

紫外光 (UV-B) 照射によるイチゴうどんこ病の防除

兵庫県立農林水産技術総合センター ^{かんとう たけし まつうら かつなり おがわ たくや} 神頭 武嗣・松浦 克成・小河 拓也
千葉大学大学院園芸学研究科 ^{うさみ としゆき あめみや よしみき} 宇佐見 俊行・雨宮 良幹

はじめに

イチゴうどんこ病は *Sphaerotheca aphanis* (Wallroth) Braun var. *aphanis* によって引き起こされる病害で、昨今の日本国内における主力イチゴ品種は本病に弱いいため、生産現場では本病の防除に苦慮してきた。DMI 剤に対する薬剤感受性低下 (岡山ら, 1994), それに続くストロビルリン剤に対しても薬剤耐性菌の出現 (大関ら, 2006) が報告されてきた。一方, オランダのガラス温室で使用されていた無機硫黄の燻煙技術が日本にも導入され, タイマーでセットするだけで省力的であることから, 全国の農家に普及した。しかしながら, バイブハウスの被覆資材がポリビニル (PV) からポリオレフィン (PO) に替わるに従い, 硫黄による劣化が問題となり, 他の対策が求められるようになった。筆者らは IPM (総合的病害虫管理技術) に組み入れる技術を開発すべく, 液体ケイ酸カリウム水溶液による本病の発病抑制 (KANTO et al., 2004 ; 2006), メチオニンとリポフラビン (ビタミン B₂) 混合水溶液による本病の発病抑制 (神頭ら, 2003) 等の技術を開発してきた。近年では, イチゴの栽培方法も従来の土耕栽培のみならず高設栽培 (養液土耕栽培) も増え, 高設栽培の栽培方式が養液の施用方法, 培地の種類, ベッドの施工方法等から様々な方式が確立され, 液体ケイ酸カリウム水溶液の株元灌注も, それぞれの方式に適用する必要性が生じたが, 個々の生産現場での適用が難しく, 普及が進まなかった。そのような状況の中で, イチゴうどんこ病に対する IPM 技術の充実を図るべく他の物理的防除法を模索する中で, 労力のかからない防除法として「光」に注目しパナソニック電気株式会社と共同で研究を始めた。さらに研究を充実させ, 成果を製品化するため, 大阪府環境農林水産総合研究所のスタッフを加えたチームで農林水産省の「先端技術を活用した農林水産技術研究高度化事業 (現新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業)」に

応募し, 平成 19 年度に採択され, 3 年間事業を実施してきた。今回はその成果 (山田ら, 2008 ; KANTO et al., 2009) の一端を披露し, 「光」による現実的防除が可能となったことをご紹介したい。

I 光源の選択および光照射条件の検討

近年の LED (発光ダイオード) の急速な開発に伴い, 2004 (平成 16) 年ごろより農業生産現場では「青色 LED を用いてイチゴうどんこ病を抑えられる」などの情報が飛び交い, 混乱していた。

一方, 研究レベルでは島根大学のグループが早くから赤色光によって植物に病害抵抗性を誘導できること (ISLAM et al., 2008 ; 荒瀬ら, 2010), 紫外光 (主に UV-A) カットフィルムによって野菜類菌核病 (*Sclerotinia sclerotiorum*) が抑制され, 青色光の夜間照射によってコマツナ黒斑病 (*Alternaria brassicae*) の発病が抑制されること (本田, 1982) が知られていた。また, 海外を中心に実験室レベルで紫外光 (UV-B) によってシロイヌナズナなどモデル植物に病害抵抗性を誘導する研究は知られていたが, RAVIV and ANTIGNUS (2004) が「UV-B 照射によって植物の病害抵抗性が高まると予測されるが, 逆に UV-B によって菌類病に対する感受性が増す事例も報告されており (NAITO et al., 1996), 宿主と病原体の相互反応における UV の作用は複雑で, この仮説を支持する確実な証拠がない。」と記述されているとおり, 実用レベルまで達する研究は見当たらなかった。

そこで筆者らは青色光および紫外光 (主に UV-B) について, イチゴうどんこ病を実用レベルで防除可能か否か検討することとした。まず, ガラス温室において青色光を用いてイチゴうどんこ病に対する発病抑制効果を検討したが, 効果が判然としなかった。次に紫外光 (UV-B) について同様に発病抑制効果を検討した。その結果, 発病を抑制できることが判明したが, イチゴに対し, 生育抑制あるいは葉に日焼け症状を生じた。室内実験によりイチゴうどんこ病を抑制するとともに, イチゴの生育に悪影響 (日焼け症状など) を与えない照射条件を検討した。試行錯誤の末, 発病抑制効果を発揮でき, イチゴの生育に悪影響のない適正な照射条件を 3 KJ/m² (1 日当たり) 以上とする (表-1) ができた。この

Control of Strawberry Powdery Mildew by UV-B Radiation.
By Takeshi KANTO, Katsunari MATSUURA, Takuya OGAWA, Toshiyuki USAMI and Yoshimiki AMEMIYA

(キーワード: 紫外光, UV-B, イチゴうどんこ病, 病害抵抗性誘導, 植物病害防除照明装置)

照射条件を元にハウスにおける照射条件の原案を作成し、実際のビニルハウスで試験を開始した。

II ビニルハウスにおける紫外光照射によるイチゴうどんこ病の発病抑制効果

1 土耕栽培

2006 年、兵庫県立農林水産技術総合センター内ビニルハウスにおいて‘とよのか’、‘章姫’、‘さちのか’、‘紅ほっぺ’を用いて発病前から紫外光 (UV-B) を照射し、その後のうどんこ病の発病状況を経時的に調査した。10 月中旬にイチゴ苗を定植し、ハウスの天井面よりイチゴに対し直下で約 2 m の距離から紫外光 (UV-B) 20 W 型蛍光灯を日中 10 時間毎日照射した。UV-B 照射期間は 2006 年 11 月～07 年 5 月 (栽培終了時) までとした。UV-B 照射量はハウス内のイチゴの株により異なるが、約 1.6～6.4 KJ/m² (1 日当たり平均 4.4 KJ/

m²) であった。各品種各処理ごとに 50 株を定期的に調査した。2006 年内は主に葉を、果実収穫が本格化した翌 07 年 1 月以降は主に果実を調査した。照射区非照射区はハウス内をビニルシートで仕切り、非照射区では UV-B が影響しないように UV-B の紫外線放射照度計で確認のうえ、試験を実施した。その結果、いずれの品種についても発病抑制効果が認められた。代表例として図-1 に‘とよのか’における発病状況の推移を示す。2006 年内は発病が認められなかったため、翌 07 年 1 月以降の発病果率を示す。この間のうどんこ病に対する農薬散布は両区とも実施していない。非照射区で 2 月と 5 月に発病のピークがあり、1 月は非照射区における発病が少なかったことで照射区との差が小さい。この試験では調査全期間を通じて農薬散布をせず、光照射のみで高い防除効果が得られた。

2 高設栽培

2007 年、兵庫県立農林水産技術総合センター内ビニルハウスにおいて試験を実施した。9 月中旬にイチゴ苗を定植し、10 月下旬より UV-B の照射を開始した。高設栽培であるため、天井からイチゴまでの距離は、直下で約 1.5 m、照射時間は日中 4～6 時間 (日焼け防止のため 12 月中旬より時間短縮) とし、0.2～6.5 KJ/m²/日とした。うどんこ病薬剤防除は図-2 の下向き矢印で示すように、6 回、照射区非照射区とも散布した。農薬との併用ではあるが、照射区においては翌 08 年 2 月上旬まで発病をほぼ完璧に抑制した。一方、非照射区では農薬散布を実施していたが、2 月上旬には 5.5% の発病

表-1 イチゴうどんこ病発病抑制のために十分で、かつイチゴに傷害が出ない紫外光照射条件の評価

紫外光照射条件 (KJ/m ² /日)	発病果率 (%)	防除価	日焼け
32	0	100	重度
16	0	100	重度
11	0	100	中程度
6.5	0	100	無
5.4	0	100	軽度
2.5	0	100	無
0 (非照射)	22	—	無

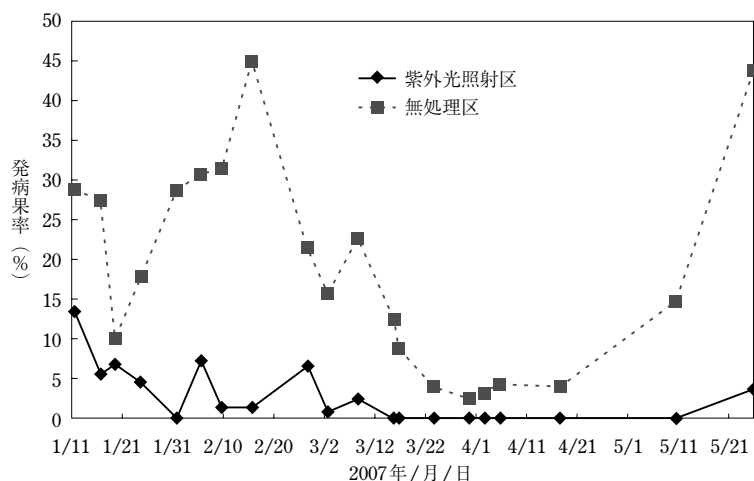


図-1 土耕栽培における紫外光 (UV-B) 照射によるイチゴうどんこ病の発病抑制効果

品種：とよのか、発病前から点灯、うどんこ病に対する薬剤防除は両区ともなし。

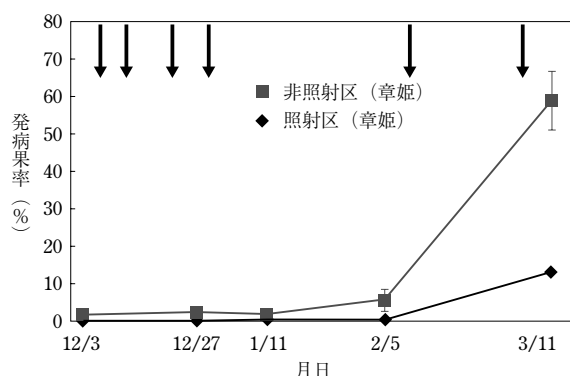


図-2 高設栽培における紫外光 (UV-B) 照射によるイチゴうどんこ病の発病抑制効果

品種：章姫。下向き矢印は殺菌剤散布を示す。紫外光照射はうどんこ病発病前の10月下旬から点灯。

果率となった。最終調査の3月11日には非照射区では発病率が59%と甚発生となったのに対し、照射区では13%に抑制することができた (口絵)。

III 紫外光 (UV-B) 照射によるイチゴうどんこ病発病抑制の作用機構

1 各種病害抵抗性関連遺伝子の転写誘導

実験ブース内 (25℃) において、白色蛍光灯を昼間12時間点灯し、同時に UV-B 蛍光灯を7時～17時まで10時間 (1日当たり 5.4 KJ/m²) 点灯した。対照区として、白色蛍光灯のみの区を設けた。これらブース内で、イチゴ (品種：とよのか) のポット株を10株ずつ栽培した。栽培開始から1, 2, 3日, 1週間, 2週間後に各区1株 (2反復, 計2株) から無作為に3枚の葉を採取し、液体窒素中に投入して瞬間凍結させ乳鉢と乳棒で磨砕した。凍結粉碎した100 mgのイチゴ葉から MANNING (1991) の方法により全 RNA を抽出し、このうちの RNA 10 μg を用いて逆転写反応により cDNA を合成、イチゴの病害抵抗性に関与する各種遺伝子のプライマーを用いて、PCR 反応を行った。反応液をアガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイドで染色した後、写真撮影した。

その結果は図-3に示す。抽出した RNA の電気泳動像と、構成的に発現するグリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素 (GAPDH) 遺伝子のプライマーを用いた増幅産物は、各実験区においてほぼ均一であった。

一方で、PR-タンパク質の一種であるβ-1,3グルカナーゼ (Gluc) の遺伝子が UV-B 照射1日および2日において、オスモチン様タンパク質 (OLP) 遺伝子も、

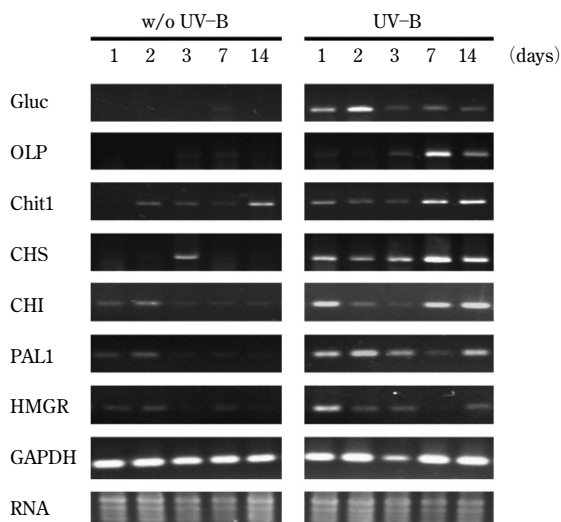


図-3 紫外光 (UV-B) 照射がイチゴ葉における病害抵抗性関連遺伝子の転写に及ぼす影響

RT-PCR による増幅産物の電気泳動像。最下段は逆転写に用いた RNA の電気泳動像。左側：非照射葉、右側：照射葉。上部に照射日数を表示。

UV-B 照射葉内で照射7日において強く転写されていた。キチナーゼ (Chit1) の遺伝子については、UV-B 照射葉の、いずれにおいても転写が認められた。

他の病害抵抗性関連遺伝子については、様々なフェニルプロパノイド生合成系の鍵酵素であるフェニルアラニンアンモニリアーゼ (PAL) の遺伝子、フラボノイド化合物産生にかかわるカルコン合成酵素 (CHS) およびカルコンイソメラーゼ (CHI) の遺伝子が、UV-B 照射葉において強く転写されていた。これらの遺伝子は、非照射葉においても転写されていたが、照射葉に比べてわずかであった。テルペノイド系化合物の産生にかかわる3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル-CoA還元酵素 (HMGR) の遺伝子は UV-B 照射1日で強く転写が誘導されたが、非照射葉でも若干転写が認められた。

2 抗菌性物質の産生誘導

1の実験と同様に UV-B 照射区と非照射区を設け、イチゴ (品種：とよのか) のポット株を1週間栽培した。イチゴ株にイチゴ炭疽病菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*: 兵庫県保存菌株) の分生子懸濁液 (10⁶ conidia/ml) を噴霧接種し (非接種株には滅菌蒸留水を噴霧)、白色蛍光灯を12時間のみ点灯する条件下においた。噴霧72時間後にイチゴ葉を任意に3枚選んで採取し、葉を液体窒素中に投入して瞬間凍結させ乳鉢と乳棒で磨砕後、その400 mgを1 mlのメタノールに懸濁して室温で

静置後、遠心し、上清を別のチューブに移してこれを減圧乾燥し、固形物を $20\mu\text{l}$ のメタノールに再溶解した上で滅菌蒸留水 $180\mu\text{l}$ を加えて混合し、 $200\mu\text{l}$ の粗抽出液とした。

溶解して 40°C に保温した PDA 培地にイチゴ萎凋病菌 (*Verticillium dahliae*) の分生子を 10^7 conidia/ml となるよう懸濁して、直径 45 mm のプラスチックディッシュに分注した。このディッシュ (平板) の中央に直径約 3 mm の穴を開け、穴の底を少量の寒天で封じた。この穴に前述の粗抽出液 $20\mu\text{l}$ を入れて、 25°C で 2 日間培養した後、イチゴ萎凋病菌の生育阻止円を観察した。

その結果、図-4 のように UV-B を 1 週間照射したイチゴ葉の粗抽出液にはなんらかの抗菌性物質が含まれる (イチゴ萎凋病菌の生育阻止円が形成されている) ことが明らかとなった。このような抗菌性物質は UV-B 非照射葉からの粗抽出液には認められなかったため、その産生は UV-B の照射により動的に誘導されたと考えられた。抗菌性物質の産生はイチゴ炭疽病菌の接種によっても誘導されたが、UV-B を照射した場合は、イチゴ炭疽病菌接種の有無にかかわらず、抗菌性物質の産生が誘導された。

以上のように、紫外光 (UV-B) の照射によってイチゴの葉において各種病害抵抗性関連遺伝子の転写が確認されたことおよび抗菌性物質の産生が確認されたことから、「イチゴに病害抵抗性が誘導される」ことが明らかとなった。

IV ビニルハウスにおける植物病害防除照明装置 (商品名：タフナレイ) の使用の実際

本照明装置は亜鉛銅板本体にアルミ反射板が装着されており、これに 20 形専用光源付防水リングが取り付けられる。この光源を図-5 のように 10 a 当たり 30 台、

イチゴ (畝面) から約 2 m の高さで 5 m 間隔に設置する。照射時間は図-6 のとおり午前 9 時～午後 3 時までの 6 時間、毎日照射する。なお、光源とイチゴの距離が近いときは、照射時間を短くする必要がある。基本的に、光の強度と時間によりエネルギー量が決まるので、適切な距離が確保できない場合は、照射時間などで調整する必要がある。専用光源は点灯時間の経過に伴い、光量が低下する。また、照明器具の汚れによっても明るさは大きく減少するので、定期的に専用光源と照明器具の清掃をする。

初期導入費用は、機器費 (工事費別) で 10 a 当たり価格約 120 万円程度である。年間維持費用は、光源代・電気代で、 10 a 当たり約 20 万円程度になると想定している。一方、本病害防除装置 (タフナレイ) 導入により、殺菌剤の散布が 3 分の 1～半分程度以下に抑えられるものと考えており、農薬代として年間 5～10 万円程度は節減できるものと考えられる。

なお、導入にあたっては、製造元 (パナソニック電工株式会社：<http://denko.panasonic.biz/Ebox/tafna-ray/>) に問い合わせ、利用者登録を済ませた後に購入手続をする。

その他、「安全に関する注意」として、本装置の照射光は、目や皮膚など人体へ影響を与える可能性があるため、点灯中には施設内に入室しないことや、点灯中の光源を直接見つめたり、皮膚をさらさないこと。また、「使用上の注意」として、本装置は現在のところイチゴうどんこ病を対象に使用する。他の作物・病害への適用は、公的機関での研究結果を踏まえて検討したい。本装置の作用機構は、イチゴの病害抵抗性を高め、病気にかかりにくくするので、本装置はうどんこ病が発生する前から予防的に使用する。病害発生後から UV-B 照射を開始した場合は、防除効果が低くなるので、農薬との適正な併用により病害を防除する。

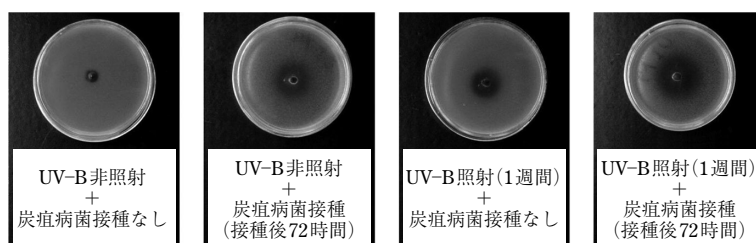


図-4 紫外光 (UV-B) 照射と炭疽病菌接種がイチゴ葉中の抗菌物質産生に及ぼす影響

イチゴ萎凋病菌の胞子を混合した PDA 培地の中心部に各試験区のイチゴ葉粗抽出液を注ぎ、 25°C で 2 日間培養した。粗抽出液に抗菌活性があれば、生育阻止円 (中心の透明部分) が形成される。

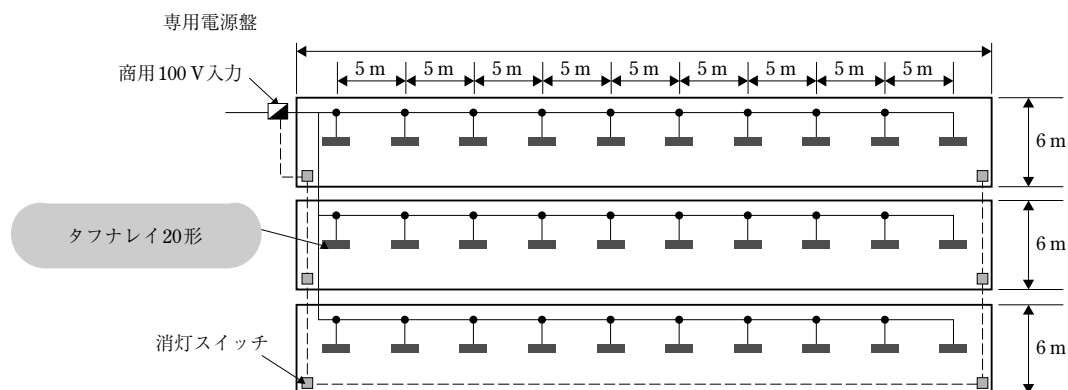


図-5 植物病害防除装置設置方法

取付高さ（畝面～器具取付部）：2 m，取付ピッチ：5 m，取付方向：畝に並行。

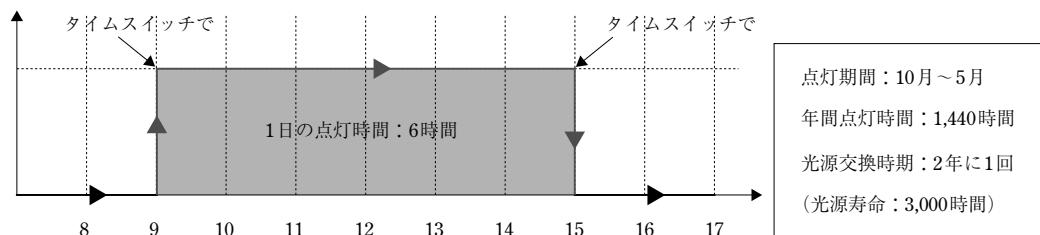


図-6 点灯時間

おわりに

紫外光 (UV-B) はもともと太陽光にも含まれている。ヒトにとってビタミン D 産生のために、UV-B は不可欠であるが、一方、雪目や日焼けを起こす原因でもある。UV-B は植物にとっても重要で、強すぎれば生育抑制などの作用もあるが、適度な放射照度であれば、適度なストレスとなってエリシターとして機能し、病害抵抗性も誘導され、イチゴ果実の着色促進 (OGAWA et al., 2009)、糖度上昇の傾向も認められる。今回、紫外光利用による植物病害防除照明装置が実用化されたが、今後、他作物他病害（大阪府でナスを中心に研究継続中）にも広く応用され、IPM 技術の一つとして、また、果実など農産物の品質向上技術の一つとして利用が高まることを期待したい。

また、明らかとなったイチゴで病害抵抗性が誘導される現象について、実験植物で見られる SAR（全身獲得抵抗性）あるいは ISR（誘導全身抵抗性）と同一であるか否かなど未解明の部分も多く、今後の研究の進展が待

たれる。

最後に、この場を借りて「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」でお世話になった農林水産省関係者の皆様、有識者としてご助言いただいた神戸大学眞山滋志名誉教授、実証試験でお世話になった兵庫県のイチゴ農家の方々、ほか皆様に謝意を表したい。

引用文献

- 1) 荒瀬 栄ら (2010): 植物防疫 64: 511 ~ 514.
- 2) 本田雄一 (1982): 同上 36: 457 ~ 465.
- 3) ISLAM, S. Z. et al. (2008): J. Phytopathol. 156: 708 ~ 714.
- 4) 神頭武嗣ら (2003): 日植病報 69: 296.
- 5) KANTO, T. et al. (2004): J. Gen. Plant Pathol. 70: 207 ~ 211.
- 6) ——— (2006): ibid. 72: 137 ~ 142.
- 7) ——— et al. (2009): Acta Hort. 842: 359 ~ 362.
- 8) MANNING, K. (1991): Anal. Biochem. 195: 45 ~ 50.
- 9) NAITO, Y. et al. (1996): Mycoscience 37: 15 ~ 19.
- 10) OGAWA, T. et al. (2009): 5th International Workshop on Anthocyanins.
- 11) 岡山健夫ら (1994): 日植病報 60: 350.
- 12) 大関文恵ら (2006): 同上 72: 260.
- 13) RAVIT, M. and Y. ANTIGNUS (2004): Photochem. Photobiol. 79: 219 ~ 226.
- 14) 山田 真ら (2008): 松下電工技報 56: 26 ~ 30.