン）

分 離 系 状 菌	分 離 系 状 菌 数 (菌数/葉面積 1 cm ²)										
	5月21日	7 月 5 日		8 月 4 日		9 月 4 日		10月13日		11月17日	
	対 照 ^b	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触	対 照	SO ₂ 接触
<i>Alternaria</i>	4.7 (9.4) ^c	29.0 (40.2)	2.0 (6.9)	19.7 (22.0)	0.5 (33.3)	29.5 (20.0)	2.9 (4.6)	44 (0.2)	— ^d	100 (0.2)	—
<i>Aspergillus</i>	—	—	—	—	—	1.5 (1.0)	—	74 (0.3)	—	300 (0.8)	600 (8.8)
<i>Chaetomium</i>	—	—	—	—	0.5 (33.3)	—	—	—	—	—	—
<i>Cladosporium</i>	5.3 (10.6)	14.3 (19.8)	—	4.9 (5.5)	—	60.5 (40.9)	1.5 (2.4)	2360 (91.8)	347 (29.4)	34700 (94.9)	2900 (45.6)
<i>Colletotricum</i>	0.3 (0.6)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Curvularia</i>	—	0.5 (0.7)	—	0.6 (0.7)	—	7.4 (5.0)	—	—	—	—	—
<i>Epicoecum</i>	5.9 (11.8)	0.5 (0.7)	—	—	—	1.5 (1.0)	—	11 (0.05)	—	—	—
<i>Fusarium</i>	—	—	—	—	—	1.0 (0.7)	—	—	—	—	—
<i>Helminthosporium</i>	—	0.5 (0.7)	—	—	—	—	1.5 (2.4)	74 (0.3)	—	200 (0.6)	—
<i>Mucoraceae</i>	—	4.4 (6.1)	2.0 (6.9)	0.5 (0.6)	—	3.0 (2.0)	1.5 (2.4)	44 (0.2)	—	—	—
<i>Nigrospora</i>	—	—	—	1.0 (1.1)	—	—	—	—	—	—	100 (1.8)
<i>Penicillium</i>	1.2 (2.4)	2.5 (3.5)	27.0 (82.1)	2.5 (2.8)	—	28.2 (19.0)	41.3 (66.2)	600 (2.3)	111 (9.4)	—	1900 (29.8)
<i>Pestalotia</i>	0.6 (1.2)	0.5 (0.7)	—	—	—	1.5 (1.0)	—	—	—	—	—
<i>Stemphylium</i>	—	—	—	0.5 (0.6)	—	1.5 (1.0)	—	11 (0.05)	—	—	—
<i>Trichoderma</i>	—	—	—	—	—	0.5 (0.4)	—	—	—	—	—
Yests and Yeast-like fungi	18.9 (38.0)	0.5 (0.7)	0.5 (1.6)	6.9 (7.7)	0.5 (33.3)	11.8 (8.0)	1.5 (2.4)	221 (0.9)	347 (29.4)	—	200 (3.5)
Unidentified fungi	12.8 (26.0)	19.4 (25.9)	1.0 (2.4)	53.1 (59.0)	—	—	12.2 (19.6)	1000 (3.9)	375 (31.8)	1300 (3.5)	600 (10.5)

 a SO₂（平均濃度0.105ppm）は6月5日から10月13日まで接触させた。

 b SO₂無接触。

c ()内は全糸状菌数に対する割合を%で示す。

d その糸状菌は検出されなかった。

摘 要

予想されるので、これら酵母あるいは酵母様糸状菌と病害発生との関係は今後検討すべき点であろう。

大気汚染と病害発生との関係は、汚染物質の影響が植物、病原菌、および他の微生物にまでおよぶため極めて複雑である。本研究では、SO₂の接触により葉面糸状菌相がかなり攪乱されることが明らかとなった。したがって以上の問題を解明するためには、葉面上での病原菌の動向についても検討する必要があると思われる。

低濃度（平均0.105ppm）のSO₂を約4ヵ月にわたって接触させた場合の、柑橘類における葉面糸状菌相の変動について調査した。菌の分離は新梢の葉について行なった。SO₂の接触の有無にかかわらず、全糸状菌数はいずれの植物においても葉令の進行とともに増加したが、SO₂接触開始60日以降の菌数は無接触区よりもSO₂接触区の方が常に低い値を示した。無接触区で分離された各種糸状菌のうち、*Penicillium*と酵母（酵母様糸状菌を含む）を除いてはすべてSO₂の接触により菌数が減少するかあるいは検出さ

れなくなった。酵母は SO_2 接触終了後に増加する傾向がみられた。

本研究をするに当たり、電力中央研究所生物環境技術研究所の青木正則、小川正の両氏の協力を得た。記してここに感謝の意を表する。

引用文献

- 赤井重恭 (1977a) 葉上微生物と植物の感染. 農業及び園芸 **52** : 381—386.
- (1977b) 葉上微生物と植物の感染 (2). 同誌 **52** : 503—508.
- CHIBA, O. & TANAKA, K. (1968) The effect of sulfur dioxide on the development of pine needle blight caused by *Rhizosphaera kalkhoffii* Bubok (1). J. Jap. Forest Soc. **50** : 135—139.
- 千葉修 (1970) 大気汚染と樹木の被害. 植物防疫 **24** : 519—522.
- HEAGLE, A. S. (1973) Interaction between air pollutants and plant parasites. Ann. Rev. Phytopath. **11** : 365—388.
- HIBBEN, W. J. & STOTZKY, G. (1969) Effects of ozone on the germination of fungus spores. Can. J. Microbiol. **15** : 1187—1196.
- MANNING, W. J. & PAPIA, P. M. (1972) Influence of long-term low levels of ozone on the leaf surface microflora of pinto bean plants. Phytopathology **62** : 497.
- SAUNDERS, P. J. W. (1966) The toxicity of sulfur dioxide to *Diplocarpon rosae* Wolf causing black-spot of roses. Ann. Appl. Biol. **58** : 103—114.