

紫外光照射 (UV-B) によるバラうどんこ病の発病抑制

独立行政法人 農業・食品産業技術
総合研究機構 花き研究所

こばやし みちえ ふじかわ たかし さとう まもる ひさまつ たもつ
小林 光智衣*・藤川 貴史**・佐藤 衛・久松 完

兵庫県立農林水産技術総合センター かん とう たけ し
神 頭 武 嗣

パナソニック株式会社エコソリューションズ社 やまだ まこと いしわた まさき
山田 真・石渡 正紀

はじめに

バラは古くから栽培されている、我が国で最も重要な花きの一つである。*Sphaerotheca pannosa* などによって引き起こされるうどんこ病は、施設栽培されるバラにおいては最も深刻な病気の一つであり、専ら殺菌剤を利用することにより防除が行われている。

一方、イチゴにおいては、紫外光 (UV-B) を利用したうどんこ病の防除が実用化されている。UV-B は地表に到達する太陽光に含まれており (波長 280 ~ 315 nm), 植物に対して、損傷、修復、順化の影響がある (JANSEN et al., 1998; BROSCHE and STRID, 2003)。植物に対する影響は、UV-B の照射強度によっても異なるが、病害抵抗反応を誘導する (STRATMANN, 2003; ROBERTS and PAUL, 2006; DEMKURA and BALLARÉ, 2012)。さらには、UV-B は病原糸状菌の孢子発芽や発芽管の伸長を直接的に阻害する報告もある (WILLOCQUET et al., 1996; PAUL, 2000; AUSTIN and WILCOX, 2012)。太陽光から UV-B を遮断するとうどんこ病の発生が増加することも示されている (KELLER et al., 2003; AUSTIN and WILCOX, 2012)。

本報では、イチゴにおいて実用化されている UV-B 蛍光灯を用いて、バラうどんこ病の防除を目的とした試験を行ったので紹介する。試験方法などについて、詳しくは KOBAYASHI et al. (2013) を参照されたい。

なお、本研究は農林水産省委託プロジェクト研究「国産農産物の革新的低コスト実現プロジェクト」により実施した。

I バラうどんこ病について

バラうどんこ病は茎葉や蕾に発生し、白い粉をふりかけたような斑点症状を示す (図-1)。発病は若い柔らか

い組織が中心であるが、激発すると植物全体に及ぶ。若い葉では葉縁が巻くなどの奇形を生じ、花首では花弁から数センチ下の柄の部分が生じ、花が首を垂れたような形になるペントネックを引き起こすなど、商品価値を著しく低下させる。施設バラ栽培では最大の病害である。

現在、施設では夜間の暖房と昼間の換気を徹底する、被害茎葉は速やかに取り除く、発生初期からの薬剤散布を行う等の防除対策が行われており、著しいコストと労力を必要とすることから、低コストで簡便な防除法が望まれている。

II ランプおよび照射量の測定

紫外光照射には、UV-B 蛍光灯 (YGRFX21701GH, パナソニック株式会社) を使用し、UV-B 強度は紫外線放射照度計 (表示部 X1, 受光部 UV-3702-4, Giga-hertz-Optik 社, ドイツ) にて計測した。また、白色蛍光灯 (FL20SS EX-N/18, パナソニック株式会社) の放射強度については、Light Meter (表示部 X1, 受光部 LI190SA, LI-COR 社, 米国) にて計測した。放射強度の調節には、調光器を用いるか、距離、減光ネットにより調節した。

III UV-B 応答遺伝子の発現解析

挿し木により増殖したバラ品種「ローテローゼ」をプラスチックポットに移植し、温室内で育苗した。3 複葉程度の大きさの揃った植物を 24℃ のインキュベーターに入れ、それぞれ図-2A に示す条件とした。UV-B 照射は、白色光 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 12 時間照射の時間帯の中で、照射開始から 6 時間の間に、約 $0.5 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$ を照射した。光照射開始から 0, 1, 6, 24 時間後に、各植物の主枝から完全展開した葉を採取した。また、UV-B 照射開始から 1, 2, 4 および 8 日目の UV-B 照射開始 0, 6 時間後にも葉を採取した。採取した葉から RNA を抽出し、cDNA を合成し、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) およびカルコンシンターゼ (CHS) の発現レベルを NCBI GenBank に登録されている遺伝子を基に設計したプライマーを用い、リアルタイム PCR 法によって調査した (詳細は KOBAYASHI et al. (2013) を参照)。発

Supplemental UV Radiation Controls Powdery Mildew of Rose under the Greenhouse Conditions. By Michie KOBAYASHI, Takeshi KANTO, Takashi FUJIKAWA, Makoto YAMADA, Masaki ISHIWATA, Mamoru SATOU and Tamotsu HISAMATSU

(キーワード: 紫外線, 防除, バラ, うどんこ病)

現所属: * 公益財団法人 岩手生物工学研究センター

** 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 果樹研究所



図-1 パラウどんこ病

A: 病徴, B: 病原菌の分生子柄および分生子.

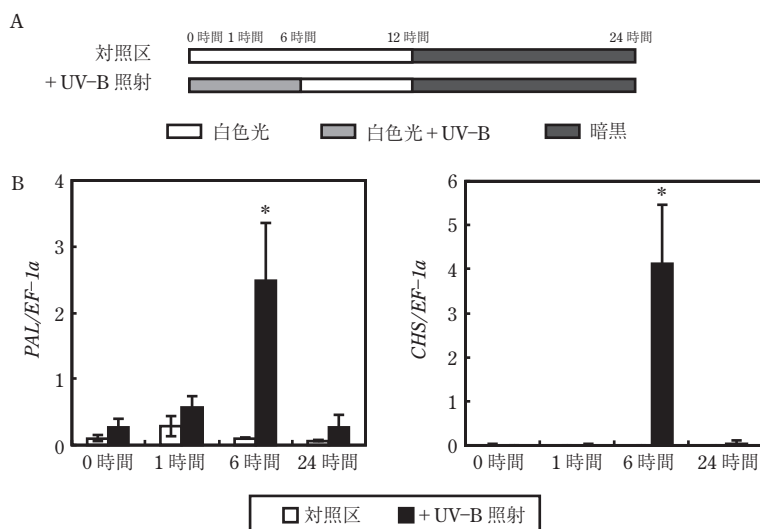


図-2 24時間以内でのUV-B処理の有無がPALおよびCHSの遺伝子発現に与える影響

A: 照射条件, B: EF-1αに対するPALおよびCHSの遺伝子発現.

エラーバーは標準偏差. *はSteel-Dwass法により $P < 0.01$ で対照区との有意差あり.

現レベルは、伸長因子-1α (EF-1α) の発現レベルに対して標準化した。

その結果、両遺伝子ともUV-B照射開始6時間後に高く誘導された。照射1時間後ではPALの発現はわずかに誘導されるのみであった。UV-B消灯後から光照射開始24時間後にかけて転写は低下し、通常のレベルにまで戻った(図-2B)。PALの誘導については、UV-B照射1日目最高2日目以降は低くなり、4日目以降では対照区との有意差は認められなかったが、CHSにおいては、少なくとも8日目までは、対照区との有意

差が認められ、反復的なUV-B照射(刺激)によって誘導されることが確認された(図-3)。葉の日焼けなど、目に見える傷害は観察されなかった。

IV うどんこ病菌の分生子発芽に対する紫外線の影響

品種‘サムライ08’上で形成されたうどんこ病菌の分生子を1.5%の素寒天培地に載せたタマネギ表皮に、筆で払うことによって落下させた。この培地を24℃下に置き、UV-Bをそれぞれ0, 5, 10, 15, 20 $\mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$ の強度で照射した(24時間の総エネルギー量ではそれ

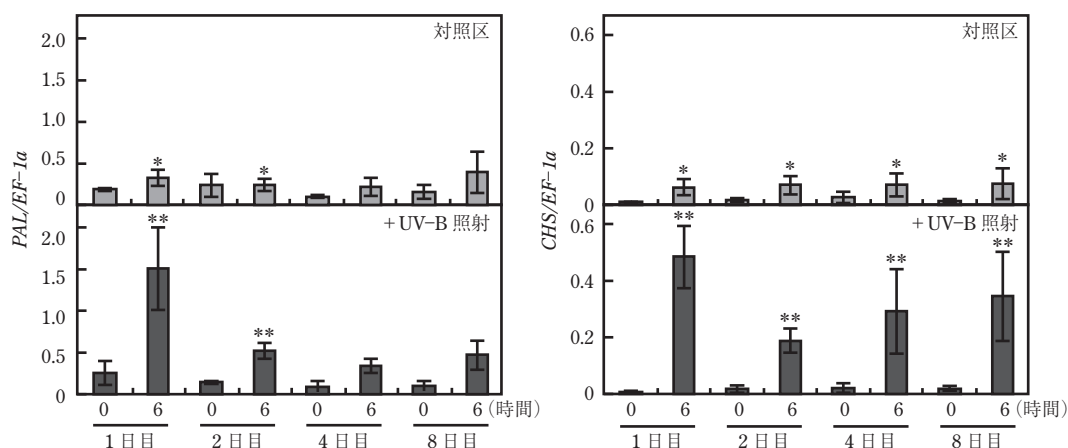


図-3 UV-Bの反復処理がPALおよびCHSの遺伝子発現に与える影響

エラーバーは標準偏差。*はSteel-Dwass法により $P < 0.01$ で同日同時間の対照区とUV区において有意差あり。

**はSteel-Dwass法により $P < 0.01$ で対照区(1日目0時間)との有意差あり。

それ0, 4.3, 8.6, 13.0, 17.3 $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ となる)。24時間後、顕微鏡下で発芽率を計数した。発芽率はUV-B無照射の発芽率を1として補正した。

その結果、バラうどんこ病菌の分生子の発芽は、UV-B照射量が高くなるにつれて低くなった。これは、ブドウうどんこ病菌の発芽がUV-B照射で阻害されるといった報告(WILLOCQUET et al., 1996; AUSTIN and WILCOX, 2012)と同様の結果となった(図-4)。

V UV-B照射によるバラの生育およびうどんこ病の発生

15～25℃管理の温室内でプラスチックポットにて育成したバラ(品種‘バレー’および‘ローテローゼ’) (完全展開葉が4～5枚)を試験に供試した。UV-B蛍光灯を天井から吊り下げ、UV-B強度が6.5～14 $\mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$ の範囲となるよう調整した。照射時間は、夜間UV-B2時間(3:00～5:00)、日中UV-B4時間(10:30～14:30)、日中UV-B6時間(9:00～15:00)、対照区(UV-B照射なし)とした。

照射開始(2010年11月30日)から3週間後(12月21日)に、感染源としてうどんこ病罹病植物を試験区内に等間隔に配置した。感染源を置いてから7, 24および36日後に各区10株以上について発病および草丈の調査を行った。また、照射開始直後の12月2日にも草丈の調査を行った。

その結果、UV-B無照射の対照区では、感染源を置いた7日後にかけ、徐々にうどんこ病が拡大した。夜間UV-B2時間区、日中UV-B4時間区、日中UV-B6時

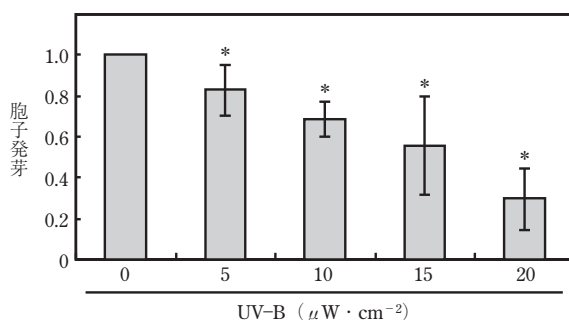


図-4 UV-B照射がバラうどんこ病菌の分生子発芽に及ぼす影響

発芽率はUV-B無照射の発芽率(対照)を1として補正。

*はWilliams法により5%で対照区との有意差あり。

間区では対照区と比較して発病程度は低く、有意差が認められた。特に夜間UV-B2時間区、日中UV-B6時間区では、うどんこ病の発病程度は低かった(表-1)。また、日中UV-B4時間区、日中UV-B6時間区では、若い葉で葉焼けや葉が巻く等の症状が確認された(表-1; 図-5A)。

バラの草丈については、UV-B照射による影響は認められなかった(図-5B)。

おわりに

一連の試験の結果、UV-Bの照射によってバラの防御関連遺伝子が誘導され、バラうどんこ病菌の分生子の発芽を抑制することが明らかとなるとともに、実際に温室

表-1 UV-B 照射方法がバラうどんこ病の発病に及ぼす影響

	バレリー			ローテローゼ			葉の傷害 ^a
	12月28日	1月14日	1月26日	12月28日	1月14日	1月26日	
対照区	3/10 ^b *	6/10 [*]	6/10 [*]	4/10 [*]	5/10 [*]	6/10 [*]	—
夜間 UV-B 2 時間	1/10	1/10	1/10	0/10	0/10	0/10	±
日中 UV-B 4 時間	0/18	2/10	2/10	0/10	2/10	5/10	+
日中 UV-B 6 時間	0/10	0/18	1/18	0/18	0/18	0/18	++

^a — 傷害なし, ± 傷害は認められるが明瞭ではない, + ~ ++ 葉の巻き込み. 図-5 A に典型的な傷害を示す.

^b 発病株数/調査株数.

* χ^2 検定により有意差あり.

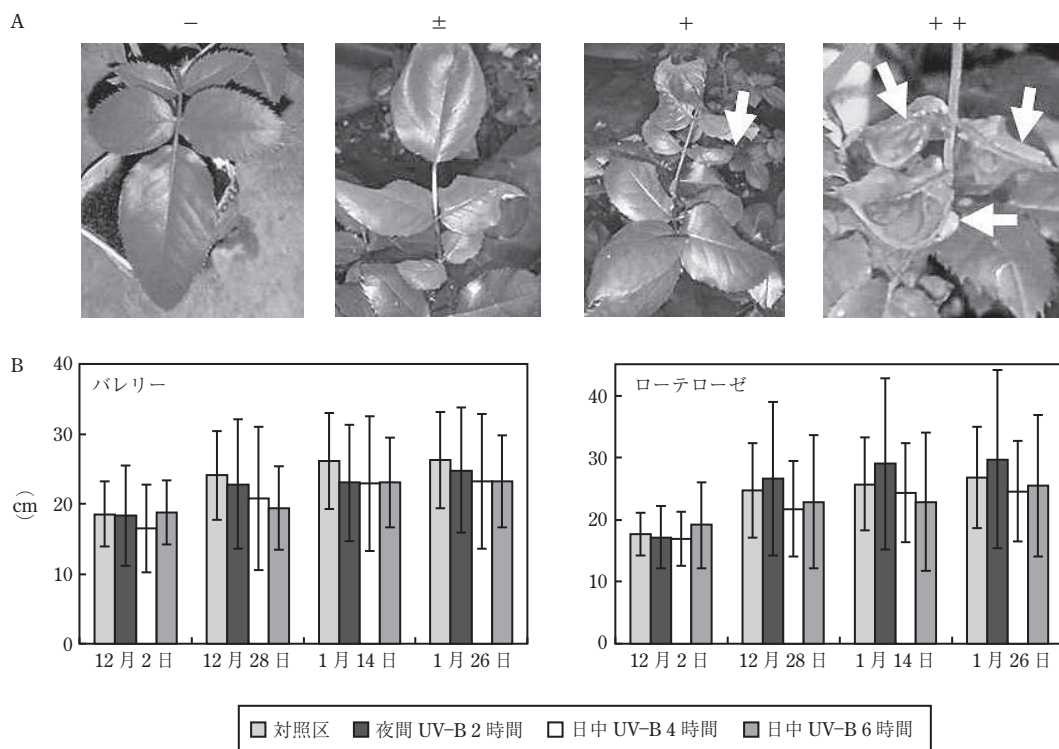


図-5 UV-B 照射がバラに及ぼす影響

A: UV-B による葉の傷害. —: 傷害なし, ±: 傷害は認められるが明瞭ではない, + ~ ++: 葉の巻き込み (矢印: 葉の巻き込み),

B: UV-B によるバラの草高への影響. 左: バレリー, 右: ローテローゼ. 有意差は認められない.

内での防除効果も高いことが明らかとなった。最近では, SUTHAPARAN et al. (2012) は, 暗期の途中で UV-B を照射することによってバラうどんこ病が抑制されることを報告している。彼らは UV-B 照射がうどんこ病菌に直接作用し, うどんこ病の発生を抑制するとしている。このほか, 分生子発芽と菌糸成長に及ぼす直接的な影響としては, 既にブドウうどんこ病でも報告 (WILLOUQUET

et al., 1996; AUSTIN and WILCOX, 2012) されている。これらの報告で使用された UV-B エネルギー量は $56.1 \sim 259.2 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ と高いレベルであった。一方, 我々の研究では $1.0 \sim 3.0 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ という低いレベルにおいてもうどんこ病の抑制が認められた。また, $6.5 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ でのうどんこ病菌の分生子発芽抑制は約 14% であり, 直接的な発芽抑制が唯一の原因とは考えに

くい (データ略)。したがって、直接的な発芽抑制が病害を抑制する唯一の理由とは考えにくい。むしろ、UV 照射によって活性化される宿主植物の防御反応が重要な役割を担っている可能性が高いと考えられる。

最近では UV による植物の防御関連遺伝子の発現についての報告がいくつかあり、それらのうち PAL はフェニルプロパノイド経路の初期段階を触媒し、CHS は下流のフラボノイド生合成経路に関与していることが明らかとなっている。我々の研究においても、UV-B 照射は、PAL および CHS 遺伝子の発現を誘導し、フェニルプロパノイド系の代謝物がバラにおけるうどんこ病の抑制に関与している可能性が考えられた。

実際の防除試験においては、日中に UV-B を 4 時間照射するよりも日中に UV-B を 6 時間照射する条件において病害抑制が高かった。また、夜間の UV-B 2 時間照射が日中の UV-B 6 時間照射と同等の防除効果を示した。この理由として、太陽光下の条件では、UV-B 照射によるうどんこ病防除効果を妨げる因子が働いているものと考えられる。植物では、UV による DNA の損傷が、青色光により修復されることが示されている (LANDRY et al., 1997)。本試験においても、太陽光に含まれる別の波長により、UV によって引き起こされる病害防除反応が抑制されている可能性が考えられた。

うどんこ病は、多くの作物で発生し、問題となっている重要病害の一つである。いくつかの植物では抵抗性遺伝子が単離され利用されているが、観賞用植物では品目・品種が多数あり、それらすべてで抵抗性遺伝子を同定し、導入することは困難である。したがって、防除については殺菌剤の散布に頼ることが多いが、登録農薬が少ないことなどから十分な防除が行われていないのが現状である。

我々の結果は、UV-B が直接および間接的なメカニズムによってバラうどんこ病を抑制することを示した。これに加えて、UV-B がイチゴうどんこ病を抑制する報告 (KANTO, et al., 2009) もあり、今後は殺菌剤だけではな



図-6 ガラス温室におけるバラ栽培の例
矢印: UV-B 蛍光ランプ。

く UV-B 照射もうどんこ病の有用な防除手段の一つとなり得るだろうと考えている。

実際に、現場への導入 (図-6) に際しては、品種によって防除効果や傷害の発生具合が異なることから、細心の注意が必要となる。したがって、現場への導入については、まずは花き研究所をはじめとした本報関係者にご相談いただきたい。

引用文献

- 1) AUSTIN, C. N. and W. F. WILCOX (2012): *Phytopathology* **102**: 857 ~ 866.
- 2) BROSCHE, M. and Å. STRID (2003): *Physiol. Plant* **117**: 1 ~ 10.
- 3) DEMKURA, P. V. and C. L. BALLARÉ (2012): *Mol. Plant* **5**: 642 ~ 652.
- 4) JANSEN, M. A. K. et al. (1998): *Trend Plant Sci.* **3**: 131 ~ 135.
- 5) KANTO, T. et al. (2009): *Acta Hort.* **842**: 359 ~ 362.
- 6) KELLER, M. et al. (2003): *Vitis* **42**: 87 ~ 94.
- 7) KOBAYASHI, M. et al. (2013): *Environ. Control Biol.* **51**: (in press).
- 8) LANDRY, L. G. et al. (1997): *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 328 ~ 332.
- 9) PAUL, N. D. (2000): *Environ. Pollut.* **108**: 343 ~ 355.
- 10) ROBERTS, M. R. and N. D. Paul (2006): *New Phytol.* **170**: 677 ~ 699.
- 11) STRATMANN, J. (2003): *Trends Plant Sci.* **8**: 526 ~ 533.
- 12) SUTHAPARAN, A. et al. (2012): *Plant Dis.* **96**: 1653 ~ 1660.
- 13) WILLOCQUET, L. et al. (1996): *Eur. J. Plant Pathol.* **102**: 441 ~ 449.