

# 昆虫病原性ウイルスの感染力増強に関する研究動向

農林水産省農業研究センター 後藤 千枝

## はじめに

天敵昆虫等の生物農薬の国内での販売が始まり、化学合成農薬に偏らない新しい害虫防除体系の確立に向けて様々な防除素材の開発が進められている。昆虫病原性ウイルスはその一翼を担う素材であり、核多角体病ウイルス (NPV)、顆粒病ウイルス (GV)、昆虫ポックスウイルス (EPV)、細胞質多角体病ウイルス、虹色ウイルス等による害虫防除の可能性が検討されてきた。なかでも NPV と GV は、安全性が高く、長期保存も可能で、化学合成農薬と同様の施用法が適用できるなど有利な特性を持つため、鱗翅目害虫の防除素材として注目されている。しかし、散布から食害停止までに日数を要すること、殺虫スペクトラムが狭いこと、殺虫効果の安定性や生産コストの問題等が障壁となり、害虫防除技術として定着した例は少ない。国内では、鹿児島県における GV によるチャのハマキムシ類の防除 (西・野中, 1994; 神峯, 1998)、海外では、ブラジルにおける NPV によるダイズ害虫の防除やヨーロッパにおける GV によるコドリングの防除が成功している。

今後、農業現場の要望にこたえうるウイルス製剤を開発するためには、①防除対象害虫の範囲拡大、②致死日数の短縮、③感染力の強化、を進める必要がある。近年、①と②については、欧米を中心に遺伝子組換え技術を応用した研究が進んでいる。①では、宿主域決定にかかわる遺伝子の特定が行われ、その遺伝子の改変により宿主域を拡大したウイルスが作成された (KAMITA and MAEDA, 1997)。②では、昆虫に特異的な毒素遺伝子の導入や宿主昆虫の発育制御にかかわる遺伝子の不活性化等によって、感染から死亡までの時間が大幅に短縮された例が報告されている (BONNING and HAMMOCK, 1996; O'REILLY and MILLER, 1991)。③では、化合物やある種のタンパク質の添加によって NPV の感染率を高める研究が行われており、防除コスト低減や殺虫効果の安定性向上が期待されている。

## I NPV の感染過程と感染力にかかわる要因

NPV 感染は、幼虫が餌とともに多角体と呼ばれるタンパク質の結晶を食下することによって始まる。多角体は多数のウイルス粒子を含んでおり、消化液によって多角体から遊離したウイルス粒子は中腸皮膜組織の細胞に侵入して増殖を開始する。感染細胞では、2種類の異なるウイルス粒子が形成される。一方は、虫体内の細胞間での感染を担っており、細胞から出芽し、新たな細胞に侵入する。もう一方は個体間の感染を担っており、多角体に包埋された状態で幼虫体内に蓄積され、幼虫の死亡後体外に離散して、他個体の感染源となる。多角体は、紫外線の照射や熱によって不活性化するが、土壌中等では数年間感染性を維持することができる。

NPV の感染力は、供試虫の半数に感染致死を生じさせる多角体接種量 (LD<sub>50</sub>) で表されることが多い。本稿では、多角体に添加して幼虫に摂食させると、多角体単独の場合に比べて NPV 感染率が上昇する、すなわち LD<sub>50</sub> が減少するような効果を示す物質を感染力増強物質と定義する。表-1 に、これまでに報告された昆虫病原性ウイルスの感染力増強物質の例を示した。これらのうち、NPV の LD<sub>50</sub> を数桁小さくする大きな作用があることが報告されている GV と EPV 由来のタンパク質、ならびに蛍光漂白剤に関する研究について紹介する。

## II GV による NPV 感染力増強と作用機構

GV による NPV 感染力増強作用に関する研究は、ハワイで大発生したアワヨトウの近縁種 *Pseudaletia unipuncta* 幼虫で GV (PuGV) と NPV の双方が発見されたことがきっかけとなって始まった。*P. unipuncta* 幼虫に NPV の多角体と GV の顆粒体 (タンパク質でできた楕円体でウイルス粒子を1個含む) を混合して経口接種すると、多角体単独で接種した場合に比べ、NPV 感染率が大幅に上昇することが発見され、この作用は“the synergistic association”と名付けられた (TANADA, 1956)。このような NPV 感染力増強作用は、*Trichoplusia ni* GV (TnGV) (DERKSEN and GRANADOS, 1988) とシロモンヤガ GV (XcGV) (GOTO, 1990) でも

表-1 昆虫病原性ウイルスの感染力を増強する物質

物質名	ウイルス名 <sup>a</sup>	宿主名	文献
化合物			
フォスファチジルコリン	PuNPV	<i>Pseudaletia unipuncta</i>	YAMAMOTO and TANADA, 1978
ドテシリアミン塩酸塩	〃	〃	〃
CTAB <sup>b</sup>	〃	〃	〃
ほう酸	LdNPV	<i>Lymantria dispar</i>	SHAPIRO and BELL, 1982
ダイズレシチン	<i>Heliothis</i> NPV	<i>Heliothis armigera</i>	TUAN and HOU, 1988
蛍光漂白剤(スチルベン染料)			
蛍光漂白剤5種類 <sup>c</sup>	LdNPV	<i>Lymantria dispar</i>	SHAPIRO and ROBERTSON, 1992
Phorwite AR	LdCPV	〃	SHAPIRO and DOUGHERTY, 1994
	AcNPV	〃	〃
	<i>Amsacta</i> EPV	〃	〃
Blankophor BBH	LdNPV	<i>Lymantria dispar</i>	WEBB et. al., 1996
Tinopal LPW <sup>d</sup>	SfNPV	<i>Spodoptera frugiperda</i>	HAMM and SHAPIRO, 1992
	H <sub>z</sub> NPV	<i>Helicoverpa zea</i>	SHAPIRO and VAUGHN, 1995
	AfNPV	〃	〃
	AcNPV	〃	〃
	GmNPV	〃	〃
	HaNPV	〃	〃
	PsNPV	<i>Pseudaletia separata</i>	務川ら, 1999
Fluorescent brightener 28 <sup>d</sup>	LdNPV	<i>Lymantria dispar</i>	DOUGHERTY et. al., 1996
	AcNPV	<i>Trichoplusia ni</i>	〃
Calcofluor white M2R <sup>d</sup>	〃	<i>Heliothis virescens</i>	KIRKPATRICK et. al., 1998
	〃	〃	WASHBURN et. al., 1998
	〃	<i>Trichoplusia ni</i>	〃
昆虫ウイルス由来のタンパク質			
昆虫ボックスウイルス			
<i>Pseudaletia separata</i> EPV	PuNPV	<i>Pseudaletia separata</i>	XU and HUKUHARA, 1992
	AcNPV	〃	福原・早川, 1996
<i>Anomala cuprea</i> EPV	BmNPV	<i>Bombyx mori</i>	MITSUHASHI et. al., 1998
	SiNPV	<i>Spilosoma imparilis</i>	三橋・佐藤, 1999
顆粒病ウイルス			
<i>Pseudaletia unipuncta</i> GV	PuNPV	<i>Pseudaletia unipuncta</i>	TANADA, 1956
	〃	<i>Pseudaletia separata</i>	XU and HUKUHARA, 1992
<i>Trichoplusia ni</i> GV	AcNPV	<i>Trichoplusia ni</i>	DERKSEN and GRANADOS, 1988
	〃	<i>Pseudaletia unipuncta</i>	WANG et. al., 1994
	〃	<i>Helicoverpa zea</i>	〃
	〃	<i>Spodoptera exigua</i>	〃
<i>Xestia c-nigrum</i> GV	XcNPV-tetra	<i>Xestia c-nigrum</i>	GOTO, 1990
	XcNPV-tri	〃	GOTO et. al., 1992
	〃	<i>Pseudaletia separata</i>	〃
	〃	<i>Mamestra brassicae</i>	〃
	MbNPV	〃	〃
	〃	<i>Pseudaletia separata</i>	〃
	〃	<i>Helicoverpa assulta</i>	〃
	〃	<i>Helicoverpa armigera</i>	GOTO, 未発表

a: CPV: 細胞質多角体病ウイルス; EPV: 昆虫ボックスウイルス; GV: 顆粒病ウイルス; NPV: 核多角体病ウイルス

Ac: *Autographa californica*; Af: *Anagrapha falcifera*; Bm: *Bombyx mori*; Gm: *Galleria mellonella*;

Ha: *Helicoverpa (Heliothis) armigera*; Hz: *Helicoverpa (Heliothis) zea*; Ld: *Lymantria dispar*; Mb: *Mamestra brassicae*;

Ps: *Pseudaletia (Mythimna) separata*; Pu: *Pseudaletia (Mythimna) unipuncta*; Sf: *Spodoptera frugiperda*;

Si: *Spilosoma imparilis*; Tn: *Trichoplusia ni*; Xc: *Xestia c-nigrum*.

b: 臭化セチルトリメチルアンモニウム.

c: 蛍光漂白剤5種類: Leucophor BS, Leucophor BSB, Phorwite AR, Phorwite RKH, and Tinopal LPW.

d: Tinopal LPW, Fluorescent brightener 28, Calcofluor white M2R は, 同一物質 (Sigma, F 3397) であるが, 引用文献に従って表記した.

確認されており、遺伝子解析の結果から、オオタバコガ GV も感染力増強作用を持つと考えられている (ROELVINK et al., 1995)。また、TnGV と PuGV は、制限酵素を用いたゲノム DNA の比較の結果から近縁のウイルスであると考えられている (ROELVINK et al., 1995)。

GV の感染力増強効果は供試幼虫の種によって異なり、PuGV 顆粒体を多角体に添加した場合、アワヨトウ幼虫では NPV の感染力が LD<sub>50</sub> 比で 1 万倍以上増強されたのに対し、ハスモンヨトウでは 10 倍程度、カイコでは感染力に変化はなかった (HUKUHARA et al., 1987)。TnGV では、NPV の LD<sub>50</sub> の比較は行われていないため感染力増強の程度は明らかではないが、*T. ni*, *Helicoverpa zea*, *P. unipuncta*, シロイチモジヨトウそれぞれの幼虫で NPV 感染力増強作用が認められた (WANG et al., 1994)。XcGV では、その顆粒体あるいは顆粒体から抽出されたタンパク質を添加することによって、シロモンヤガ (Goto, 1990) とアワヨトウのほか、ヨトウガ、タバコガ (Goto et al., 1992)、オオタバコガ幼虫 (未発表) において NPV 感染力増強作用が認められた。前 2 種は XcGV そのものが感染可能な宿主であるが、後 3 種は XcGV に感染しない。シロモンヤガとヨトウガでは LD<sub>50</sub> 比で 100 倍以上の感染力増強が確認された。これらの試験結果から、PuGV と XcGV の感染力増強作用には宿主特異性があること、GV が感染力増強作用を示す宿主域は GV の感染宿主域とは一致しないことが明らかになった。

PuGV の顆粒体からは、NPV 感染力増強作用の活性成分であるタンパク質 (synergistic factor: SyF) が分離精製され、その特性解明や電子顕微鏡観察の結果により、SyF が NPV のウイルス粒子と細胞との吸着を促進するため感染が増進されるという仮説が示された (山本・棚田, 1980; TANADA, 1985)。さらに、蛍光標識したウイルス粒子を用いた実験により、SyF 存在下で NPV のウイルス粒子と培養細胞との融合が促進されることが確認された (KOZUMA and HUKUHARA, 1994)。

他方、TnGV の感染力増強作用は主に *T. ni* 幼虫を用いて調査され、顆粒体を摂食した幼虫では中腸の囲食膜がもろくなっていることが観察されたことから、GV 顆粒体中の成分が囲食膜の構造に物理的あるいは科学的变化を起こすことによって NPV 感染率が上昇するという仮説が提唱された (DERKSEN and GRANADOS, 1988)。TnGV においても、感染力増強物質であるタンパク質の分離精製と、それをコードする遺伝子の解析、塩基配列の決定が行われ (HASHIMOTO et al., 1991)、このタンパク質は enhancin と命名された (CORSARO et al., 1993)。

TnGV の研究グループは、上記の仮説の裏付けとして、enhancin が囲食膜の成分であるタンパク質の一種ムチンの特異的に分解するメタロプロテアーゼであること (WANG and GRANADOS, 1997)、また、その作用によって囲食膜の通過性が高まることを報告した (WANG and GRANADOS, 1998)。

TnGV と PuGV の enhancin 遺伝子の解析により、双方のアミノ酸配列の違いは 2% であり、SyF と enhancin が実質的には同じタンパク質であることが示された (ROELVINK et al., 1995) が、PuGV と TnGV のそれぞれの研究グループは、作用機構に関して異なる仮説を提唱し、その検証を続けている。感染力増強の作用機構は宿主によって異なる可能性もあり、その解明にはさらに検討が必要である。

### III EPV による NPV 感染力増強と作用機構

EPV は、NPV や GV とは別の科であるボックスウイルスに属し、ウイルス粒子を含む楕円体と呼ばれる封入体を形成する (福原, 1998)。ウイルスの種類によってはさらに紡錘体というウイルス粒子を含まない封入体を形成するものもあり、楕円体は spheroidin、紡錘体は fusolin と呼ばれるタンパク質をそれぞれ主成分としている。

EPV の NPV 感染力増強作用は 1990 年代になって初めて報告され、その発見経過は PuGV の場合とは異なる。つまり、EPV 感染実験で、供試したアワヨトウ幼虫が EPV 感染ではなく、EPV サンプルにごく微量混入していた NPV によって死亡したことがきっかけとなった (XU and HUKUHARA, 1992)。感染力増強の活性成分である糖タンパク質 (EF) は、楕円体から分離精製され (XU and HUKUHARA, 1994)、その後、免疫学的な方法により EF が楕円体中のウイルス粒子と紡錘体の双方に存在することが明らかになった (HUKUHARA et al., 1995)。EF のアミノ酸配列の部分的解析の結果、EF 遺伝子の特定と塩基配列決定が行われ、EF 遺伝子は他の昆虫から分離された EPV の fusolin 遺伝子と非常に高い相同性を示すことが明らかになった (HAYAKAWA et al., 1996)。アワヨトウ幼虫を用いた実験では、紡錘体あるいは楕円体を NPV 多角体に混合して接種した場合、NPV 感染率は著しく上昇し、いずれの場合も LD<sub>50</sub> 比で 1 万倍以上の感染力増強を示した (WIJONARKO and HUKUHARA, 1998)。EPV の感染力増強の作用機構に関する研究は今後の課題であるが、蛍光標識したウイルス粒子を用いた実験で NPV のウイルス粒子と培養細胞との

融合がEF存在下で促進されることから、EPVの場合もPuGVと同様に中腸皮膜組織細胞へのウイルス粒子の吸着・侵入の過程で増強作用が働くものと考えられている (HUKUHARA et al., 1998)。

上記のアワヨトウEPVに関する報告を受け、他の昆虫のEPVでも感染力増強作用に着目した研究が行われるようになった。ドウガネブイブイEPVの紡錘体がカイコにおけるNPV感染力をLD<sub>50</sub>比で1万倍程度増強することが報告され (MITHUHASHI et al., 1998)、さらにクワゴマダラヒトリでも数千倍のNPV感染力増強作用が認められた (三橋・佐藤, 1999)。鱗翅目昆虫のEPVに加え、鞘翅目昆虫のEPVでもNPV感染力を増強する作用が認められたことから、今後、感染力増強作用を持つEPVが新たに発見される可能性は高いものと思われる。

なお、アワヨトウEPVとEFについては、福原・早川 (1996) にわかりやすく解説されている。

#### IV 蛍光漂白剤によるNPV感染力増強と作用機構

NPVやGVはそれぞれ多角体と顆粒体を形成し、ウイルス粒子をタンパク質で包むことによってある程度の安定性を保っているが、いずれのウイルスも紫外線照射により短時間で不活性化される。したがって、安定した害虫防除効果をあげるためには、ウイルスを紫外線から守る必要がある。そこで、染色剤をはじめ様々な薬品による紫外線防御効果が調べられ、その過程で、スチルベン構造を持つ蛍光漂白剤が紫外線防御効果のみならずウイルスの感染力増強効果を持つことが発見された (SHAPIRO and ROBERTSON, 1992)。

これまでに各種のNPVと宿主を組み合わせて、蛍光漂白剤の感染力増強作用に関する試験が行われた (表-1)。ハスモンヨトウの近縁種である *Spodoptera frugiperda* やマイマイガでは、蛍光漂白剤添加によりLD<sub>50</sub>比で数百倍あるいはそれ以上の感染力増強が認められたが、*T. ni* や *H. zea* ではLD<sub>50</sub>比が数十倍程度であり (HAMM and SHAPIRO, 1992; DOUGHERTY et al., 1996; SHAPIRO and VAUGHEN, 1995)、宿主によって増強効果に差があるものと考えられる。

蛍光漂白剤は、宿主中腸内で多角体が溶解しウイルス粒子が遊離した後の感染過程で作用すると考えられている (DOUGHERTY et al., 1995)。蛍光漂白剤は、衣類の染色・漂白のほか、植物組織標本の染色にも使われており、キチンやセルロースに結合する性質を持つことから、幼虫の囲食膜に作用する可能性がある (SHAPIRO

and DOUGHERTY, 1994)。このほか、作用機構に関しては、ウイルス感染の最初の場合である中腸皮膜組織の細胞に注目した研究が行われている。中腸皮膜組織では細胞の更新が観察されるが、増殖したウイルス粒子が放出される前にウイルスに感染した細胞の脱落が起こった場合は、他細胞への感染が妨げられる可能性がある。WASHBURN et al. (1998) は、マーカー遺伝子を導入した組換え体NPVを使った感染実験を行って、ウイルス感染が中腸から気管を経て他の細胞へと広がっていく過程を観察し、*T. ni* ならびに *Heliothis virescens* 幼虫では、蛍光漂白剤が中腸皮膜組織の感染細胞の脱落を阻害するためウイルス感染率の上昇が起こると考察した。

最も実験例の多いマイマイガでは、実用化を考慮して、大口取引向けの低価格な蛍光漂白剤を用いた製剤による防除費の計算も行われている。コナラ類を対象とした場合、蛍光漂白剤を使わない製剤の1樹当たりの防除費8ドルに対し、葉の被害量とウイルス濃度を考慮した蛍光漂白剤添加製剤の防除費は、3ドルと試算された (WEBB et al., 1996)。この製剤は十分な防除効果があるが、蛍光漂白剤の付着によって樹の外観が損なわれるという欠点があるという。蛍光漂白剤を添加したウイルス製剤による防除を実用化するためには、効果はもちろんであるが、蛍光漂白剤の安全性や環境への影響、散布後の作物の外観等についても十分な検討が必要であろう。

#### V 感染力増強物質の害虫防除技術への応用

EPVとGVの感染力増強物質については、遺伝子解析が進んでおり、遺伝子発現ベクターを用いて大腸菌 (HUKUHARA et al., 1998) や昆虫培養細胞 (LEPORE et al., 1996; 後藤, 未発表) での物質生産が試みられている。今後、感染力増強物質を低コストで大量生産する技術が開発されれば、同物質を添加したウイルス製剤によって、防除効果の向上や散布ウイルス量の減少が可能になり、ウイルスによる害虫防除の実用化が推進されるものと思われる。このほか、感染力増強物質遺伝子をイネ等の植物に導入し植物に感染力増強物質を生産させる試みも行われている (北村ら, 1996; HUKUHARA et al., 1999)。これらは散布したNPVとともに植物体が生産した感染力増強物質を害虫に摂食させることによりNPVの感染率を上昇させ防除効果を高めようとするものである。

上記のように、蛍光漂白剤によるNPV感染力増強に関する研究では、一部実用化を目指した試験が行われているが、GVとEPVの感染力増強作用に関する研究は、室内試験の域を出ていない。感染力増強物質を利用してNPVによる害虫防除の効果向上を図るためには、作用

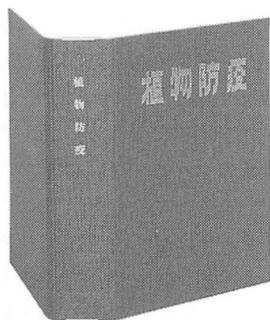
機構の解明に加え、宿主と NPV の組み合わせ、感染力増強物質の量と増強効果の関係等について基礎的な試験をさらに積み重ねる必要がある。

昆虫病原性ウイルスの感染力増強に関する研究報告数はここ数年増加しており、インターネットでは日本、カナダ、アメリカの各国の感染力増強に関する新しいプロジェクトが紹介されている。これらの研究がウイルス製剤による害虫防除技術の発展につながる大きな成果をもたらすことを期待したい。

#### 引用文献

- 1) BONNING, B. C. and B. D. HAMMOCK (1996): *Annu. Rev. Entomol.* 41: 191~210.
- 2) CORSARO, B. G. et al. (1993): *Parasites and Pathogens of Insects* (N. E. BECKAGE, S. N. THOMSON and B. A. FEDERICI, Ed.) Academic Press., San Diego, vol. 2: pp. 127~145.
- 3) DERKSEN, A. C. G. and R. R. GRANADOS (1988): *Virology* 167: 242~250.
- 4) DOUGHERTY, E. M. et al. (1995): *Biol. Control* 5: 383~388.
- 5) ——— et al. (1996): *ibid.* 7: 71~74.
- 6) GOTO, C. (1990): *Appl. Ent. Zool.* 25: 135~137.
- 7) ——— et al. (1992): *Programm and Abstracts of XXV Annual Meeting of Society for Invertebrate Pathology*: 313.
- 8) HAMM J. J. and M. SHAPIRO (1992): *J. Econ. Entomol.* 85: 2149~2152.
- 9) HASHIMOTO, Y. et al. (1991): *J. General Virology* 72: 2645~2651.
- 10) HAYAKAWA, T. et al. (1996): *Gene* 177: 269~270.
- 11) 福原敏彦 (1998): *ウイルス* 48: 45~50.
- 12) ———・早川孝彦 (1996): *バイオインダストリー* 13: 35~41.
- 13) HUKUHARA, T. et al. (1987): *Appl. Ent. Zool.* 22: 235~236.
- 14) ——— et al. (1995): *J. Invertebr. Pathol.* 65: 315~317.
- 15) ——— et al. (1999): *Nature Biotechnology* (in press).
- 16) KAMITA, S. G. and S. MAEDA (1997): *Gene* 190: 173~179.
- 17) 神谷保成 (1998): *蚕糸昆虫研資料* 23: 86~92.
- 18) KIRKPATRICK, B. A. et al. (1998): *J. Invertebr. Pathol.* 72: 63~72.
- 19) 北村治滋ら, (1996): *育種学雑誌* 46: 124 (日本育種学会第90会講演会要旨).
- 20) KOZUMA, K. and T. HUKUHARA (1994): *J. Invertebr. Pathol.* 63: 63~67.
- 21) LEPORE, L. S. et al. (1996): *ibid.* 68: 131~140.
- 22) MITSUHASHI, W. et al. (1998): *ibid.* 71: 186~188.
- 23) 三橋 渡・佐藤 守 (1999): 第43回日本応用動物昆虫学会大会講演要旨: 30.
- 24) 務川重之ら, (1999): *ibid.*: 30.
- 25) 西 八束・野中壽之 (1994): *植物防疫* 48: 469~473.
- 26) O'REILLY, D. R. and L. K. MILLER (1991): *Biotechnology* 9: 1086~1089.
- 27) ROELVINK, P. W. et al. (1995): *J. General. Virol.* 76: 2693~2705.
- 28) SHAPIRO, M. and R. A. BELL (1982): *Ann. Entomol. Soc. Am.* 75: 346~349.
- 29) ——— and E. M. DOUGHERTY (1994): *J. Econ. Entomol.* 87: 361~365.
- 30) ——— and J. L. ROBERTSON (1992): *ibid.* 85: 1120~1124.
- 31) ——— and J. L. VAUGHN (1995): *ibid.* 88: 265~269.
- 32) TANADA, Y. (1956): *ibid.* 49: 52~57.
- 33) ——— (1985): *J. Invertebr. Pathol.* 45: 125~138.
- 34) TUAN, S. and R. F. HOU (1988): *ibid.* 52: 180~182.
- 35) WASHBURN, J. O. et al. (1998): *Biol. Control.* 11: 58~69.
- 36) WANG, P. et al. (1994): *J. General. Virol.* 75: 1961~1967.
- 37) ——— and R. R. GRANADOS (1997): *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 6977~6982.
- 38) ——— (1998): *J. Invertebr. Pathol.* 72: 57~62.
- 39) WEBB, R. E. et al. (1996): *J. Econ. Entomol.* 89: 957~962.
- 40) WIJONARCO, A. and T. HUKUHARA (1998): *J. Invertebr. Pathol.* 72: 82~86.
- 41) XU, J. and T. HUKUHARA (1992): *ibid.* 60: 259~264.
- 42) ——— (1994): *ibid.* 63: 14~18.
- 43) YAMAMOTO, T. and Y. TANADA (1978): *J. Invertebr. Pathol.* 32: 202~211.
- 44) 山本敬司・棚田義式 (1980): *蛋白質 核酸 酵素* 25: 133~142.

便利にご利用いただけます。『植物防疫』専用合本ファイル



本誌1年分(12冊)が簡単に製本できます。

〈本誌名金文字〉

定価 733 円(本体 699 円+税)

送料 390 円

- 書棚を飾る美しい外観
  - 冊誌を傷めず保存ができる
  - 取り外しが簡単にできる
  - ビニールクロスで長期保存ができる
- ご希望の方は、現金・郵便振替で直接本会へお申し込み下さい