

EBC(Evidence-based Control)研究会誌 第18号

-EBC ワークショップ 2024 講演要旨集-

第一部 近年問題となっている重要病害の最新研究

1. リンゴ褐斑病の開花期感染が広域的な発生に及ぼす影響 1
猫塚 修一 【岩手県農業研究センター】
2. 青森県におけるリンゴ黒星病の最新の防除対策とその検証 8
赤平 知也 【(地独) 青森県産業技術センターりんご研究所】
3. カンキツ黒点病に対するマンゼブ水和剤の耐雨性と降雨時における効果発現機構 14
蓮沼 奈香子【日産化学株式会社】
4. ブドウ根頭がんしゅ病菌の生態に迫る 20
川口 章 【農研機構・西日本農業研究センター】

第二部 生産現場での実用例

5. 植物防御によるアザミウマ忌避とプロヒドロジャスモンの実用化 29
安部 洋 【理化学研究所バイオリソース研究センター】
6. LED光源を用いたUV-B照射によるイチゴうどんこ病およびイチゴ炭疽病の抑制 35
内橋 嘉一 【兵庫県立農林水産技術総合センター】

本誌に掲載されている要旨の無断転載を固く禁じます

日本植物病理学会 EBC(Evidence-based Control)研究会
PSJ EBC Workshop

Japanese Journal of Evidence-based Control for Plant Protection

CONTENTS

NECODUKA, S.: Impact of primary infection during the bloom stage on widespread occurrence of apple blotch caused by <i>Diplocarpon coronariae</i>	1
HIRAYAMA, K.: Latest control system for apple scab in Aomori Prefecture and their verification ...	8
HASUNUMA, N.: Efficacy mechanism of mancozeb WP against citrus melanose during rainfall ...	14
KAWAGUCHI, A.: Exploring the ecological biology of the pathogen causing grapevine crown gall ...	20
ABE, H.: Thrips Repellency by Plant Defense and Practical Application of Prohydrojasmon ...	29
UCHIHASHI, K.: The preventive effects of UV-B LED irradiation on strawberry powdery mildew and strawberry anthracnose	35

リンゴ褐斑病の開花期感染が広域的な発生に及ぼす影響

Impact of primary infection during the bloom stage on widespread occurrence of apple blotch caused by *Diplocarpon coronariae*

岩手県農業研究センター 猫塚修一

E-mail: s-nekoduka@pref.iwate.jp

Abstract

Apple blotch (Marssonina blotch), caused by *Diplocarpon coronariae*, is a major disease of cultivated apples in Japan. Here we analyzed the impact of the initiation date of primary infection and disease incidence in the previous autumn (>1% of trees had blotch in late October) on the disease incidence of late epidemics (>25% of diseased trees in late September) of apple blotch in commercial orchards in three regions of Iwate Prefecture over 25 years (1998–2022). From 1998 to 2016, primary infection typically started after the petal fall stage; however, in 2017–2022, primary infection began during the bloom stage. To investigate the risk factors associated with the occurrence of apple blotch during late epidemics, we performed logistic regression analyses with disease incidence of early and late epidemics as response variable and the disease incidence in the previous autumn and the bloom stage infection as explanatory variables. In the orchard-level analyses of 863 orchards, the disease incidence during both early and late epidemics could be explained by a primary infection model that takes into account the presence or absence of infection at the bloom stage and disease incidence in the previous autumn as explanatory variables. These results indicate a strong association of disease incidence during late epidemics with the timing of primary infection in the current year. In particular, infection during the bloom stage infection was identified as a significant risk factor contributing to widespread occurrence of the disease.

リンゴに発生する褐斑病（病原：*Diplocarpon coronariae*）は、黄変落葉を早期に引き起こす主要病害である（図1）。本病菌の生活環は、前年の被害落葉上に形成される子のう胞子が一次伝染源となり、リンゴ葉に一次感染した後、葉上病斑に形成される分生子堆上の分生子によって二次感染を繰り返す。一般の園地では、葉上病斑は8月頃からみられ（流行初期）、9～10月にかけて急激に発病が増加する（流行盛期）。この流行盛期に発病が増加すると果実病斑の発生につながると考えられている。



図1 リンゴ褐斑病の病徴

子のう胞子の飛散は、4月中旬～5月上旬に始まり、5～6月の降水日に数度の飛散ピークが現れる。この一次感染期に合わせて薬剤防除を実施すると、流行盛期の発病抑制効果が認められる。岩手県では一次感染期（落花期～落花20日後）を対象に効果の高い定期散布剤（ジチアノン、マンゼブ剤等）を選択する防除法が2003年に実用化され、その後しばらくは一般園地での発生園地率は低く推移していた。ところが、2017年以降は毎年多発傾向であり、一般園地での初発時期も従来は8月後半であったが、同年以降は6～7月と大幅に早まっている（図2）。

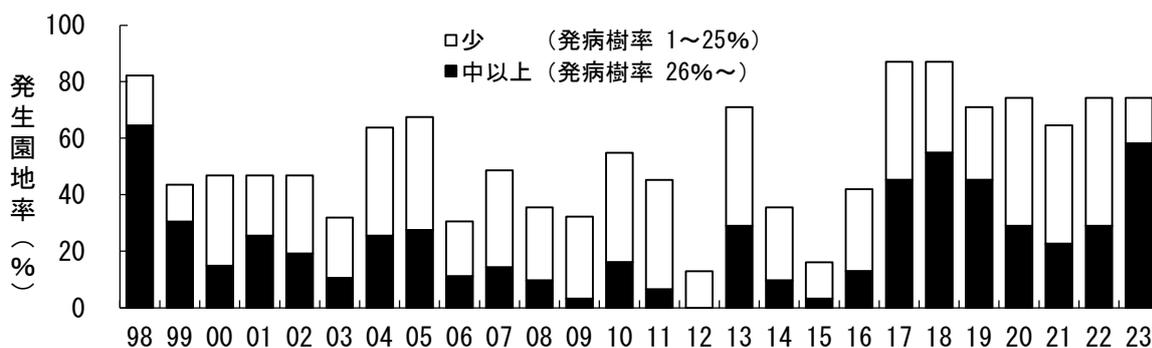


図2 リンゴ褐斑病の年次推移推移(収穫期)

※岩手県病害虫防除所調べ

本病の発生子察は、前年被害落葉からの子のう孢子飛散消長や無防除樹での発病調査に基づき一次感染時期の予測を行っているが、孢子飛散調査には多大な労力を要することや、一次病斑の発生量が非常に少なく病徴も判別が難しいため、感染開始時期や初発時期を正確に捉えることが予察上の課題となっている。

このような背景のもと、我々は、気象データを用いて感染開始時期を推定し発生量との関係を検討することにした。最初に、気象データから一次感染開始日と初発日を推定するモデルを作出した。次に、この推定モデルを用いて過去25年間(1998~2022年)の岩手県内における一次感染開始日を推定し、一次感染開始日の早晚が流行初期と盛期の発生に及ぼす影響を解析した。その結果、近年の一次感染開始日が従来よりも大幅に早い開花期から出現しており(以下、「開花期感染」)、「開花期感染」が流行初期の早期発生や流行盛期の広域的な発生に影響を及ぼしていることが判明した。なお、本研究は日本植物病理学会報で既に報告した(猫塚ら, 2023; 猫塚・藤田, 2024)。

I 気象データを用いた褐斑病の一次感染開始日と初発日の推定モデル

1 推定モデルの概要

我々は、褐斑病の子のう孢子飛散ピークが降水日に出現することに着目し、過去に実施された子のう孢子飛散調査結果を用いて、最初の飛散ピーク(以下、1st ピーク)が出現する降水条件(気温、降雨)を解析し、気象データを用いて1st ピークの出現日を推定するモデルを作出した。次に、感染から発病までの有効積算温度によって潜伏期間を推定するモデルを作出した。これら2つの推定モデルを組み合わせることで、過去の気象データから1st ピーク(≒一次感染開始日と推定)と初発日を推定することにした(図3)。

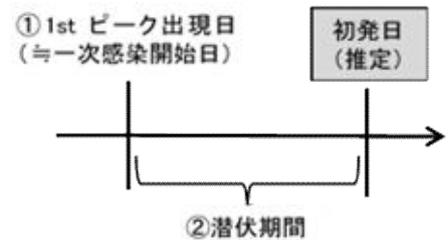


図3 気象データを用いた推定モデル (模式図)

2 1st ピークの推定モデル

供試データは、1998~2020年に7県で実施された子のう孢子飛散調査18事例を用いた。これら調査データは、前年罹病葉を50cm~1m四方の木枠内に敷き詰め、この上に吸引式又は静置式の孢子採集器を設置し、4~6月の捕捉孢子数を光学顕微鏡によって計数したものである。飛散ピーク(P_n)は、全調査期間を通じたピークの値が最大であった日(P_{max})に対しておよそ5%以上捕捉された降水日とし、1st ピーク(P_{1st})は飛散開始日(P_0)から最初に現れたピークとした。非ピークは、 P_0 から P_{1st} の間に出現した降水日(ピークに至らなかった降水日)とした(図4)。

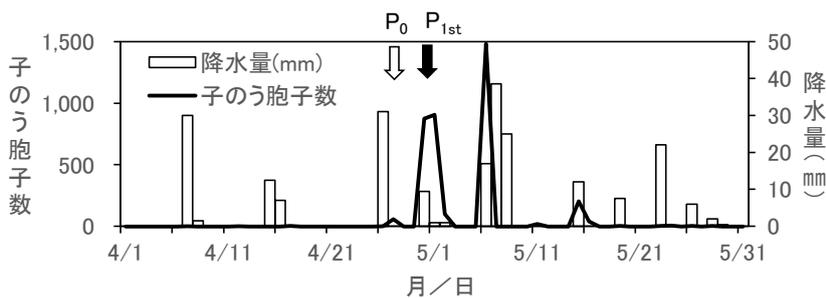


図4 褐斑病菌の子のう孢子飛散消長 (2023年, 岩手県北上市)
 P_0 : 飛散開始日,
 P_{1st} : 1st ピークの出現日

図5Aには、1st ピークの出現時期とリンゴ「ふじ」の生態との関係を示した。1st ピークは開花始期以降に出現し、落花期前後の出現頻度が高かった。図5Bには、子のう孢子飛散開始日から1st ピークの間にあった降水日(1st ピーク18事例、非ピーク58事例)における濡れ時間中の平均気温と濡れ持続時間との関係を示した。濡れ時間中の平均気温と濡れ持続時間は、アメダス気象情報を用いた樹体濡れ時間判断ルール(鈴木ら, 2003)に準じて、1時間当たり0.5mm以上の降水量に基づき算出した。気温が高くなるほど1st ピークの出現頻度が高まる傾向であり、濡れ時間中の平均気温13~14°Cにおいて1st ピークと非ピークが明瞭に分かれた。濡れ持続時間は、1st ピークの出現がすべて6時間以上で見られた。すなわち、濡れ時間中の平均気温と濡れ持続時間において1st ピークと非ピークを判別する閾値の存在が示唆された。

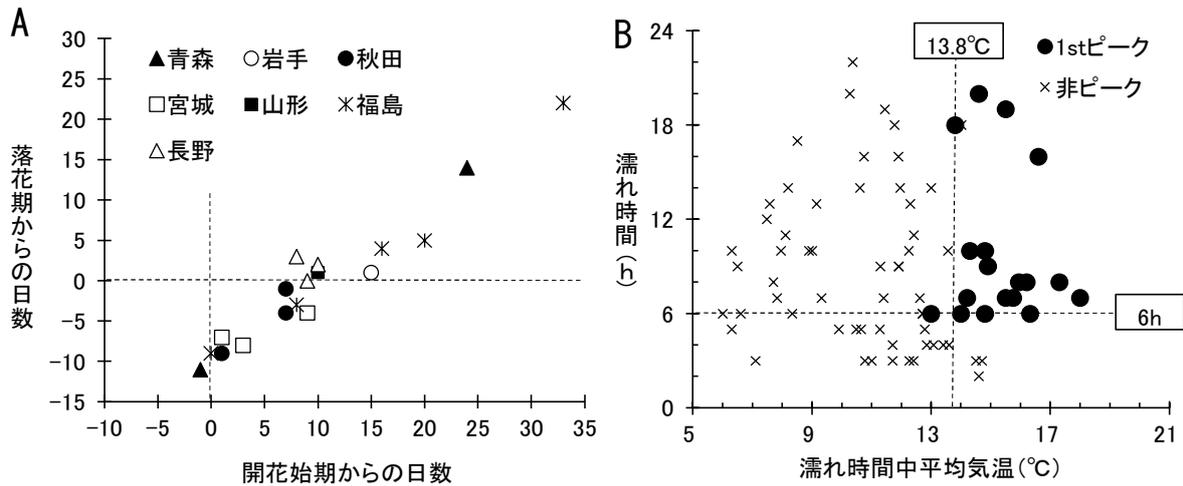


図5 1stピーク出現時期とリンゴ「ふじ」の生態(左)および降水条件(右)との関係
子うの孢子飛散調査18事例(7県)を統合した。猫塚ら(2023)を一部改変。

濡れ時間中の平均気温の閾値を求めるため、感度、特異度、受信者動作特性曲線 (Receiver Operation Characteristic Curve : ROC 曲線) を用いた。これらは臨床検査の診断や機械学習による予測の性能を判定する際に使用されており (阿部, 2021), 本研究でも閾値設定の妥当性や推定モデルの性能を評価するために用いた。予測 (陽性/陰性) と実測 (陽性/陰性) の関係は2×2分割表で表され, 予測の性能は真陽性と真陰性の事例数が多く, 偽陽性と偽陰性が少ないほど良いとされる (表1)。感度は実測での陽性数のうち真陽性の割合, 特異度は実測での陰性数のうち真陰性の割合を示し, これらの値が高いことが検査や予測の性能として求められる。

また, 予測において陽性/陰性を判別する閾値が変わると, 感度と特異度の値も変化することになる。ROC 曲線は, この閾値を様々に変えた場合の感度と特異度の変化を示したグラフであり, y 軸に感度, x 軸には (1 - 特異度) がプロットされ, 感度と特異度の和が最大となる閾値を求めることができる。また, この ROC 曲線での判別能は ROC 曲線下面積 (Area Under the Curve, AUC) により評価することができる。AUC は 0~1 の値をとり, 1 に近いほど判別能が高いことを示す。本研究では, ROC 曲線を用いて濡れ時間中の平均気温の閾値を 13.8°C (AUC:0.977, 感度 : 0.944, 特異度 : 0.931) と特定した (図6)。

降水日における 1st ピークの有無を応答変数, 説明変数として濡れ時間中の平均気温 (13.8°C 以上の有無), 濡れ持続時間 (6 時間以上の有無) とするロジスティック回帰分析を実施したところ, ステップワイズ法により交互作用項のみを説明変数とするモデルが最適モデルとして選択された。すなわち, 1st ピークが出現する降水日は, 「濡れ時間中の平均気温 13.8°C 以上かつ濡れ持続時間 6 時間以上」であると推定された。本モデルの予測の性能は, 1st ピーク/非ピークの予測と実測を判別する 2×2 分割表から, 感度 94%, 特異度 98%, 判別的中率 97% が求められた。判別的中率は全事例に占める真陽性と真陰性の割合を示す (表1)。すなわち, この推定モデルでは, 供試した降水日の 97% が 1st ピークと非ピークに正しく分類されており, 判別力が高いと判断された (表2)。

表1 予測と実測の適合度

		実測	
		陽性	陰性
予測	陽性	A (真陽性)	B (偽陽性)
	陰性	C (偽陰性)	D (真陰性)

感度 = $A / (A + C)$

特異度 = $D / (B + D)$

判別的中率 = $(A + D) / (A + B + C + D)$

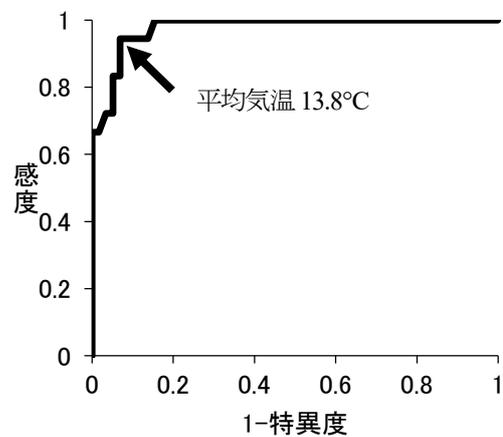


図6 濡れ時間中の平均気温と1stピーク出現に関する ROC 曲線
猫塚ら(2023)を一部改変。

3 潜伏期間の推定モデル

感染から発病までの潜伏期間を推定するモデルは、有効積算温度を推定することにより検討した。有効積算温度は植物病理学でも幅広く適用され、リンゴ黒星病でも潜伏期間の推定に用いられている(浅利, 2008)。有効積算温度法則とは、環境温度 (T°C) と発育期間 (D 日) の間に (1) 式の関係が成り立つことをという(中筋ら, 1997)。この (1) 式を変形した直線式 (2) 式に回帰分析を適用して、潜伏期間の有効積算温度 (K) と発病限界温度 (T₀) を推定することができる。

$$D(T-T_0)=K \cdots \cdots (1) \text{ 式}$$

$$1/D = -T_0/K + 1/K \cdot T \cdots \cdots (2) \text{ 式}$$

仲谷・星 (1999b) は、分生子による感染から発病 (病斑数 90% 形成) までの潜伏期間と温度との関係を示しているので、これを用いて発育速度 (Y) と感染温度 (X) の関係を求めると次のような一次回帰式 (y = -b + ax) が得られた。

$$Y = -0.0292 + 0.0063X \quad R^2 = 0.9351$$

潜伏期間の有効積算温度 (K) は a の逆数 (1/a) で与えられ、発病限界温度 (T₀) は回帰直線が x 軸と交わる点 (b/a) である。これらの関係から求めた潜伏期間の有効積算温度は 159 日°C, 発病限界温度 (T₀) は 4.6°C と推定された (図 7)。

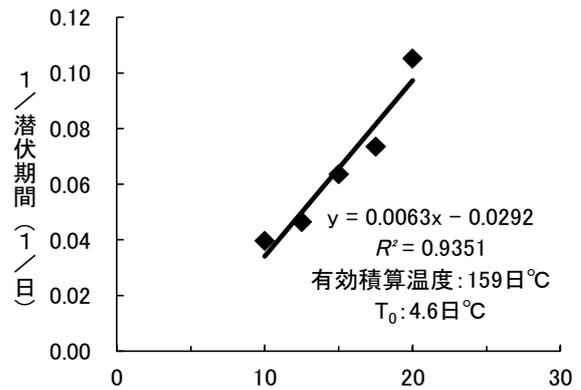


図 7 褐斑病の病斑出現(病斑数 90%)に要する温度と潜伏期間の関係
猫塚ら(2023)を一部改変。

4 一次感染開始日と初発日の推定と検証

1st ピークの出現日 (=一次感染開始日と推定) と潜伏期間を推定する 2 つのモデルを用いて、一次感染開始日と無防除樹での初発日を推定し、圃場曝露での感染開始時期と無防除樹での初発日を比較検証した。その結果、一次感染開始日 (推定) は感染開始時期の実測 (4 事例) の範囲内であった。また、一次感染開始日 (推定) を起算として潜伏期間の有効積算温度に達した日を初発日 (推定) としたところ、無防除樹での初発日の実測と誤差 5 日以内で一致した。

以上から、1st ピーク出現と潜伏期間の両推定モデルを組み合わせることで、過去の気象データから該当年の一次感染開始日と初発日を推定することができた。子のう胞子飛散の 1st ピークが出現する気象条件 (濡れ時間中の平均気温 13.8°C 以上かつ濡れ持続時間 6 時間以上) は、分生子の感染条件の範囲内であることから (仲谷・星, 1999b ; 菅野・尾形, 2006 ; Lian et al., 2021), 子のう胞子でも感染条件である可能性が高いと考えられる。

II リンゴ褐斑病の開花期感染が広域的な発生に及ぼす影響

1 過去 25 年間の一次感染開始日と初発日の年次推移

上記の推定モデルを用いて、過去 25 年間 (1998~2022 年) における一次感染開始日を推定した。図 8 には、岩手県中部における褐斑病の一次感染開始日 (リンゴの生育ステージ) と流行盛期の発生量の年次推移を示した。一次感染開始日が開花期となった年は 13 年間 (52%) であり、2017 年以降は毎年、開花期感染であると推定された。また、開花期感染であった 13 年間のうち 12 年間 (92.3%) において、病害虫防除所による発生量 (発生面積率) の概評が「多」であり、開花期感染と流行盛期の広域的な発生との関連が示唆された。

図 9 には、過去 25 年間、岩手県中部における一次感染開始日 (暦日) と初発日を示した。2017 年以前の一次感染開始日が 5 月 18 日 (平均) であったのに対して、2017 年以降は 5 月 8 日 (平均) であり 10 日間早くなっていた。初発日も同様に、2017 年以前が 6 月 2 日 (平均) であったのに対して、2017 年以降は 5 月 24 日 (平均) であり 9 日間早くなっていた。

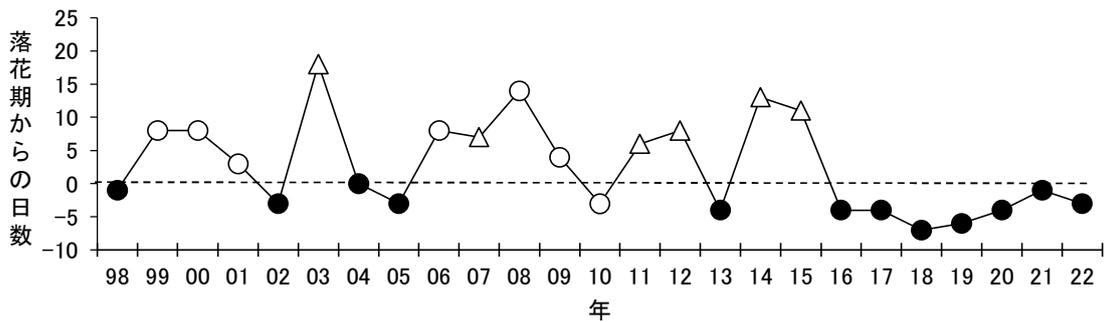


図8 岩手県中部における褐斑病の一次感染開始日と流行盛期の発生量の年次推移
発生量の概評 ●:多, ○:並, △:少. 補助線は落花期を示す. 猫塚・藤田(2024)を一部改変.

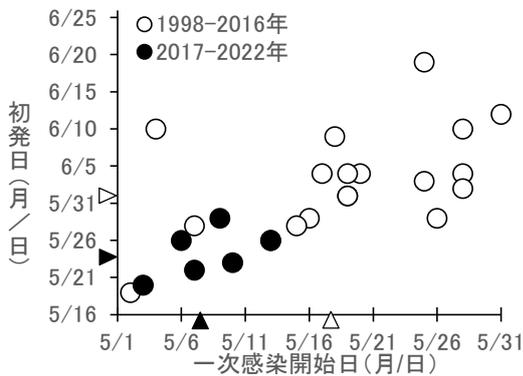


図9 褐斑病の一次感染開始日と初発日の推移
△:1998-2016年の平均日
▲:2017-2022年の平均日

2 褐斑病の流行初期と盛期の発生に関するリスク要因分析

開花期感染が流行初期と盛期の発生に及ぼす影響を明らかにするため、病害虫防除所が過去25年間に実施した巡回調査データを用いたリスク要因分析を行った。巡回調査データは地域の病害虫発生様相を表すビックデータであり、これを用いたリスク要因分析を行うことによって、これまで発生予測が困難であった病害虫についても発生予測上の重要リスク指標が見出されている(猫塚ら, 2009; 田村ら, 2017; 猫塚ら, 2018; 猫塚, 2019; 猫塚ら, 2020)。

褐斑病の発生データには、岩手県病害虫防除所が1998~2022年に岩手県内の31~43園地で実施した巡回調査データ863事例を使用した。この調査データは、品種「ふじ」の新梢葉を対象とし、6~10月に月1~2回調査を行い、発病樹率によって「無」~「甚」の5つの階級で記録されている。流行初期の発生の有無は7月後半~8月後半までの発生程度を「少以上」と「無」の2群に分類した。流行盛期の発生の有無は9月後半の発生程度「中以上」と「少以下」に分類した。これらを応答変数として、ロジスティック回帰分析を行い、一次感染に関わる説明変数である「開花期感染」(一次感染開始日の早晚)と、「前年秋期の発生」(第一次伝染源量)との関連性を検討した。

表4には、流行初期(7~8月)の発生有無に関するロジスティック回帰モデル(一次感染モデル)の要因別オッズ比を示した。「開花期感染」と「前年秋期の発生」は流行初期の発生と有意な関連が認められた。両要因ともに、曝露量が増加するとオッズ比(OR)が高くなる量-反応関係が見られ、流行初期の発生との関連性が強いことが示された。オッズ比が最も高かった要因は「前年秋期の発生(多以上)」であった(OR:16.2)。すなわち、流行初期の発生には「前年秋期の発生」が強く影響し、「開花期感染」が相乗的に作用していることを示唆している。

表5には、流行盛期(9月後半)の発生有無に関するロジスティック回帰モデル(一次感染モデル)の要因別オッズ比を示した。「開花期感染」と「前年秋期の発生」は流行盛期の発生と有意な関連が認められた。両要因のオッズ比はそれぞれ量-反応関係がみられ、流行盛期の発生との関連性が強いことが示された。オッズ比が高かった要因は、「開花期感染(4日以上早い)」(OR:23.3)と「前年秋期の発生(多以上)」(OR:25.8)であった。「開花期感染」は広域的に出現するリスク要因であり、開花期感染年には前年多発園と同等の発生リスクが広域的に出現することを示唆している。また、「開花期感染」のオッズ比は、流行初期のモデル(表4)に比べて流行盛期では大きかった。リンゴ成葉

の罹病性は秋期に急激に上昇する傾向があるため(仲谷・星, 1999a; 星・仲谷, 2000), 「開花期感染」によって一次感染が成立すると, 流行初期(7~8月)には未発生であっても, 流行盛期(9月後半)になると罹病性が高くなり発生しやすくなるためであると考えられる。

表 4 褐斑病の流行初期の発生に関するロジスティック回帰モデルの要因別オッズ比

説明変数	カテゴリ	オッズ比	p 値 ^{a)}
開花期感染	落花期以降	1.0	
	0~3 日早い	2.1	0.02*
	4 日以上早い	4.7	<0.01**
前年秋期の発生	無	1.0	
	少	4.0	<0.01**
	中	6.8	<0.01**
	多以上	16.2	<0.01**

a) Wald 検定において有意(*:p<0.05, **:p<0.01)

※猫塚・藤田(2024)を引用。

表 5 褐斑病の流行盛期の発生に関するロジスティック回帰分析モデルの要因別オッズ比

説明変数	カテゴリ	オッズ比	p 値 ^{a)}
開花期感染	落花期以降	1.0	
	0~3 日早い	9.6	<0.01**
	4 日以上早い	23.3	<0.01**
前年秋期の発生	無	1.0	
	少	3.6	<0.01**
	中	4.2	<0.01**
	多以上	25.8	<0.01**
平均気温(7月)	—	0.9	0.27
(8月)	—	0.8	0.10
降雨日数(7~8月)	—	1.1	0.01*

a) Wald 検定において有意(*:p<0.05, **:p<0.01)

※猫塚・藤田(2024)を引用。

3 開花期感染と春期温暖化の関係

一次感染開始日は, 濡れ時間中の平均気温 13.8°C 以上かつ濡れ持続 6 時間以上の降水日に出現すると推定される。そこで, 県中部(盛岡)において落花期前後の気温を調べると, 平均気温が 13.8°C に到達する半旬は, 2017 年以前は落花期以降(5 月第 4 半旬)であったが, 2017 年以降は開花期(5 月第 2 半旬)に変化していた(図 10)。仙台管区気象台によれば, 東北地方の年平均気温は長期的にみると 100 年あたり 1.3°C の割合で上昇していることが示唆されており, 季節ごとの上昇割合では春期が最も高い。したがって, 近年は春期温暖化によって, 「開花期感染」の発生リスクが高まっていると考えられる。

4 発生予察法の改善

猫塚・藤田(2024)は, 県内 3 地域・25 年間の発生園地率を用いた地域レベルの解析でも, 一次感染モデルを構成する「開花期感染」と「前年秋期の発生量」は流行盛期の発生量「多」(発生園地率の平年値+20%超)と高い関連性があり, 特に「開花期感染」は重要なリスク指標であることを示している。これまで岩手県病害虫防除所では, 流行初期(7~8月)に月 2 回, 31~43 園地で巡回調査を行い, 流行初期(7~8月)の発生園地率を基に流行盛期の発生量を予測してきたが, 気象データを用いた一次感染開始日の推定による予測は巡回調査による予測と同等の精度であることが示されている。さらに, 一次感染開始日の推定が可能となる時期は, リンゴ「ふじ」の落花期(5月)であり, 巡回調査に比べて 2 ヶ月以上も早く予測できるため, 生産現場に早期の予察情報を提供することが可能となる。気象データを用いた一次感染開始日の推定法は, 2024 年から他のリンゴ産県と共同で全国的な適用性を検証する予定となっている。

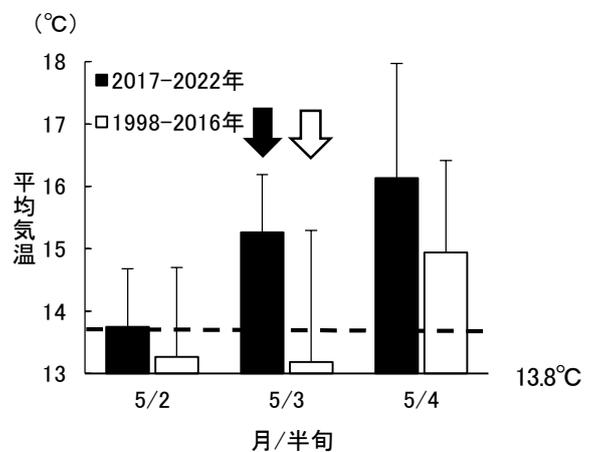


図 10 岩手県中部(盛岡)における落花期前後の気温の推移

矢印は両年代の落花期を示す。補助線は平均気温 13.8°C, エラーバーは標準偏差を示す。猫塚・藤田(2024)を引用。

5 防除対策の見直し

近年の「開花期感染」に対応するため、令和6年から褐斑病の新たな防除時期として「開花直前」を設定し、黒星病防除剤の中からオンリーワンフロアブル(DMI 剤)を選択することによって一次感染期防除を強化した。また、初発時期も早まっているため、6月中・下旬にはユニックス顆粒水和剤47を特別散布することによって二次感染期防除を強化した(表6)。

表6 褐斑病を重点対象とした防除体系

防除時期	散布別	薬剤名 (商品名)	防除対象
開花直前	定期	オンリーワンフロアブル	一次感染
落花期～ 落花20日後	定期	デランフロアブル ラビライト水和剤	
6月中・下旬	特別	ユニックス顆粒水和剤47	二次感染
7月上旬	定期	パスポート顆粒水和剤	
7月中旬	特別	トップジンM水和剤/ベンレート水和剤	
8月以降	特別	トップジンM水和剤/ベンレート水和剤	

太字：令和6年から新たに採用した防除時期・薬剤

おわりに

本研究では、気象データを用いた過去25年間の一次感染開始日を推定することによって、2017年以降の早期多発生に関与するリスク要因が、春期の温暖化を背景とした「開花期感染」であることを見出した。この知見に基づき、「開花期感染」に対応した一次感染期防除(開花直前～落花20日後)へと見直しを行い、現在その効果を検証している。さらに、「開花直前」は黒星病等の他病害の重点防除時期であるため、今後は同時防除を考慮に入れた総合防除体系へと発展させる必要がある。

一方、岩手県内では、褐斑病が多発するようになった2017年と同時期(2015年)から黒星病も多発するようになっている。本病についても同様の手法によりリスク要因分析を行ったところ、近年の春期温暖化によって一次感染が早まっており、従来の「開花直前」防除だけでは防除困難となっていることを見出した(猫塚ら, 2020)。そこで、黒星病の早期感染に対応した防除対策を検証し、「花蕾着色期」防除の有効性が明らかになった(猫塚, 2024)。

近年の気候変動による病害虫の発生時期や防除時期の変化は他作物でも存在する可能性がある。本事例が、気候変動による病害虫発生への影響評価とこれに基づく防除対策の再構築の手法として参考になれば幸いである。

引用文献

- 1) 阿部真人 (2021): データ分析に必須の知識・考え方 統計学入門, ソシム, 東京, pp.301～325.
- 2) 浅利正義 (2008): 北日本病虫研報 **59**: 99～102.
- 3) 星 伸枝・仲谷房治 (2000): 北日本病虫研報 **51**: 129～132.
- 4) 菅野英二・尾形 正 (2006): 北日本病虫研報 **57**: 100～104.
- 5) Lian, S. et al. (2021): Plant Dis. **105**: 1057～1064.
- 6) 中筋房夫 (1997): 害虫防除, 朝倉書店, 東京, pp. 46～48.
- 7) 仲谷房治・星 伸枝 (1999a): 北日本病虫研報 **50**: 85～88.
- 8) _____・_____ (1999b): 北日本病虫研報 **50**: 89～91.
- 9) 猫塚修一ら (2009): 日植病報 **75**: 314～322.
- 10) _____ら (2018): 北日本病虫研報 **69**: 72～76.
- 11) _____ (2019): 植物防疫 **73**: 698～702.
- 12) _____ら (2020): 北日本病虫研報 **71**: 90～96.
- 13) _____ら (2023): 日植病報 **89**: 215～224.
- 14) _____・藤田章宏 (2024): 日植病報 **90**: 14～21.
- 15) _____ (2024): 北日本病虫研報 **75** (印刷中)
- 16) 鈴木剛伸ら (2003): 長野農総試報 **6**: 19～28.

青森県におけるリンゴ黒星病の最新の防除対策とその検証

Latest control system for apple scab in Aomori Prefecture and their verification

青森県産業技術センターりんご研究所 平山 和幸

kazuyuki_hirayama@aomori-itc.or.jp

Abstract

Following the outbreak of DMI-resistant apple scab in Aomori Prefecture in 2016, primary infection period of this disease was reexamined and bioassays for the evaluation of curative effects of fungicides was carried out. Seasonal abundance of dispersal of ascospores showed that the primary infection period is from the bud burst stage (mid- to late April) to the petal-fall stage (early June). Bioassays to evaluate the curative effects of fungicides typically used to control apple scab revealed that iminoctadine triacetate, inpyrfluxam, pydiflumetofen, ipflufenquin, fluopyram, fluxapyroxad, and cyprodinil exerted curative effects against *V. inaequalis*. Particularly, iminoctadine triacetate, inpyrfluxam, and pydiflumetofen exhibited excellent efficacy. In 2021, we established a highly effective spray calendar for apple scab by placing iminoctadine triacetate, SDHI, DHODHI, and AP, which showed curative effects, during the primary infection period. Since the widespread use of this spray calendar, the incidence of apple scab has decreased. To prevent the spread of apple scab due to the development of fungicide resistance, thorough resistance risk management is necessary, as follows: limiting the number of times each class of single-site inhibitors are used or encouraging combinations with other chemical classes; continuous monitoring allows early detection of changes in pathogen sensitivity; decreasing fungal density through cultural control such as scabbed leaf removal. Furthermore, in case sensitivity shift or resistance is detected, alternative control measures must be determined in advance to prevent outbreak in the field.

りんごでは、農薬を使わずに栽培した場合、90～100%減収することが報告されており、高品質リンゴの安定生産のためには病害虫防除は極めて重要である(日本植物防疫協会, 2008)。青森県では1918年(大正7年)に現在のりんご病害虫防除暦の原型となる苹果(へいか)病害虫防除暦が作成され、以降100年以上に渡って毎年更新されてきた(木村, 2022)。防除暦はスケジュール散布を基本として、時期別に発生する複数の病害を同時防除できるよう適した薬剤が選択制にして配置されている。生産現場で問題となる病害と新規薬剤の普及、そして薬剤耐性菌の顕在化は関連性が高い。ここではりんごの主要病害である黒星病を例に紹介する。

1. 青森県におけるリンゴ病害虫防除暦～リンゴ黒星病編～

(1) リンゴ黒星病の発生生態

リンゴ黒星病は、子のう菌類 *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter によって引き起こされ、リンゴの生産に最も大きな被害を与える病気の1つである。本病は、春季が冷涼・多湿、夏季に雨が頻繁に降る地域で多発する (MacHardy, 1996)。感染は葉、果実、果柄や枝で生じ、褐色で円形～不定形の病斑を形成する。本菌はヘテロタリックで、罹病落葉上で有性生殖によって形成される偽子のう殻で越冬する (Bowen et al., 2011)。偽子のう殻内で形成される子のう胞子は、春先の降雨によって射出され、葉や果実に感染する。分生子は、罹病した葉や果実の病斑上で無性生殖によって形成され、降雨とともに分散し、二次感染を繰り返す。冬季に積雪がない比較的温暖な地域では、罹病枝や芽の中で菌糸で越冬する場合もある (Holb et al., 2004)。この場合、偽子のう殻(子のう胞子)を形成せず、分生子のみで分散する。本サイクルは青森県のような積雪地域の野外条件では見られることはなく、前述の罹病落葉での越冬が主である。

(2) 黒星病防除の変遷

青森県において、本病は1969年(昭和44年)に県南地域で発生が初めて確認され、以降発生地域を拡大し、1972年には津軽地域にも広がり、青森県全域での発生となった。発生当初は黒星病を「根絶」するために、薬剤防除だ

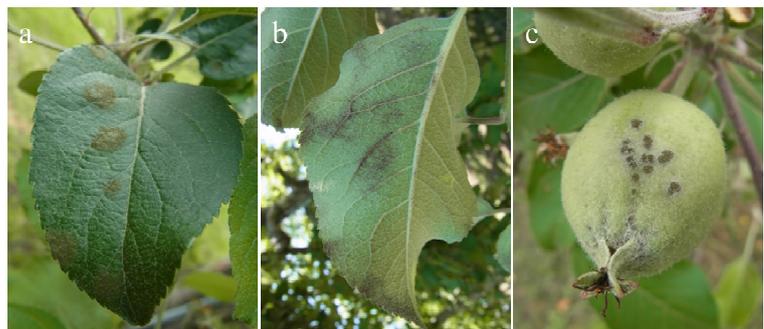


図1 リンゴ黒星病の病徴

けでなく、多発樹の伐採・焼却等の対策も施したが根絶には至らなかった。当時、黒星病は防除暦で対象病害には指定されておらず、発生地域ではジクロンチウラム剤、有機銅剤やキャプタン剤といった予防剤を「芽出し当時」～「9月中旬」まで7～10日間隔の散布で防除された。その後、全県で発生が確認された翌1973年には防除暦で黒星病対策の強化が図られた。特に、黒星病に対し高い効果が得られていたメチルベンゾイミダゾールカーバメート(MBC)のチオファネートメチル水和剤を本病の重点防除時期とした「開花直前」～「落花20日後頃」に10日間隔で4連続散布を指導した。1974年には、同じくMBC剤であるベノミル水和剤も採用され、卓効を示すこれら薬剤の使用により、黒星病の発生は減少した。しかし、数年のうちに再び黒星病の発生が見られるようになり、MBC剤に対する耐性菌の発生が疑われた。1978年から黒星病菌のMBC剤に対する感受性検定が実施され、県内広域で耐性菌の発生が認められたため、1983年には黒星病防除剤から削除される事態となった。それにより再び予防剤のみの防除体系に戻る事となった。1987年、浸透、浸達や浸透移行性が期待されるステロール脱メチル化阻害(DMI)剤が防除暦に採用された。当初からDMI剤は耐性発達リスクを伴うことが知られていたため、使用は最も防除効果が期待される「落花直後」の1回に制限された。しかし、天候によってはDMI剤の防除効果が十分に発揮されず、多発する年もあった。そのため、使用回数や予防剤との混合剤の使用について検討を繰り返し、1996年には「開花直前」にDMI単剤、「落花直後」と「落花15日後頃」にDMI混合剤を配置したDMI剤3回散布体系を普及させた。本体系になって以降、黒星病の発生は少なく抑えられた。

しかし2016年、小康状態を保ってきた本病が大発生し、発生面積(12,418ha)は結果樹面積(19,910ha)の6割を占め(図2)、被害果率80%を超える園地もみられるなど甚大な被害を受けた(赤平ら, 2017)。発生園地の聞き取り調査では概ね防除暦に準じた防除が実施されていたことから、重点防除時期の基幹防除剤として使用してきたDMI剤に対する耐性発達が疑われた。そこで、生物検定や薬剤添加培地を用いた感受性検定を実施したところ、薬効低下や感受性低下が認められた。また、県内広域から採取した黒星病菌について感受性検定をしたところ、広域でDMI剤に対する感受性の低下が確認された(平山ら, 2017)。本結果を受け、緊急対応として翌2017年の防除暦からDMI剤の使用を停止し、コハク酸脱水素酵素阻害剤(SDHI剤)であるベンチオピラド水和剤、アニリノピリミジン系殺菌剤(AP剤)であるシプロジニル水和剤、マンゼブ剤やチウラム剤を代替薬剤として採用した。これにより黒星病の発生は減少したものの、沈静化には至らず、2018年には発生面積(14,584ha)が栽培面積(19,900ha)の7割を超えた(図2)。これは青森県の防除様式の特長も関連する。本県では前述のとおりスケジュール散布を基本とした薬剤散布が実施されている。また、地域ぐるみの防除を念頭に複数の農家が集まった共同防除組織を設立し、組織として薬剤散布等を実施しており、大きな組織では1回の薬剤散布に2～3日も要する。そのため、天候に合わせた防除の有効性は理解しつつも、スケジュール散布をせざるを得ない状況がある。そして、予防剤主体の防除体系では天候によって防除しきれない場合があるため、DMI剤に代わる治療剤の検索・採用が求められた。

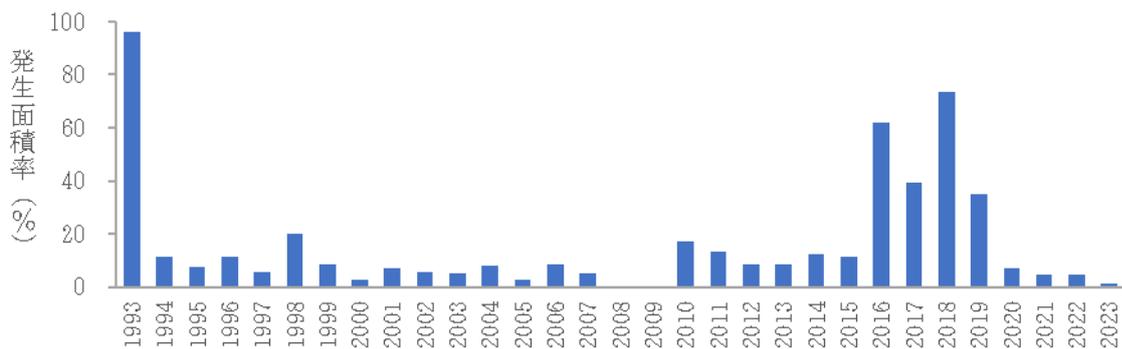


図2 青森県におけるリンゴ黒星病の発生推移(青森県有害動物植物発生予察年報)

2. DMI 剤に代わる治療剤を配置した新しい防除体系の構築に向けて

(1) 治療剤の検索

効率的な黒星病防除体系の構築には、すでに黒星病に対して耐性が発達しているMBC剤やDMI剤と交差耐性を示さない、異なる作用機序で治療活性を有する殺菌剤が必要である。2000年代以降に上市された第3世代SDHI剤や2020年に上市されたジヒドロオロト酸脱水素酵素阻害剤(DHODHI)であるイプフルフェノキン水和剤が候補として挙げられた。また、先行

研究から治療活性が示唆された AP 剤であるシプロジニル水和剤やイミノクタジン酢酸塩液剤も有望であった (Fiaccadori, 2018; 雪田, 2019). 2019 年から 2021 年の接種試験の結果(図3)から, イミノクタジン酢酸塩液剤, SDHI 剤ではインピルフルキサム水和剤, フルオピラム水和剤, ピジフルメトフェン水和剤とフルキサピロキサド水和剤, DHODHI 剤ではイプフルフェノキン水和剤, AP 剤ではシプロジニル水和剤が黒星病に対する治療活性を有することが明らかとなった. 特に, イミノクタジン酢酸塩液剤, インピルフルキサム水和剤, ピジフルメトフェン水和剤の効果が高かった (Hirayama, 2022). 複数の系統で治療効果が認められたことは, 耐性菌対策を講じる上で重要なポイントとなる.

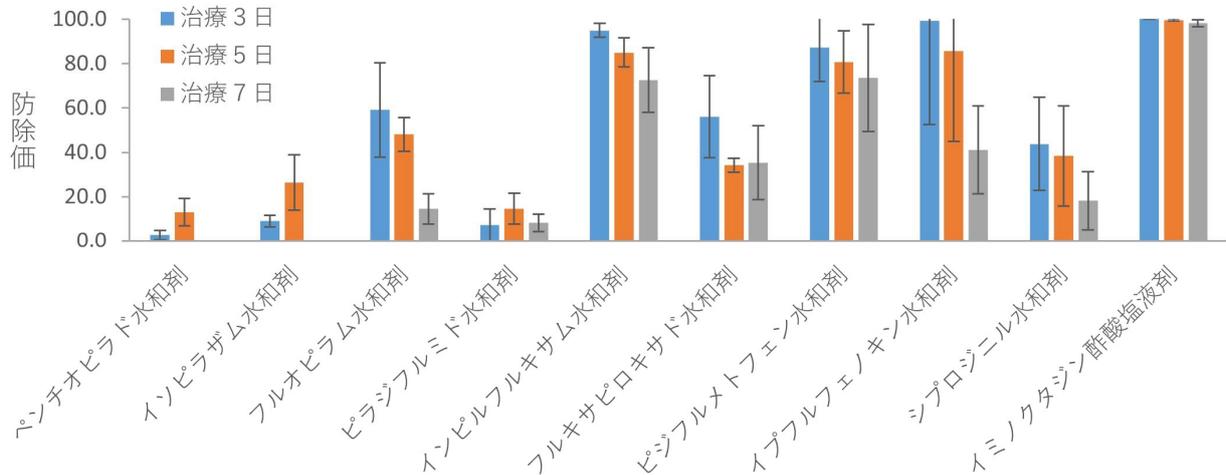


図3 リンゴ黒星病に対する各種殺菌剤の治療効果

試験には 1/5000 ワグネルポット植え‘ふじ’を用いた. 接種は6月上旬(2020 年, 2021 年)又は8月上旬(2019 年)に実施し, 接種3日後, 5日後又は7日後に各種薬剤をハンドスプレーを用いて散布した. 調査は接種の約3週間後に以下の発病指数別に実施した.

発病指数 0:発病なし, 1:病斑面積が葉面積の 1/4 未満, 2:同 1/4~1/2, 3:同 1/2 以上

(2) 治療剤の効果的な使用のための重点防除時期の再評価

黒星病は子のう胞子による一次感染の防除が最も重要である. 青森県では子のう胞子の飛散時期が 4 月中旬~6 月上旬頃であり, 5 月中旬頃が最も飛散量が多くなることが明らかにされ (新谷, 1996), 重点防除時期を「開花直前」(5 月上旬頃)から「落花 15 (20) 日後頃」(5 月下旬~6 月上旬頃)として対策を講じてきた. しかし近年, 温暖化の影響からリンゴの生育ステージも早まる傾向にあり, 黒星病菌の子のう胞子飛散時期についても再評価が必要であった. そこで 2016~2018 年, りんご研究所内の殺菌剤無散布圃において吸引式胞子採集器を用いて, 子のう胞子の飛散消長を調査した. 子のう胞子飛散の初確認は 4 月 3~13 日, 最も多く飛散した最盛日は 4 月 24~28 日, 終息日は 6 月 2~13 日と 3 か年とも類似した消長を示した (平山ら, 2019). 本結果から子のう胞子飛散の早期化が示唆され, 重点防除時期も「展葉1週間後頃(4月下旬)~「落花 20 日後頃(6月上旬)」と時期を改めた. また, 子のう胞子飛散の最盛日では当年の総飛散量の約半数が飛散しており, 最盛日となる「開花直前」の前後の防除が最も重要と考えられた. また, 子のう胞子の飛散に関する調査は世界中でこれまでも実施されており, 本結果は Rossi et al. (2000) の子のう胞子飛散の累積日度モデルに概ね合致した.

3. 新しい防除体系の普及とその後

2021 年, 黒星病対策を強化し, 重点防除時期に異なる系統の治療剤を配置した新しい防除体系が普及に移された(表1). 複数の治療剤を配置したことで, 10 日間隔のスケジュール散布においても, 天候の影響を受けにくい体系が構築された. さらに, 治療剤は異なる4系統を用いており, 十分な耐性菌リスク管理がなされた. 本体系が普及に移されてから今年で4年目となるが, 黒星病の発生は少なく推移しており, 本体系の有効性が示唆される(図2).

表1 リンゴ黒星病対策を強化した新たな防除体系とこれまでの防除体系

新たな防除体系(2021～)				DMI剤を利用しない防除体系(2017～)			DMI剤を利用した防除体系(～2016)		
回数	散布時期	基準薬剤(殺菌剤)	希釈倍数	回数	散布時期	基準薬剤(殺菌剤)	回数	散布時期	基準薬剤(殺菌剤)
1	展葉1週間後頃	イミノクタジン酢酸塩液剤	1,000倍	1	展葉1週間後頃	イミノクタジン酢酸塩液剤	1	展葉1週間後頃	イミノクタジン酢酸塩液剤
2	開花直前	フルオピラム水和剤	4,000倍	2	開花直前	SDHI剤 ペンチオピラド水和剤	2	開花直前	DMI単剤
		インピルフルキサム水和剤	4,000倍						
		インピルフルキサム水和剤	4,000倍						
		ピラジフルミド水和剤	2,000倍						
3	落花直後	イブフルフェノキソ水和剤	4,000倍	3	落花直後	SDHI剤 シプロジニル水和剤 + チウラム剤 又はマンゼブ剤	3	落花直後	DMI混合剤
		ジチアノン水和剤	1,500倍						
		又はチウラム水和剤	500倍						
4	落花10日後頃	シプロジニル和剤	2,000倍	4	落花10日後頃	チウラム剤 又はマンゼブ剤	4	落花15日後頃	DMI混合剤
		チウラム水和剤	500倍						
5	落花20日後頃	又はマンゼブ水和剤	600倍	5	落花20日後頃	チウラム剤 又はマンゼブ剤	5	落花20日後頃	DMI混合剤
		ジチアノン水和剤	1,500倍						
		又はチウラム水和剤	500倍						
		又はマンゼブ水和剤	600倍						

a) 新たな防除体系の中のゴシツは黒星病に対して治療効果を有する薬剤

(赤平, 2022 から転載)

4. 同じ失敗を繰り返さないために～耐性菌リスク管理～

青森県の黒星病防除において、MBC 剤や DMI 剤で耐性菌が顕在化し慣行防除園における多発を許してしまった。今後、同じ失敗を繰り返さないよう耐性菌が顕在化した要因の解析、そして今後新たに耐性菌の顕在化が懸念された場合の対策を講じなければならない。

(1) MBC 剤・DMI 剤耐性の出現について

MBC 剤は最初の単作用点殺菌剤であり、1969 年にウリ科うどんこ病(Schroeder and Provvidenti, 1969)で上市後間もなく耐性が報告された。現在では 90 以上の植物病原菌で耐性が報告され、耐性リスクの高さが示唆される。青森県でも 1973 年の普及後、1978 年には黒星病で耐性菌が検出された。本耐性の発達は、黒星病の多発状況下(菌密度が高い)で、重点防除時期に単用での4回連続散布が大きく関与したと推察される。このような単作用点阻害剤の連続散布は人為的な耐性選抜に繋がるため、注意が必要である。

リンゴ黒星病における DMI 剤耐性菌の発生は 1986 年にフランスで初めて確認されて以降(Thind et al., 1986)、欧米における発生が相次いで確認されている(Köller et al., 1997; Kunz et al., 1997)。DMI 剤では、総使用回数の増加に伴い感受性の低下が進むとされ(Gao et al., 2009)、DMI 剤を年間回数回連用することにより 6 年で防除効果の低下が始まり、10 年後には防除効果が失われたことが報告されている(Hildebrand et al., 1988)。一方、青森県では 1987 年に DMI 剤が普及して以降、2016 年に至るまで耐性菌は検出されておらず、約 30 年の間感受性を維持した。これは作用機序の異なる成分との混合剤という形式にしたことが耐性発達の遅延に寄与したものと推察される。このように混合剤を使用するという選択は優れた対策であったと考えられる。ここでの問題は耐性菌の顕在化が想定されているにも関わらず、対応が後手に回ってしまったことである。この経験を活かし、実害を出さない対策をとっていかなければならない。

(2) モニタリング調査

耐性菌リスクを管理する上で、病原菌の各種薬剤に対する感受性の変化を早期に捉えることが重要である。そのためには、継続的なモニタリング調査が必須であり、それぞれの菌種や薬剤に合った手法を選択する。モニタリング手法は Fungicide Resistance Action Committee (FRAC; <https://www.frac.info/>)でまとめられているので参考にされたい。青森県では、黒星病の SDHI 剤及び DHODHI 剤に対するモニタリング調査を実施し感受性の変動を評価している。これまで両系統に対する感受性低下は確認されておらず、今後もモニタリング調査を継続する予定である。また、すでに耐性菌が顕在化し黒星病防除剤として使用を停止した MBC 剤、DMI 剤及び QoI 剤に対するモニタリング調査も実施し、使用停止後の感受性変化についても評価している。残念ながら、いずれの系統においても感受性の回復は認められず、耐性菌の割合が高止まりしていることが明らか

かとなった(平山, 2024).

(3) 感受性低下が懸念される場合の対応

生産現場における病害の多発を未然に防ぐためには、感受性低下を想定し、状況に応じた対策を事前に決めておくことが重要と考えられる。感受性低下の段階とは薬効低下や実害が生じる前を意味し、本段階での防除対策の変更には関係機関の理解と連携が必要である。対策としては、代替剤の使用、または異なる系統の混合剤の使用や現地混用であり、これらを防除対策の一つとして挙げておく、または即時普及に移せるよう準備しておかなければならない。青森県では、黒星病、モニリア病とうどんこ病を防除対象とする「開花直前」にSDHI単剤を使用しており、将来的に感受性低下・耐性の発達が懸念される。現在、黒星病で感受性低下が生じた場合に備え、SDHI剤と保護剤の混合剤を代替策として使用できるよう準備を進めている。なお、本県では耐性菌対策として、SDHI剤をはじめとした単作用点阻害剤の使用は年1回と厳しい使用制限をしている。

(4) 耕種的防除の実施

伝染源を物理的に減少させる耕種的防除は病虫害防除において最も基本的な対策である。黒星病においても、一次伝染源となる被害落葉の除去・細断や被害落葉に対する尿素散布は子のう孢子飛散を減少させ、感染を減らす効果がある(Sutton et al., 2000)。さらに、このような一次伝染源の処理は黒星病菌の遺伝的多様性を低く保ち、感受性低下や耐性の発達を抑制する(Meitz-Hopkins et al., 2023)。効率的な落葉処理技術も開発されたが(赤平ら, 2023)、生産者の労力負担はまだ大きく、実施率は低い。そのため、より省力的で普及性の高い技術開発を進めていかなければならない。

5. 引用文献

- 赤平知也(2022)青森県におけるリンゴ黒星病 DMI 耐性菌対策のその後の状況と新たな強化策について. EBC 研究会ワークショップ(講要)
- 赤平知也・大西正洋・谷山英世(2023)多雪地帯におけるリンゴ黒星病の発生軽減を目的とした落葉収集機の開発. 農林水産技術 11:7-11
- 赤平知也・平山和幸・花岡朋絵(2017)青森県における DMI 剤耐性リンゴ黒星病の発生防除対策. 植物防疫 71:604-609
- 新谷潤一(1996)感染予察機“METOS-D”による青森県でのリンゴ黒星病の感染予測. 植物防疫 50:325-328
- Bowen JK, Mesarich CH, Bus VG, Beresford RM, Plummer KM, Templeton MD (2011) *Venturia inaequalis*: the causal agent of apple scab. *Mol Plant Pathol* 12:105-122
- Fiaccadori R (2018) In vitro, in vivo and in field sensitivity of *Venturia inaequalis* to anilinopyrimidine fungicides with different types of scab management and degree of control. *Open Access Libr J* 5:1-13
- Gao L, Berrie A, Yang J, Xu X (2009) Within- and between-orchard variability in the sensitivity of *Venturia inaequalis* to myclobutanil, a DMI fungicide, in the UK. *Pest Manage Sci* 65:1241-1249
- Hildebrand PD, Lockhart CL, Newbery RJ, Ross RG (1988) Resistance of *Venturia inaequalis* to bitertanol and other demethylation-inhibiting fungicides. *Can. J Plant Pathol* 10:311-316
- Hirayama K (2022) Curative effects of fungicides against *Venturia inaequalis* causing apple scab. *Journal of General Plant Pathology* 88:264-269
- 平山和幸(2024)青森県におけるリンゴ黒星病の多剤耐性菌の検出. 第77回北日本病虫害研究発表会講演要旨 p.13
- 平山和幸・十川聡子・赤平知也(2019)青森県におけるリンゴ黒星病の重点防除時期の再検討. 日本植物病理学会報 85:42(講要)
- 平山和幸・花岡朋絵・新谷潤一・對馬由記子・赤平知也(2017)青森県における DMI 剤耐性リンゴ黒星病菌の発生. 北日本病虫害研報 68:108-114
- Holb IJ, Heijne B, Jeger MJ (2004) Overwintering of conidia of *Venturia inaequalis* and the contribution to early epidemics of apple scab. *Plant Dis* 88:751-757
- 木村佳子(2022)青森県におけるりんご病虫害防除暦作成の考え方. 植物防疫 76号:388-391
- Köller W, Wilcox WF, Barnard J, Jones AL, Braun PG (1997) Detection and quantification of resistance of *Venturia inaequalis*

- populations to sterol demethylation inhibitors. *Phytopathology* 87:184–190
- Kunz S, Deising H, Mendgen K (1997) Acquisition of resistance to sterol demethylation inhibitors by populations of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 87:1272–1278
- MacHardy WE (1996) Apple scab: biology, epidemiology, and management. APS Press, St. Paul
- Meitz-Hopkins JC, von Diest SG, Koopman TA, Tobutt KR, Xu X, Lennox CL (2023) Leaf shredding as an alternative strategy for managing apple scab resistance to demethylation inhibitor fungicides. *Frontiers in Horticulture* 2:1175168
- 日本植物防疫協会(2008)病害虫と雑草による農作物の損失(日本植物防疫協会編). pp. 7–16, 日本植物防疫協会, 東京.
- Rossi V, Ponti I, Marinelli M, Giosuè S, Bugiani R (2000) A new model estimating the seasonal pattern of air-borne ascospores of *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. in relation to weather conditions. *Journal of Plant Pathology* 82:111–118
- Schroeder, WT, Provvidenti, R (1969) Resistance to benomyl in powdery mildew of cucurbits. *Plant Dis. Rep* 53:271–275
- Sutton DK, MacHardy WE, Lord WG (2000) Effects of shredding or treating apple leaf litter with urea on ascospore dose of *Venturia inaequalis* and disease buildup. *Plant Disease* 84:1319–1326
- Thind TS, Clerjeau M, Olivier JM (1986) First observations on resistance in *Venturia inaequalis* and *Guignardia bidwellii* to ergosterol-biosynthesis inhibitors in France. *Proceedings of British Crop Protection Conference Pests and Diseases 2*, BCPC Publications, Surrey, UK, pp. 491–498
- 雪田金助(2019)リンゴ黒星病に対する各種 SDHI 剤の治療効果. 北日本病虫研報 70:84–89

カンキツ黒点病に対するマンゼブ水和剤の耐雨性と降雨時における効果発現機構

Efficacy mechanism of mancozeb WP against citrus melanose during rainfall

日産化学株式会社 農業化学品事業部

蓮沼 奈香子

hasunuma@nissanchem.co.jp

Abstract

Citrus melanose, caused by *Diaporthe citri*, is one of the most common citrus diseases in Japan. Melanose is rainborne and is exacerbated by heavy rainfall. Mancozeb, the broad-spectrum fungicide, is the most effective against citrus melanose. This study aimed to confirm the efficacy of mancozeb against citrus melanose. Under artificial rainfall conditions, with a cumulative rainfall of 300 mm to the fruit sprayed with sufficient amounts of mancozeb (2,000 µg/mL), the amount of attached mancozeb remained at 70% of that before the rain treatment, indicating excellent preventive effects against citrus melanose. In contrast, mancozeb sprayed on fruits was washed away by rainfall. Therefore, we investigated the effectiveness of the washed-out components against citrus melanose. We confirmed that even washed-off mancozeb alone can prevent melanose. This suggests that mancozeb washed off by rain exerts its disease-suppressing effect by being redispersed. These characteristics highlight how mancozeb can protect citrus fruits from melanose under rainfall.

はじめに

マンゼブはアメリカのローム・アンド・ハース社（現在の Corteva Agriscience™社）によって創製されたジチオカーバメート系に属する化合物である（Gullino et. al. 2010）。マンゼブ 80.0%を主成分とするジマンダイセン水和剤（以下、本剤あるいはマンゼブ水和剤）は日本では 1964 年に農薬登録を取得し、2021 年から日産化学株式会社が日本および韓国での販売を行っている。本剤は発売から 60 年が経過し、長きに渡り農産物の安定生産に貢献してきた。

本剤の特長として、以下の 3 点があげられる。

- ①FRAC コード M3 に属し、作用点が複数あることから耐性リスクが低い。
- ②登録作物および適用病害が非常に多い。現在、わが国では 42 作物で登録を保有し、適用病害数は 128 病害にも達している。現在も新規作物および病害への拡大を進めるとともに、航空防除への適用拡大に取り組んでいる。
- ③耐雨性に優れ、多降雨条件下においても安定した効果を発揮する。

本発表では、カンキツの最重要病害である黒点病における本剤の優れた効果発現機構の解明を目的として、本剤の耐雨性と薬剤成分の再分散の二つの観点から検証した結果を紹介する。本剤を用いたカンキツ黒点病予防対策の一助になれば幸いである。

1. カンキツ黒点病の発生生態

カンキツ黒点病は *Diaporthe citri* によって引き起こされる病害である。葉、枝、とくに果実で発生し、多発した場合には商品価値が著しく低下する。本病は保菌枯枝が伝染源となり、病原菌は雨滴によって果実へ感染する雨媒伝染病害である。そのため、保菌枯枝が多く、降雨が多い場合に多発する。感染期間は 4~10 月頃までで、果実では 5~9 月に発病が多い。病徴は黒点、涙斑および泥塊状の 3 つに分けられる。また、発病時期の違いによって初期感染型と後期感染型に分けられる。初期感染型は黒点が比較的大きく、果実の表面に突出し、周囲に縁どりを生じ、黒点の表面が粗造である。後期感染型では黒点が比較的小型で突出せず、周囲の白色縁どりもなく、果実が着色しても黒点周囲が緑色に残るものが多い（図 1）。

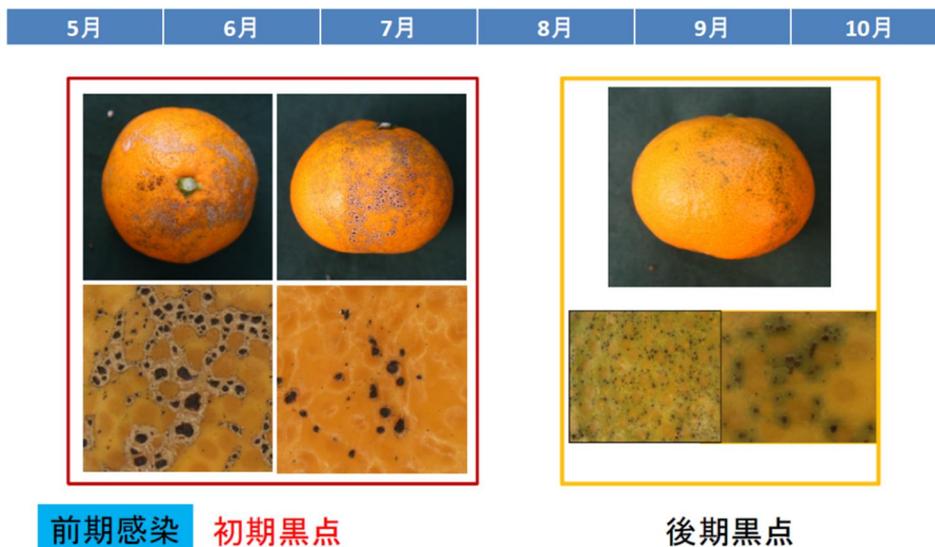


図 1 異なる感染時期のカンキツ黒点病の病徴

2. ジマンダイセン水和剤のカンキツ類への登録内容と基礎データ

1) ジマンダイセン水和剤のみかん・かんきつにおける登録内容

みかん・かんきつにおける本剤の適用病害を表 1 に示した。本剤は、栽培期間中に発生する病害に対して幅広く効果を有する。特に黒点病への効果が優れていることから、ドローン機などを使用した航空防除への拡大を進め、生産者の現場ニーズに応えられるように散布水量に幅を持たせた登録を取得している (表 1 の赤字部分参照)。

表 1 ジマンダイセン水和剤のみかん・かんきつへの病害登録内容

作物名	適用病害名	希釈倍数 (倍)	使用液量 (ℓ/10a)	処理方法	使用時期	総使用回数	
みかん	黒点病	400~600	200~700	散布	30日	4回	
	黄斑病、小黒点病	600~800					
	そうか病	400					
	褐色腐敗病、そばかす病、赤衣病、炭そ病(さび果)	400~600					
みかん	黒点病	5	4	航空防除	30日	4回	
		10	8				
		20	16				
かんきつ	黒点病、黄斑病、小黒点病	600~800	200~700	散布			90日
	褐色腐敗病、そばかす病、赤衣病、炭そ病(さび果)、乾腐病	600					
	かんきつ	黒点病	5	4	航空防除		
			10	8			
		20	16				

2) ジマンダイセン水和剤の黒点病に対する効果

本剤のカンキツ黒点病に対する効果は、他剤と比べても安定していると考えられる。(一社)日本植物防疫協会の新農薬実用化試験において本剤は対照薬剤として使用されており、最近 5 年間の試験結果では、ほぼ 9 割で供試薬剤の薬効を上回る傾向にある (表 2)。

表 2 新農薬実用化試験における供試薬剤の本剤と比較した評価結果(2019 年~2023 年)

本剤600倍散布と供試薬剤との比較			
A(優れる)	B(同等)	C(やや劣る)	D(劣る)
1	8	23	50

3) 基礎活性と耐雨性

ジマンダイセン水和剤のカンキツ黒点病菌に対する殺菌効果について、カンキツ黒点病の柄孢子発芽阻害試験および菌糸生育阻害試験 (PDA 培地を使用) を実施した。その結果、本剤の黒点病柄孢子の孢子発芽および菌糸生育は、いずれも 1ppm レベルで完全阻害され、実用散布濃度と比較すると、2,000~1,300 倍の差となった。一方、QoI 剤であるピリベンカルブやクレソキシムメチルでは、阻害濃度と実用濃度を比較すると、孢子発芽阻害作用では、それぞれ 20,000~10,000 倍、25,000~16,700 倍となり、菌糸生育阻害作用では、20,000~10,000 倍、250,000~167,000 倍となった (表 3)。殺菌効果が発現する濃度と実用散布濃度の差が大きいほど、効果が安定すると考えられるが、本剤では QoI 剤と比べて差は小さく、黒点病への効果が安定する要因として、その他のことが考えられる。

表 3 黒点病菌に対する各薬剤の孢子発芽阻害および菌糸生育阻害効果 (%)

添加濃度 (ppm)	マンゼブWP		ピリベンカルブWDG		クレソキシムメチルWDG		ジチアノンSC	
	孢子発芽	菌糸生育	孢子発芽	菌糸生育	孢子発芽	菌糸生育	孢子発芽	菌糸生育
10	100	100	100	100	100	100	86	100
1	100	100	100	100	100	100	86	100
0.1	71	20	100	100	100	100	43	100
0.01	43	0	100	100	100	100	29	40
0.001	0	0	100	40	100	90	0	0
0.0001	0		86		86		0	
希釈倍数	400-600倍		2000-4000倍		2000-3000倍		1000-1500倍	
処理濃度	2000-1333ppm		200-100ppm		250-167ppm		400-267ppm	

次に温州ミカン果実 (品種: 興津早生) を用いて、予防効果と耐雨性の程度について検討した。

所定の濃度に調整した薬液を背負い型噴霧器 (KIORITZ 製, バッテリー動噴 SBD101, 散布圧 0.29 MPa) を用いて十分量散布した。散布 2 時間後に人工降雨装置 (Daiki 製, DIK-6000 降雨装置) を用いて、40mm/h の割合で 2 時間降雨処理 (計 80mm) を実施した。降雨処理の翌日、4×10⁷個/ml に調整した黒点病菌の α 柄孢子を直径 8mm の濾紙ペーパーディスクに含ませ、3 果実に濾紙ペーパーディスクをそれぞれ 6 か所ずつ貼付けた。28℃, 湿度 90% の暗室条件で 10 日保持し、接種した部分の発病面積率割合を達観調査した。

その結果、本剤 400 倍を実用濃度として、1/4 ずつ希釈した結果、無降雨条件下では、実用の 1/64 濃度 (31.25ppm) まで優れた予防効果 (病斑面積に基づく防除価 92.4) が発現した。一方、薬剤散布 2 時間後に 80mm の降雨を処理した場合、1/16 濃度 (125ppm) まで効果 (同防除価 83.3) が認められた (図 2)。

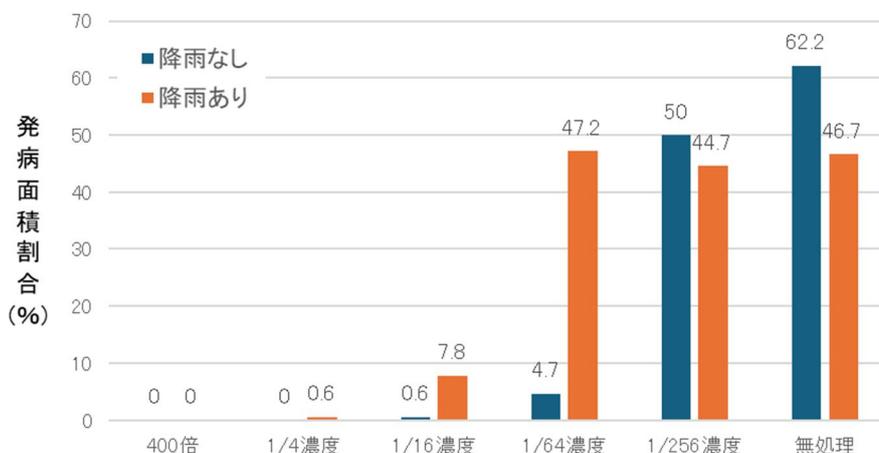


図 2 ジマンダイセン水和剤の希釈倍数別の予防効果および耐雨性に及ぼす影響

3. 果皮上のマンゼブ残存量と黒点病に対する予防効果に及ぼす降雨の影響

果実へ散布した成分が果実表面に効果発現に必要な量を維持できていれば、黒点病菌の感染から果実を守ることができる。そこで、薬剤散布後の降雨によるマンゼブ残存量について検討した。

ジマンダイセン水和剤 400 倍薬液を温州ミカン（品種：興津早生）果実に背負い型噴霧器にて散布し、散布処理 18 時間後に 50mm/h に設定した人工降雨装置を用いて降雨処理を実施した。100mm 区は、2 時間降雨処理を行い、200mm 区については、最初の 100mm の降雨後に 2 時間静置し、さらに 2 時間降雨処理を行い、合計 200mm とした。300mm 区については、200mm を降雨処理した翌日にさらに 2 時間（100mm、2 日間の総合計 300mm）の降雨を行った、400mm 区については、200mm 降雨区を実施した翌日に、さらに 4 時間（2 時間降雨、2 時間静置、2 時間降雨 2 日間の総合計 400mm）の降雨を行った。風乾後に果実を採集し、果実上のマンゼブ成分を分析した。分析は LC-MS/MS にて実施した。有効成分残存率は降雨量 0mm 区の果実表面積当たりのマンゼブ量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) を 100 として、それぞれの区の残存量を数値化した。

その結果、降雨量が多くなるにつれて残存量は少なくなる傾向が認められたが、累積 400mm の降雨処理区でも 50%以上の残存率を確認した(図 3)。同時試験ではないが、同様の方法で散布と降雨処理を行い、黒点病柄胞子を接種し (α 柄胞子濃度は、 4×10^7 個/ml、濾紙ペーパーディスクに含ませ、1 果実に 6 か所貼り付け)、果実の発病を調査した。その結果、累積 300mm の降雨処理後でも黒点病の発生は認められず、果実上に発病を抑制できるだけの成分量が保持されていることが確認できた (図 4)。

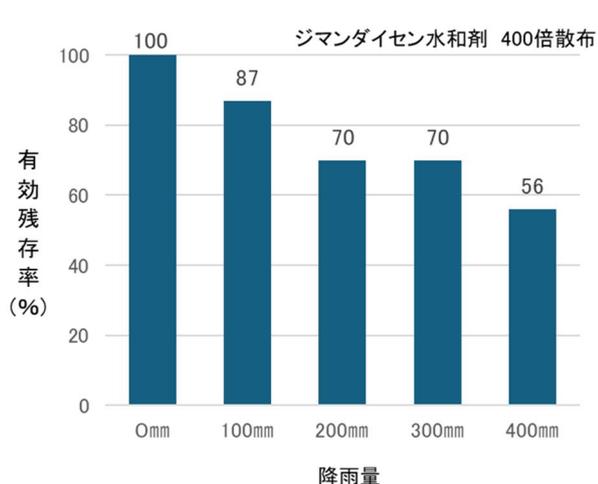


図 3 降雨量と温州ミカン果実上の残存割合

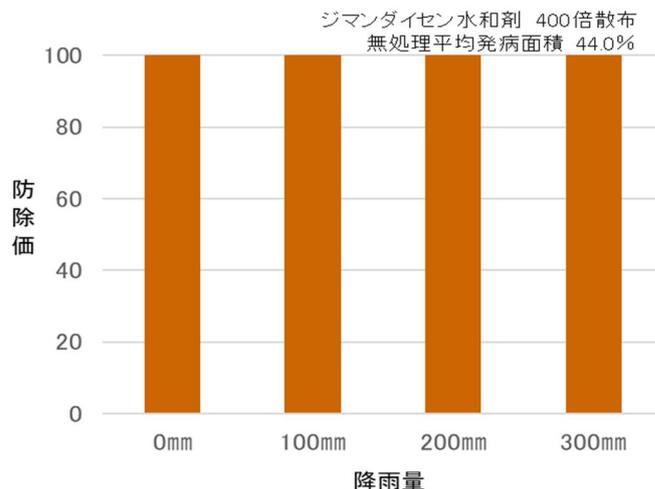


図 4 降雨量と温州ミカン果実の黒点病予防効果

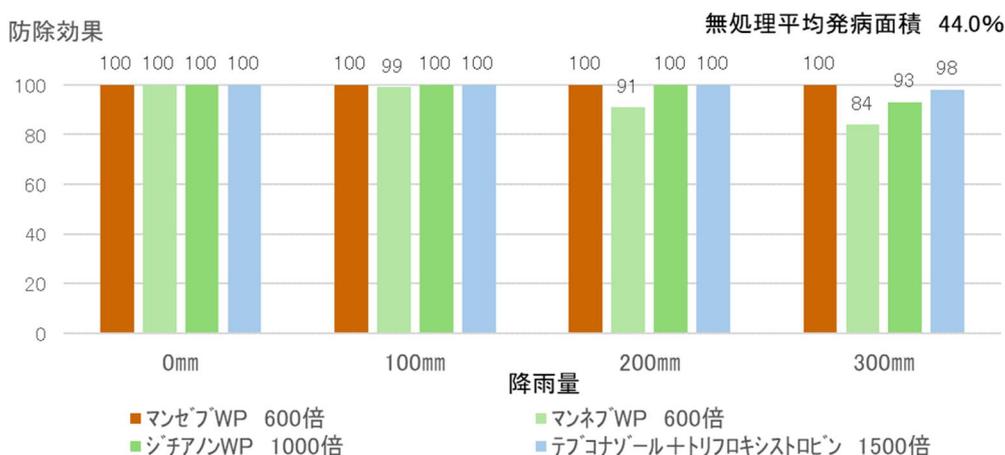


図 5 カンキツ黒点病に対する各種殺菌剤の予防効果に及ぼす降雨量の影響

さらに、カンキツ黒点病に登録のある数種殺菌剤と本剤 600 倍の効果と比較した。散布後 24 時間以上風乾したのち、50mm/h に設定した人工降雨装置を使用し、2 時間 (降水量 100mm)、4 時間 (200mm)、6 時間 (300mm) の降雨処理を行い、同様の方法で果実に接種し、発病状況を調査した。本剤 600 倍液散布区では 300mm 降雨処理区でも発病が認められず、他剤と比較して安定した効果が認められた (図 5)。

4. 降雨によって流亡、再分散した成分の働き

カンキツ黒点病の果実への発病は、罹病枝に形成された柄子殻中の α 柄胞子が降雨とともに流れ出して分散し、果実に付着して生じる (図 6)。一方で、ジマンダイセン水和剤では降雨による有効成分の流亡が他剤に比べて少ないものの認められる (図 3)。そこで、樹体に付着した有効成分が降雨によって再分散し、雨滴中における α 柄胞子の発芽を阻害することで本病に対する予防効果が発現しているのではないかと考え、モデル試験を実施した (図 7)。

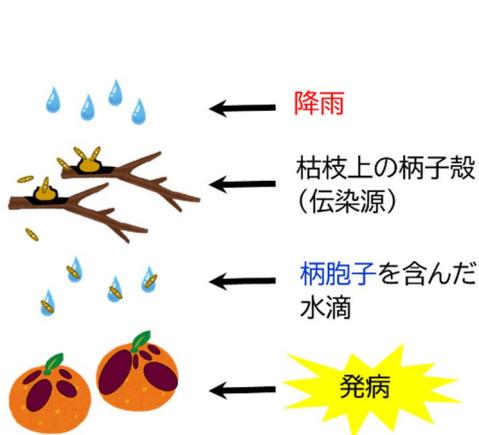


図 6 降雨による枯死枝 (伝染源) からの α 柄胞子の分散による果実発病のメカニズム



図 7 降雨による有効成分の再分散による発病抑制メカニズムの仮説

試験は山田ら (1966) の試験方法を参考にして実施した。本剤 400 倍希釈液を温州ミカン苗 (青島温州) に散布し、18 時間経過後に葉を回収した。第 8 図に示すように最上段のステンレス製網かご (50cm×30cm×15cm) に 500 枚の葉を入れ、その直下 (中段) に枯死枝 (自社圃場で採取、1.5kg/かご) を配置、最下段に黒点病の発病を認めない温州ミカン果実 (品種: 興津早生) を配置した。40mm/h の割合で 10 分間の降雨処理 (累積降雨量は 6.7mm) 後に果実をトレイに回収し、28°C・暗所湿室条件下に 9 日間保持し、果実の発病状況を調査した。

その結果、本剤 400 倍散布区では発病果実割合が 66.7% と無処理に比べて大幅に少なく、同 5% 未満のきわめて軽微な発病果実が全体の 80.6% を占めており、同 6~30% の果実は 19.4% にとどまっていた (表 4)。また、発病面積割合においても無処理区に比べ、抑制されていた (図 9)。このように、雨滴中に α 柄胞子が存在していても溶出したマンゼブが含まれることでカンキツ黒点病の発病を抑制することが確認できた (石塚ら、2024)。すなわち、山田ら (1966) が指摘しているように、降雨によって散布した殺菌剤の有効成分が溶出分散し、同時に降雨によって分散する病原菌胞子と接触することによる胞子発芽抑制によって予防効果が発現していることが、マンゼブ剤でも明らかになった。



図 8 薬剤を含む雨滴の分散によるカンキツ黒点病予防効果の検証方法

表 4 果実上部に設置した葉へのジマンダイセン水和剤散布の有無がカンキツ黒点病の発生に及ぼす影響

設置葉の薬剤 処理の有無	発病面積別果実数						発病果実 割合(%)	発病面積6%以上 の果実割合(%)	発病面積20%以上 の果実割合(%)
	発病なし	1%未満	1~5%	6~10%	10~20%	20%以上			
散布	12	11	6	4	3	0	66.7	19.4	0.0
無散布	1	6	6	10	7	6	97.2	63.8	16.7

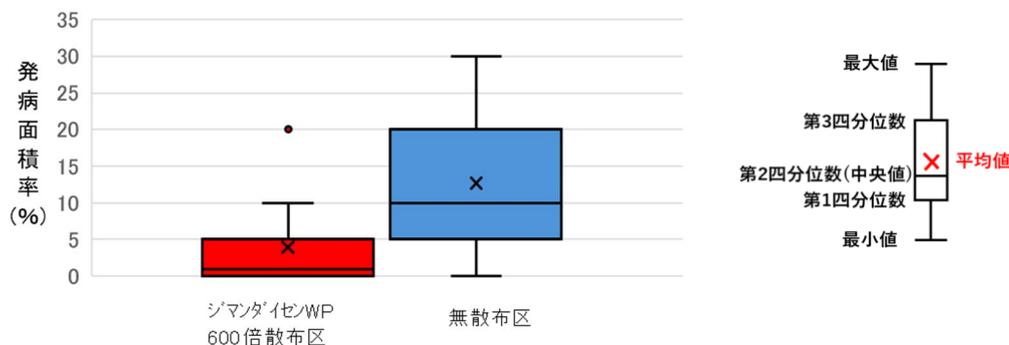


図 9 果実上部に設置した葉へのジマンダイセン水和剤散布の有無が果実の発病面積割合に及ぼす影響

おわりに

ジマンダイセン水和剤のカンキツ黒点病予防場面における耐雨性についてはこれまでに圃場試験の結果に基づいた報告があり、散布後の累積降雨量が概ね 250~300mm までは効果が持続するとされている(田代, 2007, 井沼, 2017)。しかし、果実上における有効成分の残存量と効果との関係については不明な点が多い。今回、モデル試験ではあるものの、散布後の累積降雨量が 300mm に達した時点においても散布直後の約 7 割、400mm でも約 5 割の有効成分が残存していることが示された。さらに、接種試験において 300mm 降雨時点で完全に発病を抑制していた。今後、さらに降雨強度や累積降雨量の設定を変えた試験を実施し、あわせて実際の圃場での分析結果も踏まえて、本剤の耐雨性を明らかにしていきたい。

以上の知見はジマンダイセン水和剤の耐雨性について果実表面に残存している有効成分量を指標としたものである。一方で、降雨とともに本剤は流亡し、雨滴中に溶出する。カンキツの雨媒伝染病害では雨滴中に溶出した有効成分によっても、優れた予防効果が発現することが示されている。そこで今回、本剤について同様の検討を加えたところ、既報のジチアノン水和剤、有機銅水和剤などと同様に降雨によって再分散したと考えられる成分によるカンキツ黒点病に対する予防効果が確認された。

今回は少降雨条件下(累積降雨量 6.7mm)での試験であったことから、より多降雨条件下での試験や降雨強度を変えた試験を実施し、雨滴中のマンゼブ濃度の解析も含めて再分散による予防効果の詳細を明らかにしていきたい。また、再分散したマンゼブは果実表面に付着し、保護効果の向上にも役立っていることが考えられ、今後の検証が必要である。さらに、マンゼブ剤の効果発現場面において、直接的な果実保護効果と再分散による孢子発芽阻害による発病抑制効果のそれぞれの寄与程度がどのようになっているのか、についても解明すべき課題である。

引用文献

- 1) Gullino et al. (2010). Mancozeb: Past, Present, and Future. *Plant Dis.* 94: 1076-1087.
- 2) 井沼 崇 (2017). カンキツ黒点病に対する各種薬剤の防除効果. 和歌山県農林水産試験研究機関研究報告 5 : 47-60.
- 3) 田代暢哉 (2007). だれでもできる果樹の病虫害防除. p. 102, 農山漁村文化協会, 東京.
- 4) 石塚隼也・中道隆哉・梶河直起・篠田快望・稲田誠・蓮沼奈香子・矢澤和敏 (2024). カンキツ黒点病に対するマンゼブ水和剤の降雨時の特性に関する研究. 令和 6 年度日本植物病理学会大会要旨集. P. 137 (講演番号 553).
- 5) 山田峻一・田中寛康・小泉銘冊・山本省二 (1966). カンキツ病害に対する殺菌剤散布方法の合理化ならびに省力化に関する研究 I 殺菌剤有効成分の redistribution とその病害防除効果. 園芸試験場報告 B 興津 5 : 75-87.

ブドウ根頭がんしゅ病菌の生態に迫る

Exploring the ecological biology of the pathogen causing grapevine crown gall

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 西日本農業研究センター

川口 章

kawaguchia240@affrc.go.jp

Abstract

Grapevine crown gall (GCG), caused by tumorigenic *Allorhizobium vitis* (TAV) strains, is a globally distributed and economically important disease of grapevine. Nevertheless, the epidemic of GCG has not been widely elucidated. TAV infects grapevines through wounds such as freezing injuries. Although grapevines typically avoid being frozen-damaged under snow cover, GCG occurs in many commercial vineyards in snowy regions such as Hokkaido region in Japan. In this study, the author tried to reveal the unknown factors would contribute to spread and outbreak GCG by investigation in commercial vineyards and analysis using statistical technics. The result of molecular epidemiological approaches indicates that both soil infection and transporting of infected nursery stocks are working as infection source in Hokkaido. This study also investigated the TAV population in GCG gall tissues, grapevine skins, and snow on grapevine skins from some infected vineyards in Hokkaido. TAV was isolated not only from gall tissues but also from skins and snow on skins throughout the year. Hierarchical Bayesian Model (HBM) analysis revealed that the number of TAV cells in gall tissues was influenced by cultivar and low temperature, whereas those in skins were affected by location and low temperature. Additionally, Bayesian Change-point Detection (BCD) indicated that the number of TAV cells in gall and skin tissues increased during the snowfall season. Moreover, the TAV population in grapevine skins beneath the snow was significantly higher than those above the snow, suggesting that TAV under the snow is sheltered by it and can thrive during the snowfall season. This study highlights the ability of TAV to survive overwintering within galls and skins beneath the snow, serving as inoculum for the subsequent season.

はじめに

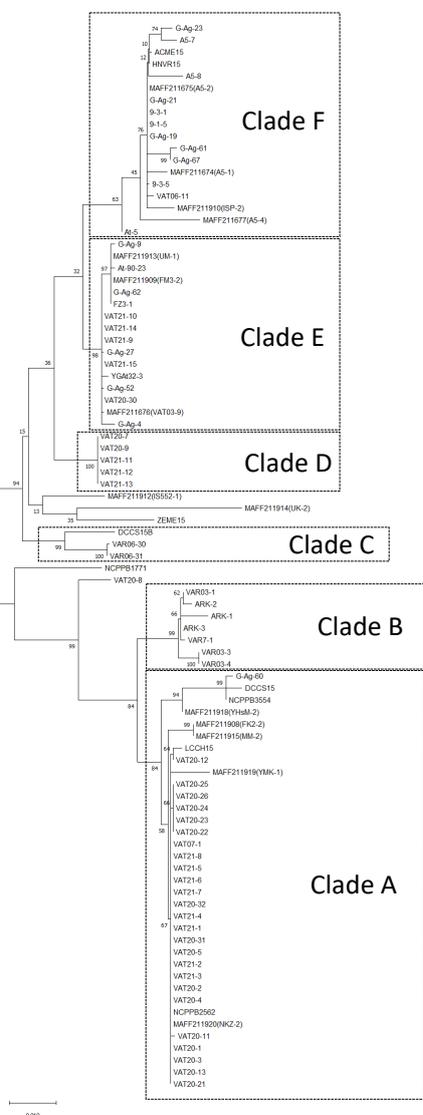
ブドウ根頭がんしゅ病(Grapevine Crown Gall. 以後 GCG と表記)は、ブドウ樹に大きなこぶ(がんしゅ:癌腫)が形成されて生育を阻害し、枯死を引き起こす土壌伝染性の難防除病害である。本病は病原細菌 tumorigenic *Allorhizobium vitis*(以後 TAV と表記)(異名: tumorigenic *Rhizobium vitis*, tumorigenic *Agrobacterium vitis*, *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3)によって起こる。発病するとブドウ樹が生育不良や枯死することから、ブドウ栽培において脅威となる病害の一つである。本病の伝染経路は主に土壌伝染であるが、TAV が感染した無症状の苗木の流通により、発生地が拡大されるとの報告もある(Burr et al., 1998)。これまで本病は、凍害等によりブドウ樹に傷が付くことで発病が誘発されることが知られていた(Burr et al., 1998)。その定説に従うと、冬にブドウ樹が雪で覆われると、極端な低温にならず凍害を回避できることから、積雪地帯では本病の発生は少ないと考えられてきた。しかし、近年、世界でも有数の積雪地帯である北海道のワイン醸造用ブドウ栽培で本病の発生が目立ち、大きな問題になっている(Kawaguchi et al., 2017, 2021)。このことから、これまで推測されていたものとは違う本病の発生メカニズムが存在する可能性が考えられた。積雪地帯における本病の多発要因を解明することを目的として、現地での病原菌の生態を調査し、解析した結果を報告する。本総説は既報の内容をまとめたものである(Kawaguchi, 2022; Kawaguchi et al., 2021, 2023a)。研究内容の詳細はそれらも併せて参照していただきたい。

1. 分子疫学的アプローチによる主要な伝染経路の特定を試み

ある病害が種子伝染するか土壌伝染するかについて、実験室レベルで介入試験を行うことは容易だが、生産者の圃場で実際にどちらが(または両方が)起こっていることを証明することは容易ではない。これまで筆者らは、特定の圃場におけるトマトかいよう病の伝染経路を特定するため、アプローチの一つとして病原細菌株の rep-PCR DNA フィンガープリント解析を行い、毎年の発病は土壌伝染由来であることを明らかにした(Kawaguchi et al., 2010; Kawaguchi and Tanina, 2014)。これまで TAV についても rep-PCR DNA フィンガープリント解析で系統解析を行ったことがある(Kawaguchi et al., 2008a; Wong et al., 2021)。このように、遺伝子の塩基配列の相同性に基づいて、病原菌を個体(菌株レベル)、または個体群で識別してグループ分けを行い、

菌株の来歴(分離された植物, 場所, 時間, 発病の有無, 気象条件など)の情報を併せて解析することにより, 病原菌の伝染経路を特定する研究を「分子疫学」という。そのうちの一つの手法に rep-PCR DNA フィンガープリント解析がある。多くの細菌染色体上には保存性の高い反復配列(REP, ERIC, BOX など染色体上の位置は菌種, 菌株によって異なる)が散在している。この手法は, その反復配列から外向きのユニバーサルプライマーを用いて PCR を行うことで得られる複数のバンドパターンを菌株レベルで比較し, 識別を行う。この方法の利点は, 通常の PCR に必要な試薬, PCR 用サーマルサイクラーとアガロースゲル電気泳動装置があれば実施できることだが, バンドの位置や数によってバンドパターンを目視で判別することが難しい場合がある。同じプライマーセットと同じ DNA を使っても PCR の回数によってはバンドパターンが少し変わる場合があるため, 菌株同士のバンドパターンの違いを比較するには同時に PCR を行い, 同時にゲル電気泳動を行った結果で同じゲル上で判定することが必要である。本研究では, 筆者は MLSA (Multi-Locus Sequence Analysis) による個体識別を行った。MLSA は, 特定の複数の必須遺伝子の塩基配列を連結させたものを系統解析することにより, 菌株の個体識別を行う方法である。この方法であれば, DDBJ などのデータベースに登録されている塩基配列データも使うことができるため, 比較したい塩基配列のデータがデータベース上に登録されている菌株も比較, 解析することができる。

今回, 日本全国で分離された TAV を中心として 89 菌株の 3 種類の必須遺伝子(*pyrG*, *recA*, *rpoD*)の連結塩基配列データを MEGA X ソフトウェアを用いて最尤法(Maximum likelihood)で分子系統樹を作成した(Kawaguchi et al., 2021)。その結果, 供試した TAV の菌株は 6 つの異なるクレード(Clade A~F)にまとめることができた(図 1)。このうち, 2000 年以降に北海道内



で分離された TAV 菌株は Clade A, D, E のいずれかに分類された。Clade D, E には北海道だけでなく日本全国に分布している TAV 菌株も多く含まれていたことから, これらの TAV は地域を超えて分布, つまり感染した無症状の苗木による TAV の全国への拡大の可能性が示唆された。

一方, Clade A には他県や海外の TAV 菌株(DDBJ データベースよりもごく一部含まれるものの, ほとんどが北海道内で分離された TAV 菌株が含まれていた。そこで Clade A に着目し, Clade A に属する TAV か, または他の Clade に属する TAV かを二項変数の目的変数とし, TAV の分離された来歴に関する情報を説明変数(分離年, 分離されたブドウの品種, 分離された場所(市町村レベル), 分離された県(または州), 分離された国)をカテゴリ変数とし, 一般化線形モデル(GLM)で要因分析を行った。その結果, Clade A に属する TAV 菌株が分離される事象に有意に関連があった要因は「県の違い」でのみあった(Kawaguchi et al., 2021)。また, Clade A に属する TAV 菌株が北海道内で分離されるオッズ比は 10.52 (95%信頼区間 3.68~30.68, $p = 0.048$)と高い値を示した(Kawaguchi et al., 2021)。以上より, Clade A に属する TAV 菌株は北海道という地域と強い関連性が示されたことから, この遺伝子型の TAV は北海道内に土着している, つまり土壌伝染として機能している可能性が高いことが示された。

今回の MLSA および GLM の結果から, 北海道で発生している GCG の原因は, 潜在感染した苗木の流通による苗木伝染と, 北海道に広く分布している菌株による土壌伝染の両方であると考えられた。今回はどちらから一つの伝染経路に絞られなかったが, 近年は塩基配列を比較する手法として NGS (Next Generation Sequencing) も普及してきたので, MLSA よりも膨大かつ詳細なデータ解析が, 主要な伝染経路の判定をしてくれることを期待したい。

図 1 MLSA による TAV 系統解析結果(Kawaguchi et al., 2021)

2. GCG が樹の生育不良や枯死へ与える影響のリスク評価

GCG の症状の特徴である大きな癌種の形成は、ブドウ生産者に与えるインパクトは強い。また、本病の総説や解説記事のほとんどが「本病は生育不良や枯死の原因となる」としている。私もこれまで自分の論文では同じことを繰り返し書いてきた。しかしながら、本病の発生により生育不良や枯死が実際にどれだけ増加するのか、つまり本病が原因となる生育不良や枯死リスクがどれだけ増加するのかについての定量的なデータがなく、これまで不明であった。生産者からも「この病気はどれだけ樹にダメージを与えるのか?」「発病した樹は間違いなく枯れるのか?」と聞かれることがあった。大きな癌種を形成した発病樹でも生育にあまり影響が見られない樹や、生育は悪くなるが、その後枯れずに収穫し続ける樹があるのもまた事実である。そこで、本病の発生がブドウ樹体の生育不良や枯死へ与える影響のリスク評価を行った (Kawaguchi, 2022)。

本病の発生を認めた現地 12 圃場計 3,277 樹において 1,336 樹が発病 (平均発病割合 40.8%) しており、そのうち 403 樹が生育不良 (30.2%), 286 樹が枯死 (21.4%) していた。まず、生育不良または枯死の発生に関連する要因について、「発病の有無」、「ブドウの品種」、「樹齢」、「調査年」、「場所」との関係を一般化線形混合モデル (GLMM) で解析した。その結果、生育不良の発生に対して有意に関連する要因として「場所」(回帰係数 = 0.155, $p = 0.035$)、「発病の有無」(回帰係数 = 2.764, $P < 2.0 \times 10^{-16}$) が選抜された。また、枯死の発生に対して有意に関連する要因は「発病の有無」(回帰係数 3.467, $P < 2.0 \times 10^{-16}$) のみであった。

次に、発病の有無が生育不良樹や枯死樹の発生割合に与える影響をメタアナリシスで解析し、リスク比を算出した結果、発病により生育不良になるリスクは 14.79 倍 (95%CI = 8.51 ~ 25.71), 枯死するリスクは 17.95 倍 (95%CI = 10.23 ~ 31.50) に増加することが示された (図 2)。発病により生育不良になるリスク評価におけるメタアナリシスでデータの異質性が認められたが ($I^2 = 55\%$, $\tau^2 = 0.4235$, $p = 0.01$)、これは前述の GLMM の結果から、場所の違いによる影響が関係していると考えられた。しかしながら、GLMM の回帰係数の値は「場所」よりも「発病の有無」の方が明らかに高かったことから、場所の違いがメタアナリシスの結果に与える影響は小さいと判断した。

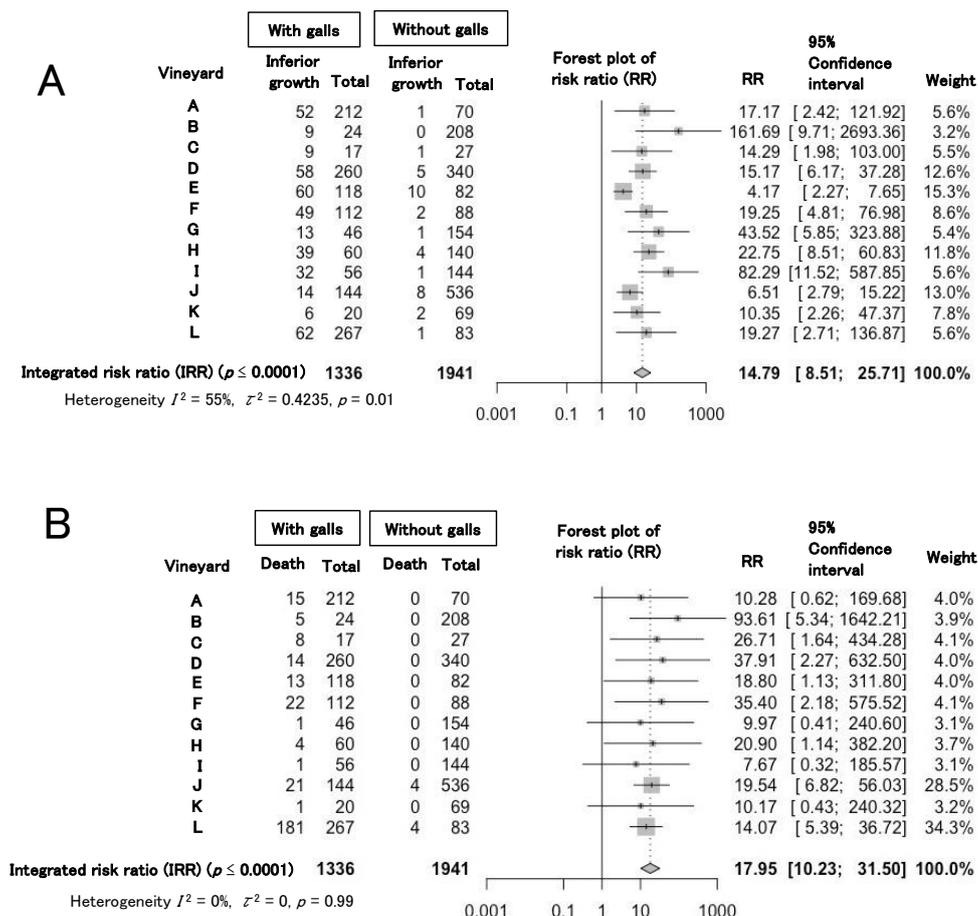


図2 ブドウ根頭がんしゅ病発生による生育不良(A)と枯死(B)のリスク比 (Kawaguchi, 2022)

本研究結果により、本病が実際にブドウ樹の生育不良や枯死に与える影響について、そのリスクをリスク比として数値化する

ことができた。本病のように発病してから生育不良や枯死に至るまで 2~3 年かかるような土壌病害の場合、ブドウ生産者にとって、生育不良や枯死が本当に本病の影響で発生しているのか直感的に判断できない場合もある。病害が農業生産上の被害にどれだけ影響を与えるかについてリスク評価を行い、その結果を生産者に提示することは、生産者の防除の意思決定における判断材料の一つとして重要である。複数の圃場のデータを統合して、そしてやはり数字で、定量的にデータを説明できるのがメタアナリシスの利点である。

3. 発病樹における TAV の菌密度の変化

前項において、GCG がブドウ生産に与える影響が改めて認識され、多発生はブドウ生産圃場に大きな脅威となることから、現地での多発要因の解明は切迫した課題である。特に積雪地帯である北海道において本病の発生は多い。このことは、凍害が起こりにくい地域では本病の発生は少ないとする定説と矛盾する(Burr et al., 1998)。そこで、発生拡大要因を知るためのアプローチの一つとして、発病樹における TAV の菌密度に着目した。2021~2023 年にかけて北海道余市町、札幌市、浦臼町、富良野市のブドウ栽培圃場を定期的に調査し、発病樹の癌種組織、表皮および積雪時の表皮に付着した雪から TAV の分離を行い、菌数の変動を確認した。その結果、全ての調査圃場で、そして調査期間を通じて、癌腫組織から $10^6 \sim 10^8$ Colony Forming Unit (CFU) / g、表皮および表皮に付着した雪から $10^2 \sim 10^4$ CFU/g の TAV が安定的に検出された(図 3)。以上より、癌種、表皮の両組織から TAV が継続的に検出され、また TAV 密度は年間を通じて大きく変動することが明らかになった。

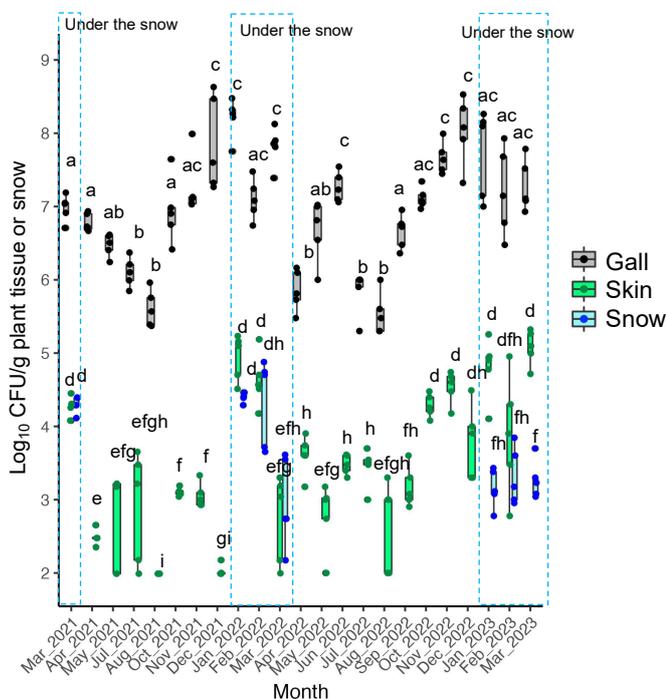


図 3 発病樹における TAV 密度の変動(北海道余市町現地圃場)(Kawaguchi et al., 2023a)

3. 階層ベイズモデル(Hierarchical Bayesian Model, HBM)による TAV 密度の変化に影響を与える要因の分析

次に、TAV 密度の推移と関連する環境要因を調べるため、階層ベイズモデル(HBM)を用いて要因分析を行った。階層ベイズモデルとは、ベイズ推定の理論に基づき、一つのパラメータに影響を与える別のパラメータの影響を考慮した統計モデルである。この方法は、不確実性を含む複雑な構造を持つ事象において、ある結果に関連する要因がどのくらい影響を及ぼしているのかを明らかにするメリットがあり、パラメータが別のパラメータ(ハイパーパラメータ)に影響を受ける場合(階層構造)をモデルに組み込むこともできる。ブドウ根頭がんしゅ病だけでなく、モモせん孔細菌病(Kawaguchi and Nanaumi, 2022)、ムギ類黒節病(Kawaguchi, 2022a)でも実例があるので参考にしてほしい(Kawaguchi and Nanaumi, 2022; Kawaguchi, 2022a)。本研究での HBM の式は以下の通り(Kawaguchi et al., 2023a):

$$q_i = \alpha + \beta_1 C_i + \beta_2 L_i + \beta_3 R_i + \beta_4 T_i + \beta_5 S_b, [1]$$

$$x_i = \alpha_2 + \beta_6 G_b, [2]$$

$$y_i \sim \text{Normal}(q_i, \sigma_1^2), [3]$$

$$C_i \sim \text{Normal}(x_i, \sigma_1^2), [4]$$

$$\sigma_1^2 \sim \text{Uniform}(0, 1.0e+4), [5]$$

$$\sigma_2^2 \sim \text{Uniform}(0, 1.0e+4), [6]$$

ここで q_i は癌種組織または表皮の TAV 密度の対数値, i はブドウ樹数, y_i は q_i の事後分布 (平均 q_i , 分散 σ_1^2 の正規分布に従う), σ_1^2 は平均 0, 分散 $1.0e+4$ の一様分布 (無情報事前分布) に従うハイパーパラメタ, C_i は x_i の事後分布 (平均 x_i , 分散 σ_2^2 の正規分布に従う), x_i は品種の違いを示すカテゴリー変数で C_i のハイパーパラメタ (事前分布), σ_2^2 は平均 0, 分散 $1.0e+4$ の一様分布 (無情報事前分布) に従うハイパーパラメタ, α_1 および α_2 は切片, $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4, \beta_5, \beta_6$ は説明変数の推定回帰係数である. 説明変数は C_i (ブドウ品種の違い, x_i の事後分布), L_i (場所の違いのカテゴリー変数), R_i (月ごとの降水量 (mm)), T_i (月ごとの平均温度 (°C)), S_i (月ごとの積雪の深さ (cm)), G_i (調査ブドウ樹の個体識別番号) である. 式 (2) において, C_i の品種の差にはその樹ごとの個体差が影響していると想定されるが, 調査樹の正確な来歴 (定植時期, 樹齢, 苗木の購入先) が不明だったことから, その個体差を G_i としてハイパーパラメタとし, 全体の式の中で階層構造とした (Kawaguchi et al., 2023a). データ解析は R パッケージ "cmdstanr" を用い, 式 (1~6) について Markov Chain Monte Carlo (MCMC) 法でデータサンプリング (No-U-Turn Sampler (NUTS)) によりパラメータ推定を行った (Kawaguchi et al., 2023a). 計算は独立して 4 回行い, それぞれ 10,000 回反復計算し, 最初の 1,000 回分を burn-in period として結果からは除外した. \hat{R} (R-hat) ≤ 1.05 でパラメータが収束していると判断した (Kawaguchi et al., 2023a).

表 1 階層ベイズモデルによる要因分析

目的変数	説明変数	回帰係数	回帰係数の平均値	標準偏差	\hat{R}	95%ベイズ信用区間	
						下限値	上限値
ブドウ樹の癌種組織内の TAV 密度	品種	β_1	-0.323	0.069	1.000	-0.459	-0.187
	場所	β_2	0.012	0.049	1.000	-0.085	0.107
	降水量	β_3	0.000	0.001	1.000	-0.001	0.002
	気温	β_4	-0.068	0.007	1.000	-0.082	-0.053
	積雪の深さ	β_5	-0.002	0.001	1.000	-0.003	0.001
	切片	α_1	7.515	0.165	1.000	7.192	7.837
品種	分散	σ_1^2	0.751	0.028	1.000	0.698	0.817
	樹の個体差	β_6	0.046	0.003	1.000	0.040	0.051
	切片	α_2	1.087	0.048	1.000	1.004	1.171
	分散	σ_2^2	0.515	0.019	1.000	0.480	0.553

TAV 密度に有意に影響を与えている要因の選抜には, 95%ベイズ信用区間の下限値と上限値が 0 を含まないことを条件とした. その結果, ブドウ樹の癌種組織内の病原菌密度に影響を与える要因として, 「品種」と「気温」が選抜された (表 1), ブドウ樹の表皮に生息している病原菌密度に影響を与える要因としては「気温」のみが選抜された (データ省略, Kawaguchi et al., 2023a 参照). 以上より, 病原菌密度に影響を与える要因として, 特に共通して気温の変動が関連することが明らかとなった.

4. Bayesian Change point Detection (BCD) による TAV 密度の変化点の検出

病原菌密度の変動が気温に影響されることがわかったので, 次に, 病原菌の密度が季節によっても変わることを明らかにするため, BCD で解析した. BCD とは, 時系列データが与えられたとき, データ列の傾向が変化するような点を検知するアルゴリズムである. 一般的に BCD の事前分布にはコーシー分布 (Cauchy ($x|\mu, \sigma^2$)) の逆累積確率分布 (式 7) を用いる (Peluso et al., 2019):

$$F^{-1}(x) = \mu + \sigma^2 \tan \{ \pi (x - 0.5) \}, [7]$$

本研究での BCD の式は以下の通り (Kawaguchi et al., 2023a):

$$\mu_t = \mu_{t-1} + \sigma^2 \tan \{ \pi (x_{t-1} - 0.5) \} + \beta_7 R_{t-1} + \beta_8 T_{t-1} + \beta_9 S_{t-1} + r, [8]$$

$$x_{t,l} \sim \text{Uniform}(0, 1), [9]$$

$$Y_t \sim \text{Normal}(\mu_t, \sigma_y^2), [10]$$

$$\sigma_y^2 \sim \text{Uniform}(0, 1.0e+4), [11]$$

$$r \sim \text{Normal}(0, \sigma_r^2), [12]$$

$$\sigma_r^2 \sim \text{Uniform}(0, 1.0e+4), [13]$$

ここで t は時間である. μ_t (TAV 密度(対数値)), $R_{t,l}$ (月ごとの降水量(mm)), $T_{t,l}$ (月ごとの平均温度(°C)), $S_{t,l}$ (月ごとの積雪の深さ(cm)) は観測値であり, $x_{t,l}$ は観測されない状態を示す(式 9, 無情報事前分布). 式 8 は $x_{t,l}$ の方程式(状態方程式)と観測値の方程式(観測方程式)の両方を含む. このようなモデルを状態空間モデルという. 状態空間モデルは既知の時系列データから次に得られる観測値を予測するために用いられることが多いが, ここでは過去の観測値の中で大きな変化を検出するために用いた. データ解析は R パッケージ "cmdstanr" を用い, 前述の HBM と同じ条件で行った.

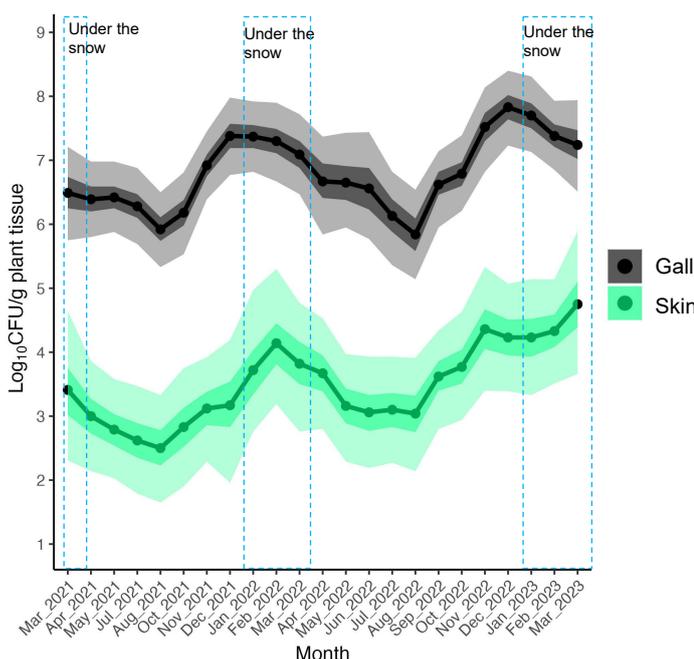


図 4 BCG による発病樹における TAV 密度の季節変動(北海道余市町現地圃場) (Kawaguchi et al., 2023a)
 グラフの濃い色の帯はベイズ 50%信用区間, 薄い色の帯はベイズ 95%信用区間を示す.

以上より, 年を通して TAV 密度の変化を BCD で解析した結果, 秋から冬にかけて TAV 密度が増加することが示された(図 4). 併せて, 積雪のある冬の間は高い TAV 密度が保たれていることも示された(図 4). この BCD では TAV 密度だけでなく環境要因 ($R_{t,l}$, $T_{t,l}$, $S_{t,l}$) も考慮されており, 実際の圃場における複数の要因の影響を受けている状態下での TAV の密度変化を確認できた. このように, BCD は複雑な要因を含む変化点検出に活用できる.

5. 積雪の有無が TAV 密度に与える影響

積雪の有無が病原菌密度に与える影響を調べるため, 同一のブドウ樹で, 雪に覆われている部分と覆われていない部分に分けて, TAV 密度を比較した. その結果, 雪に覆われている部分からは, 覆われていない部分に比べて約 100 倍高い密度で TAV が検出された(Kawaguchi et al., 2023a). 一般的に, 植物病原菌は 0°C 以下で活動を休止すると考えられるが, 雪に覆われることによって病原菌が冬眠状態となり, 高い病原菌密度が維持される環境条件では, 凍害等による大きな傷がなくても本病が発生しやすくなると考えられた. さらに, 春には雪溶けと共に発病樹の表皮や癌種で越冬した TAV が土壌に流れて翌年の伝染源になる可能性も考えられた. ブドウ根頭がんしゅ病の病原細菌 TAV は, 土壌伝染によりブドウ樹体内に侵入・感染して根頭がんしゅ病を発病させると, TAV は発病樹の癌種組織内だけに留まらず表皮にも移動して生存し, 冬は積雪に守られて越冬することで, 年間を通して生存して病原細菌として活動していると考えられた. 北海道の積雪地帯では深さ 1~2 m の積雪が 3 か月以上ブドウ樹を覆っている場合もあるが, 積雪の重さによりブドウ樹に強い物理的な負荷がかかることで樹に傷が

できる可能性を指摘している(Jitsuyama et al., 2022). 積雪下で高密度に保たれた TAV が、雪解け後に積雪の重さによるブドウ樹の物理的な傷に感染することも十分に考えられる。

6. おわりに

本研究では、ブドウ生産現場での GCG 多発生の原因を突き止めるため、主に TAV 菌株の動態に焦点を当てて研究を進めてきた。TAV 菌株の分子疫学的アプローチによる主要な伝染経路の推定(Kawaguchi et al., 2021), メタアナリシスによる GCG の生育に与える影響の評価(Kawaguchi, 2022), HBM による TAV 密度の変化に関わる要因分析および BCD による年間を通じて TAV 密度の変化点の検出(Kawaguchi et al., 2023a)などである。そして、積雪下で保存された高い TAV 密度が、積雪地帯で GCG が発生する原因の一つであることが示された(Kawaguchi et al., 2023a)。

農業生産現場に近い立場で病害防除研究に関わるほとんどの研究者が(もちろん私もそのうちの 1 人だが)、圃場での病原菌の動態に関心を持ち、それについて何とかして解明したいと思っているに違いない。しかし、それを実践している論文は意外と少ない。圃場における病原菌の動態解明にはさまざまな方法があると思われるが、私の場合は、圃場内で観察された罹病植物や分離された病原菌から得られたデータおよび環境データ(気象, 地理等)を用いた数理モデルによる要因分析や罹病植物の時空間分布解析などを行い、その結果を防除の根拠に繋げていくスタイルの研究が多い(Kawaguchi, 2022c; Kawaguchi et al., 2010, 2013, 2017b, 2018, 2021, 2022, 2023a, 2023c; Kawaguchi and Nanaumi, 2022; Kawaguchi and Suenaga, 2014; Kirino and Kawaguchi, 2019)。疫学の目的は「病気に関連する要因を明らかにして予防すること」である。若手研究者の皆さんの中で研究方法に悩んだ場合、これらの論文が少しでも参考になれば幸いである。

なお、本研究結果に基づくと、ブドウ生産現場に甚大な被害を及ぼす GCG の防除対策の方向性としては、未症状の感染苗木による発生地域の拡大を防ぐとともに、定植後の土壌伝染を防ぐことが求められる。さらに、雪解け後の感染を防ぐため、TAV 密度を低下させるような防除技術の開発が期待される。これまで著者らは、ブドウ根頭がんしゅ病の発病を強く抑制する拮抗細菌を発見し、その防除効果を圃場レベルで実証することに成功しており(Kawaguchi, 2013; Kawaguchi et al., 2005, 2007, 2008b, 2012, 2015, 2023b; Kawaguchi and Inoue, 2012; Wong et al., 2021), 拮抗作用機構の解明も同時に進めている(Ishii et al., 2024; Kawaguchi, 2014, 2015, 2022b; Kawaguchi et al., 2017a, 2019; Kawaguchi and Noutoshi, 2022a, 2022b; Noutoshi et al., 2020; Saito et al., 2018)。現在、新しい生物農薬として開発が進められていることから、このような新しい防除技術の導入により、本病の発生拡大の阻止および安定したブドウ生産の拡大が強く望まれる。

謝辞

本研究は JSPS 科研費 JP17H03778, JP20K20572, JP21K05606 の助成を受けたものである。

引用文献

- Burr, T. J., Bazzi, C., Süle, S., and Otten, L. (1998) Crown gall of grape: Biology of *Agrobacterium vitis* and the development of disease control strategies. *Plant Dis.* **82**:1288-129
- Ishii, T., Tsuchida, N., Hemelda, N. M., Saito, K., Bao, J., Watanabe, M., Toyoda, A., Matsubara, T., Sato, M., Toyooka, K., Ishihama, N., Shirasu, K., Matsui, H., Toyoda, K., Ichinose, Y., Hayashi, T., Kawaguchi, A., and Noutoshi, Y. (2024) Rhizoviticin is an alphaproteobacterial tailocin that mediates biocontrol of grapevine crown gall disease. *ISME J.* **18**:1–12. <https://doi.org/10.1093/ismej/wrad003>
- Jitsuyama, Y., Kita, Y., Arakawa, K., and Suzuki, T. (2022) A possibility of influence factors on winter physical damage of grapevines in a snowy vineyard. *Vitis* **61**: 125–132. <https://doi.org/10.5073/vitis.2022.61.125-132>
- Kawaguchi, A., Inoue, K., and Nasu, H. (2005) Inhibition of crown gall formation by *Agrobacterium radiobacter* biovar 3 strains isolated from grapevine. *J. Gen. Plant Pathol.* **71**:422-430.
- Kawaguchi, A., Inoue, K., and Nasu, H. (2007) Biological control of grapevine crown gall by nonpathogenic *Agrobacterium vitis* strain VAR03-1. *J. Gen. Plant Pathol.* **73**:133-138.
- Kawaguchi, A., Sawada, H., and Ichinose, Y. (2008a) Phylogenetic and serological analyses reveal genetic diversity of *Agrobacterium vitis* strains in Japan. *Plant Pathol.* **57**:747-753 <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01829.x>
- Kawaguchi, A., Inoue, K., and Ichinose, Y. (2008b) Biological control of crown gall of grapevine, rose, and tomato by nonpathogenic

- Agrobacterium vitis* strain VAR03-1. *Phytopathology* **98**: 1218–1225. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-11-1218>
- Kawaguchi, A., Tanina, K., and Inoue, K. (2010) Molecular typing and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in greenhouses in Japan. *Plant Pathol.* **59**: 76-83
- Kawaguchi, A., and Inoue, K. (2012) New antagonistic strains of non-pathogenic *Agrobacterium vitis* to control grapevine crown gall. *J. Phytopathol.* **160**:509–518. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2012.01939.x>
- Kawaguchi, A., Kondo, K., and Inoue, K. (2012) Biological control of apple crown gall by nonpathogenic *Rhizobium vitis* strain VAR03-1. *J. Gen. Plant Pathol.* **78**:287–293. <https://doi.org/10.1007/s10327-012-0388-4>
- Kawaguchi, A. (2013) Biological control of crown gall on grapevine and root colonization by nonpathogenic *Rhizobium vitis* strain ARK-1. *Microbes Environ.* **28**:306–311. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME13014>
- Kawaguchi, A., Tanina, K., and Inoue, K. (2013) Spatiotemporal distribution of tomato plants naturally infected with bacterial canker in greenhouses. *J. Gen. Plant Pathol.* **79**:46-50. <https://doi.org/10.1007/s10327-012-0416-4>
- Kawaguchi, A. (2014) Reduction in pathogen populations at grapevine wound sites is associated with the mechanism underlying the biological control of crown gall by *Rhizobium vitis* strain ARK-1. *Microbes Environ.* **29**: 296–302. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14059>
- Kawaguchi, A., and Suenaga-Kanetani, H. (2014) Spatiotemporal distribution of tomato plants naturally infected with leaf mold in commercial greenhouses. *J. Gen. Plant Pathol.* **80**:430–434. <https://doi.org/10.1007/s10327-014-0539-x>
- Kawaguchi, A., and Tanina, K. (2014) Genetic groups of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* identified by DNA fingerprinting and the effects of inoculation methods on disease development. *Eur. J. Plant Pathol.* **140**:399-406. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0475-9>
- Kawaguchi, A. (2015) Biological control agent *Agrobacterium vitis* strain ARK-1 suppresses expression of the *virD2* and *virE2* genes in tumorigenic *A. vitis*. *Eur. J. Plant Pathol.* **143**: 789–799. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0730-8>
- Kawaguchi, A., Inoue, K., and Tanina, K. (2015). Evaluation of the nonpathogenic *Agrobacterium vitis* strain ARK-1 for crown gall control in diverse plant species. *Plant Dis.* **99**:409–414. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-14-0588-RE>
- Kawaguchi, A., Inoue, K., Tanina, K., and Nita, M. (2017a) Biological control for grapevine crown gall using nonpathogenic *Rhizobium vitis* strain ARK-1. *Proc. Japan Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* **93**:547–560. <https://doi.org/10.2183/pjab.93.035>
- Kawaguchi, A., Tanina, K., and Takehara, T. (2017b) Molecular epidemiology of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains isolated from barley and wheat infected with bacterial black node. *J. Gen. Plant Pathol.* **83**:162–168. <https://doi.org/10.1007/s10327-017-0704-0>
- Kawaguchi, A., Yoshioka, R., Mori, M., Nishimura, F., Kawata, K., Tomioka, K., and Takehara, T. (2018) Spatiotemporal distribution of barley and wheat plants naturally infected with bacterial black node in fields in western Japan. *J. Gen. Plant Pathol.* **84**:35–43. <https://doi.org/10.1007/s10327-017-0757-0>
- Kawaguchi, A., Nita, M., Ishii, T., Watanabe, M., and Noutoshi, Y. (2019) Biological control agent *Rhizobium* (= *Agrobacterium*) *vitis* strain ARK-1 suppresses expression of the essential and non-essential *vir* genes of tumorigenic *R. vitis*. *BMC Res. Notes* **12**:1–6. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-4038-6>
- Kawaguchi, A., Sone, T., Ochi, S., Matsushita, T., Noutoshi, Y., and Nita, N. (2021) Origin of pathogens of grapevine crown gall disease in Hokkaido in Japan as characterized by molecular epidemiology of *Allorhizobium vitis* strains. *Life* **11**:1265. <https://doi.org/10.3390/life11111265>
- Kawaguchi, A. (2022a). Risk assessment of inferior growth and death of grapevines due to crown gall. *Eur. J. Plant Pathol.* **164**:613–618. <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02577-9>
- Kawaguchi, A. (2022b) Biocontrol of grapevine crown gall performed using *Allorhizobium vitis* strain ARK-1. *Appl. Microbiol.* **2**:981–991. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2040075>
- Kawaguchi, A. (2022c) Model-based forecasting of bacterial black node of barley by hierarchical Bayesian model. *J. Gen. Plant Pathol.* **88**, 48-54. <https://doi.org/10.1007/s10327-021-01035-4>
- Kawaguchi, A., and Noutoshi, Y. (2022a). Characterization of migration and inhibiting gall formation of *Rhizobium vitis* strain ARK-1, a biological control agent against grapevine crown gall disease. *J. Gen. Plant Pathol.* **88**:63–68. <https://doi.org/10.1007/s10327-021-01035-4>

- Kawaguchi, A., and Noutoshi, Y. (2022b). Insight into inducing disease resistance with *Allorhizobium vitis* strain ARK-1, a biological control agent against grapevine crown gall disease. *Eur. J. Plant Pathol.* **162**:981–987. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02440-3>
- Kawaguchi, A., and Nanaumi, T. (2022) Model-based forecasting of twig cankers incidence of bacterial spot of peach in Fukushima Prefecture. *J. Gen. Plant Pathol.* **88**:41–47. <https://doi.org/10.1007/s10327-021-01032-7>
- Kawaguchi, A., Kitabayashi, S., Inoue, K., and Tanina, K. (2022) An HLD model for tomato bacterial canker focusing on epidemics of the pathogen due to cutting by infected scissors. *Plants* **11**: 2253. <https://doi.org/10.3390/plants11172253>
- Kawaguchi, A., Nemoto, M., Ochi, S., Matsushita, Y., Sato, T., and Sone, T. (2023a) Insight into the population dynamics of pathogenic bacteria causing grapevine crown gall in snowfall areas: snow cover protects the proliferation of pathogenic bacteria. *Front. Plant Sci.* **14**:1198710. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1198710>
- Kawaguchi, A., Kirino, N., and Inoue, K. (2023b). Biological control for grapevine crown gall evaluated by a network meta-analysis. *Plants* **12**:572. <https://doi.org/10.3390/plants12030572>
- Kawaguchi, A., Kitabayashi, S., Inoue, K., and Tanina, K. (2023c) A PHLID model for tomato bacterial canker predicting on epidemics of the pathogen. *Plants* **12**: 2099. <https://doi.org/10.3390/plants12112099>
- Kirino, N., and Kawaguchi, A. (2019) Factors affecting primary infection and spatiotemporal patterns of tomato plants naturally infected with black leaf mold in commercial greenhouses. *J. Gen. Plant Pathol.* **85**:101–108. <https://doi.org/10.1007/s10327-018-00835-5>
- Noutoshi, Y., Toyoda, A., Ishii, T., Saito, K., Watanabe, M., and Kawaguchi, A. (2020) Complete genome sequence data of nonpathogenic *Rhizobium vitis* strain VAT03-1, a biological control agent for grapevine crown gall disease. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **33**:1451–1453. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-20-0181-A>
- Peluso, A., Chib, S., and Antonietta, M. A. (2019). Semiparametric Multivariate and Multiple Change-Point Modeling. *Bayesian Analysis.* **14**:727–751
- Saito, K., Watanabe, M., Matsui, H., Yamamoto, M., Ichinose, Y., Toyoda, K., Kawaguchi, A., and Noutoshi, Y. (2018) Characterization of the suppressive effects of the biological control strain VAR03-1 of *Rhizobium vitis* on the virulence of tumorigenic *R. vitis*. *J. Gen. Plant Pathol.* **84**:58–64. <https://doi.org/10.1007/s10327-017-0756-1>
- Wong, A. T., Kawaguchi, A., and Nita, M. (2021). Efficacy of a biological control agent *Rhizobium vitis* ARK-1 against Virginia *R. vitis* isolates, and relative relationship among Japanese and Virginia *R. vitis* isolates. *Crop Protect.* **146**:105685. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105685>

LED 光源を用いた UV-B 照射によるイチゴうどんこ病およびイチゴ炭疽病の抑制

The preventive effects of UV-B LED irradiation on strawberry powdery mildew and strawberry anthracnose

兵庫県立農林水産技術総合センター 内橋 嘉一

E - mail: Kaichi_Uchihashi@pref.hyogo.lg.jp

Abstract

UVL308 (LED light with peak wavelength at 308 nm) was more effective than UVL311 in suppressing strawberry powdery mildew and strawberry anthracnose. Wavelengths between 290 and 310 nm accounted for 55.3% of the total for UVL308, while only 38.9% for UVL311, which may explain the difference in effectiveness of disease control between the two LED lights. Furthermore, no leaf damage was observed in any of the tests. In the future, it will be necessary to develop LED light sources with the best wavelength to control powdery mildew and spider mites, taking advantage of the characteristics of LED light sources that can be adjusted to a narrow wavelength range. In this study, the author demonstrates the evidence that UVL308 could control strawberry powdery mildew and anthracnose more effectively than UVL311.

はじめに

イチゴうどんこ病菌は、胞子を空中に飛散させ、葉や果実の表面で発芽して菌糸を生じ、菌糸の一部を植物体内に挿入して養分を吸収する。発病が広がると葉、果実、葉柄、果梗、つぼみに菌そうが出現する (図 1)。そのため、開花結実期に発病すると果実の商品価値が失われ、経済的被害が大きい。近年育成され、各産地に普及しているイチゴ品種はうどんこ病に弱いものが多く、生産者の悩みの種になっている (岡山, 2023)。

イチゴ炭疽病には小葉、ランナー、葉柄、托葉などに発生する局所的な症状とクラウン内部が褐変し、萎凋枯死する全身症状がある (図 2)。降雨やかん水により飛散するため、盛夏期の強い夕立や台風の襲来後に発生が急に増える。



図 1 イチゴうどんこ病



図 2 イチゴ炭疽病

イチゴ病害の防除には殺菌剤が用いられるが、耐性菌の発生が問題となってきた (岡山ら, 1994 ; 稲田ら, 2008)。そのため、殺菌剤以外の防除法が検討され、イチゴうどんこ病に対し、280~315 nm の波長の近紫外光照射による物理的防除が実用化された (神頭ら, 2011 ; 関根ら, 2014)。国内のイチゴ栽培において UV-B 電球形蛍光灯 (パナソニックライティングデバイス株式会社, 大阪) が普及している。

UV-B 照射はバラうどんこ病 (小林ら, 2014)、ナス科植物のすすかび病 (岡田・岡, 2014)、トマトうどんこ病 (Suthaparan et al., 2016, 2018) イチゴ炭疽病 (関根ら, 2014)、パセリうどんこ病 (西村ら, 2017) など、幅広い植物病害に対して抑制効果がある。紫外光照射による防御関連遺伝子の発現及び糸状菌の生育抑制が効果のメカニズムとして確認されている (神頭ら, 2011 ; Suthaparan et al., 2016, 2018)。

さらに、UV-B は一般的に DNA の損傷と活性酸素の生成を通じて生物にダメージを与えることからハダニへ致命的影響があることが明らかになっている (Sakai and Osakabe, 2010)。イチゴ栽培において反射資材の株元設置により、葉

裏に UV-B 反射光を当てることでハダニに効かせることができ (Tanaka et al., 2016), イチゴうどんこ病の防除効果も向上する (図 3; 農研機構, 2019). しかし, 反射資材により地温が低下する (図 4; 農研機構, 2019) ため, 冬春期に生育を抑制する課題があることから, 葉裏に直接 UV-B を照射できる技術が求められている.

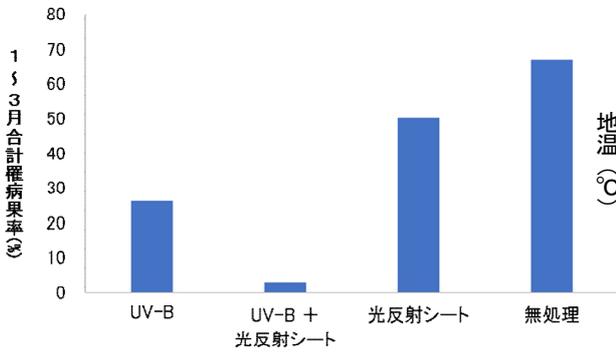


図 3 UV-B と光反射シートの併用がイチゴうどんこ病罹病果実率に及ぼす影響

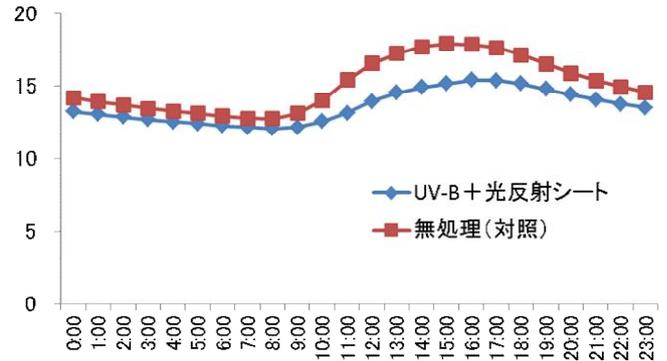


図 4 UV-B と光反射シートの併用が 2 月の時間別平均地温に及ぼす影響

※この研究はSIP「次世代農林水産業創創技術」新たな植物保護の支援を受けて実施

そこで, 出力や波長域を調整できる Light Emitting Diode (以下, LED) 光源の利用に注目した (Kusuma et al., 2020). 新たに開発された異なる波長域を持つ 2 種の LED 光源による UV-B 照射のイチゴうどんこ病, イチゴ炭疽病に対する抑制効果, および葉の傷害への影響についてどちらが上回るか調べた (内橋ら, 2024).

1. LED 光源とその波長特性

UV-B の照射には, 308 nm 付近に中心波長を有する LED 光源 (日機装株式会社, 東京; 以下, UVL308 とする) と, 311 nm 付近に中心波長を有する LED 光源 (以下, UVL311 とする) を用いた (内橋ら, 2024). UVL308 の波長分布は 308 nm をピークとする一峰性で, ピーク値は $0.53 \mu\text{W}/\text{cm}^2$, 280 nm から 315 nm の UV-B の波長域に全波長の 75.5% が含まれた (図 5 a). UVL311 の波長分布は 311 nm をピークとする一峰性で, ピーク値は $0.64 \mu\text{W}/\text{cm}^2$, 全波長の 63.9% が UV-B の波長域に含まれた (図 5 b). 各光源を株上に設置し (図 6), 夜間 3 時間照射した後の試験における UV-B 照射量は水平照度で $1.5 \sim 2.0 \text{kJ}/\text{m}^2/\text{日}$ であった.

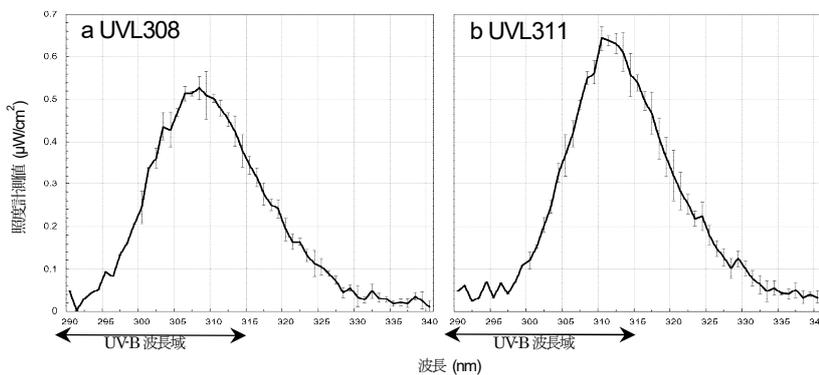


図 5 LED 光源の波長特性

分光放射照度計 (USR-45: ウシオ電機株式会社) により, 光源からセンサーまで 1 m の距離で, 290~340 nm の範囲の照度を 1 nm ごとに測定した. エラーバーは SD 値を示す.

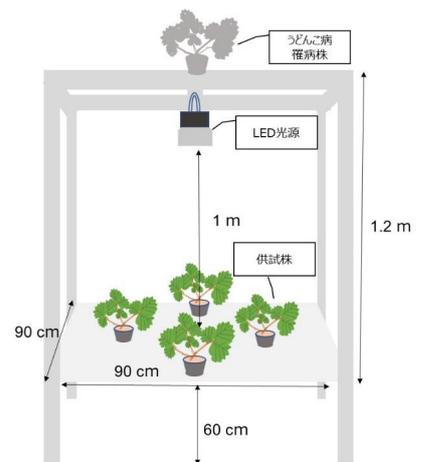


図 6 試験ブースにおけるうどんこ病の接種
各試験ブースは遮光資材 (ハクリョク: 三菱ケミカルアグリドリーム株式会社) で区切った.

2. イチゴうどんこ病の抑制

試験は、温風暖房機により 8°C 設定で冬季の加温を行ったガラス温室（間口 5.8 m，奥行 8 m）に設けた試験ブースで行った（図 6；内橋ら，2024）。試験 1 では，UVL308 区のうどんこ病への発病抑制は高く，UVL311 区を大きく上回った（表 1）。秋冬期に試験を行ったため，照射開始日から調査まで 92 日間と，長い期間を要し，病勢の進展が緩やかであったためと考えられる。一方，試験 2 は，春期の試験であったため，無照射区の発病小葉率が 40% 超と感染圧が高い条件となり，UVL308 区と UVL311 区の双方で防除価 60 程度に留まった。秋冬期に，試験 1 よりも感染圧が強い条件下で実施した試験 3 では，UV-B 照射量が試験 2 より低かったが，UVL308 区の防除価は 80 以上と，試験 2 に比べて発病抑制は高かった。

このことから，照射量よりも春先の気温や発生量の増加による感染圧の高まりの方が UV-B のうどんこ病に対する発病抑制に及ぼす影響は大きいと考えられる。これら試験条件が異なる 3 つの試験から一定の結論を得るため，GLMM によって解析したところ，UV-B の照射は，無照射に対して UVL308 を使用した場合では，オッズ比は 0.16，UVL311 では 0.21 となり，両者のオッズ比を比べると UVL308 の方が UVL311 よりも発病リスクが低いことが示唆された（表 2）。

関根ら（2014）は，0.5~1.3 kJ/m²/日の UV-B の夜間照射が無照射に比べてうどんこ病発病株率の抑制程度が 3 月下旬ではおおむね 2 分の 1 に留まることを報告した。本試験は，うどんこ病の発生が増加する春期に発病抑制が下がる点で関根ら（2014）の報告とおおむね結果が一致する。以上のことから，イチゴの生育初期である秋冬期のうどんこ病防除に UVL308 および UVL311 は有効であるものの，病勢の進展が早い春期には，殺菌剤による防除との組み合わせが必要と考えられる。

表 1 LED 光源を用いた UV-B 照射のイチゴうどんこ病抑制

	試験区	調査小葉数 ^{a)}	発病小葉数	発病小葉率 ^{b)}		発病度 ^{c)}	葉の 傷害 ^{d)}	防除価 ^{e)} 発病小葉率	防除価 ^{f)} 発病度
				%	%				
試験 1	無照射	108	12	11.1		3.9	—		
	UVL308 ^{g)}	108	1	0.9	**	0.2	—	91.9	94.9
	UVL311 ^{h)}	108	3	2.8	*	1.4	—	74.8	64.1
試験 2	無照射	108	45	41.7		20.1	—		
	UVL308	108	17	15.7	**	6.0	—	62.4	70.1
	UVL311	108	16	14.8	*	9.0	—	64.5	55.2
試験 3	無照射	108	23	21.3		6.7	—		
	UVL308	108	3	2.8	***	1.2	—	86.9	82.1
	UVL311	108	9	8.3	*	2.3	—	61.0	65.7

a) 各区 12 株の展開葉(3 小葉)のうち上位 3 葉を調査対象とし，株当りの小葉数に株数を乗じた。b) アスタリスクは各区の小葉の発病有無を応答変数とし，UV-B 照射を説明変数として，誤差構造に 2 項分布，リンク関数にロジット変換を仮定した一般化線形モデルに当てはめ，処理を行わなかった場合のモデルからの逸脱度を χ^2 分布に近似して有意差検定を行った。その際，各試験の無照射区と処理区の組み合わせ数に応じてボンフェローニ補正を行なった。* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ *** : $p < 0.001$ c) 発病度 = $(4 \times A + 3 \times B + 2 \times C + D) / (4 \times \text{調査小葉数}) \times 100$ A : 発病面積率 50% 以上の小葉数 B : 25% 以上 50% 未満 C : 5% 以上 25% 未満 D : 5% 未満 E : 発病なし d) 葉の傷害ありを「+」とし，なしを「-」とした。e) 防除価(発病小葉率) = $100 \times \{1 - (\text{処理区の発病小葉率} / \text{無照射区の発病小葉率})\}$ f) 防除価(発病度) = $100 \times \{1 - (\text{処理区の発病度} / \text{無照射区の発病度})\}$ g) 308nm 近辺の波長の UV-B を照射できる LED ランプを 23 : 00~26 : 00 に毎日照射した。h) 311nm 近辺の波長の UV-B を照射できる LED ランプを 23 : 00~26 : 00 に毎日照射した。

表2 LED光源を用いたUV-B照射がイチゴうどんこ病の発病に及ぼす影響 (一般化線形混合モデル^{a)})

説明変数	参照	回帰係数	標準偏差	z値	p値	オッズ比 ^{b)}
LED光源によるUV-B照射						
UVL308	無照射	-1.82	0.44	4.14	3.54×10^{-5}	0.16
UVL311	無照射	-1.55	0.43	3.62	2.95×10^{-4}	0.21
切片		-1.48	0.28	5.34	9.50×10^{-8}	
ランダム効果における						
標準偏差の最尤推定値			1.28			
標準誤差			0.20			
p値(尤度比検定)			2.16×10^{-11}			
残差逸脱度			183.8			
自由度			104			

a) 応答変数は各株の発病小葉数と未発病小葉数の行列、誤差構造は2項分布、UV-B照射を固定効果とした。また、株、反復、試験ごとのばらつきを考慮して供試株をランダム効果とした。

b) ネイピア数を回帰係数でべき乗して算出した。

3. イチゴ炭疽病の抑制

イチゴ炭疽病については、試験4でUVL308, 311の両区とも発病小葉率から算出した防除価は30程度、多発条件であった試験5では同30以下と低く、関根ら(2014)の報告と概ね一致した(表3;内橋ら, 2024)。さらに、これらの結果をGLMMにより解析したところ、無照射に対してUVL308を使用した場合、オッズ比は0.53となり、発病するリスクが低くなることを示している(表4)。一方、UVL311の発病抑制は判然としなかった。炭疽病は頭上灌水や降雨により分生子が飛散し、主に育苗期に急速に伝染する病害である。このため、その防除は罹病株の除去や殺菌剤使用を主体とし、補完的にUVL308を活用することが望ましいと考えられる。

表3 LED光源を用いたUV-B照射のイチゴ炭疽病抑制

試験区	調査小葉数 ^{a)} (株数)	発病小葉数	発病小葉率 ^{b)} %	病斑数 ^{c)} 個/株	葉の 傷害 ^{d)}	防除価 ^{e)} 発病小葉率	防除価 ^{f)} 病斑数			
試験4	無照射	135(9)	72	53.3	37.2	a ^{g)}	—			
	UVL308 ^{h)}	135(9)	47	34.8	*	16.7	b	—	34.7	55.1
	UVL311 ⁱ⁾	90(6) ^{j)}	32	35.6	**	20.5	ab	—	33.2	44.9
試験5	無照射	144(12)	111	77.1	95.0	a	—			
	UVL308	144(12)	81	56.3	***	59.7	a	—	26.9	37.2
	UVL311	144(12)	98	68.1		75.5	a	—	11.7	20.5

a) 各株の展開葉(3小葉)のうち、試験4は上位5葉を、試験5は上位4葉を調査対象とし、株当りの小葉数に株数を乗じた。b) アスタリスクは各区の小葉の発病有無を応答変数とし、UV-B照射を説明変数として、誤差構造に2項分布、リンク関数にロジック変換を仮定した一般化線形モデルに当てはめ、処理を行わなかった場合のモデルからの逸脱度を χ^2 分布に近似して有意差検定を行った。その際、各試験の無照射区と処理区の組み合わせ数に応じてボンフェローニ補正を行なった。*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ c) 各反復の平均値を用いた。d) 葉の傷害ありを「+」とし、なしを「-」とした。e) 防除価(発病小葉率) = $100 \times \{1 - (\text{処理区の発病小葉率} / \text{無照射区の発病小葉率})\}$ f) 防除価(株当たり病斑数) = $100 \times \{1 - (\text{処理区の株当たり病斑数} / \text{無照射区の株当たり病斑数})\}$ g) 異なるアルファベットを付した区はTukeyの多重検定で有意な差があることを示す。h) 308 nm 近辺の波長のUV-Bを照射できるLEDランプを23:00~26:00に毎日照射した。i) 311 nm 近辺の波長のUV-Bを照射できるLEDランプを23:00~26:00に毎日照射した。j) 2反復のデータ。

表4 LED光源を用いたUV-B照射がイチゴ炭疽病の発病に及ぼす影響 (一般化線形混合モデル^{a)})

説明変数	参照	回帰係数	標準誤差	z値	p値	オッズ比 ^{b)}	
LED光源によるUV-B照射							
	UVL308	無照射	-0.63	0.28	2.24	0.03	0.53
	UVL311	無照射	-0.19	0.29	0.63	0.53	0.83
切片			0.47	0.20	2.37	0.02	
ランダム効果における							
標準偏差の最尤推定値			0.69				
標準誤差			0.12				
p値(尤度比検定)			3.666×10 ⁻⁸				
残差逸脱度			114.7				
自由度			56				

a) 応答変数は各株の発病小葉数と未発病小葉数の行列、誤差構造は2項分布、UV-B照射を固定効果とした。また、株、反復、試験ごとのばらつきを考慮して供試株をランダム効果とした。

b) ネイピア数を回帰係数でべき乗して算出した。

4. 波長が病害抑制や葉への傷害に及ぼす影響

今回、供試したUVL308およびUVL311は、いずれの試験でも葉への傷害を引き起こさなかった(表1,2;内橋ら, 2024)。1.15, 1.73 kJ/m²/日のUV-B蛍光灯の夜間照射は、イチゴ葉の軽度の傷害を引き起こす(農研機構, 2019; Tanaka et al., 2016)。一方、LED光源を用いた本研究では、‘章姫’に比べ、葉の傷害が出やすい品種である‘さちのか’(農研機構, 2019)を用いた試験2, 4で、1.7~2.1 kJ/m²/日のUV-B照射であったにも関わらず、葉の傷害は認められなかった。

これは、供試したLED光源の波長域が、UV-Bの領域内の比較的狭い範囲に分布し、葉の傷害を引き起こす290 nm以下の波長を含まないためである可能性が考えられる(図5)。Suthaparanら(2016)は、トマトうどんこ病に対して、290~310 nmのUV-B照射は照射時間が長いほど効果はあるが、310 nm以上の波長域では効果がないと報告している。UVL308では、290~310 nmの波長域は全体の55.3%を占めるのに対し、UVL311では38.9%にとどまっており(図5)、これが、イチゴうどんこ病に対するUVL308の発病抑制がUVL311を上回った要因と考えられる。さらに、供試したLED光源はUV-Bが引き起こしたトマトうどんこ病菌のDNA損傷を回復させる350~500 nmの波長(Suthaparan et al., 2018)をほとんど含まないことも発病抑制にプラスに働いたと推察できる。

まとめと今後の活用

以上のことから、UVL308は、イチゴうどんこ病を抑制し、また、程度は低いものの炭疽病を抑制し、それらはUVL311を上回ることが明らかとなった。UV-B照射はPathogenesis-Related protein遺伝子を始めとしたイチゴの防御関連遺伝子の発現量を上昇させる(Kanto et al., 2009; Kanto et al., 2014; Ota et al., 2021)。また、290~310 nmのUV-B照射はトマトうどんこ病菌の分生子の発芽やトマトへの感染を阻害する(Suthaparan et al., 2016)。これらのことから、前述のように供試したLED光源に多く含まれる290~310 nmの波長域のUV-B照射が、イチゴの病害抵抗性を誘導するとともに、うどんこ病菌や炭疽病菌の分生子に静菌的に作用し、両病害を抑制したと考えられる。

今後、波長域を調整できるLED光源の特性を活かし、イチゴ栽培においては傷害を引き起こさず、イチゴうどんこ病やハダニ防除に最適な波長を組合せたLED光源が開発されると、消費エネルギーを抑えたイチゴ栽培が可能になると考えられる。また、照射強度を制御できるLED光源では、弱い照度での株付近や葉裏からの近接照射も可能になる。今後は、UV-B照射による傷害が問題となるメロン、トマト、ナスなど立性の作物や、バラなど葉裏へのUV-B照射が困難な栽培等、幅広い植物種での活用が期待できる。

謝 辞

本研究を共同で実施いただいた日機装株式会社の皆様，本稿の紹介の場を提供していただいた日本植物病理学会 EBC 研究会の運営に携わる方々に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 稲田 稔・石井英夫・Chung, Wen-Hsin・山田智子・山口純一郎・古田明子 (2008). ストロビルリン系薬剤耐性イチゴ炭疽病菌 [Colletotrichum gloeosporioides (Glomerella cingulata)] の発生. 日植病報 74: 114-117.
- Kanto, T., Matsuura, K., Yamada, M., Usami, T. and Amemiya, Y. (2009). UV-B radiation for control of strawberry powdery mildew. Acta Hort. (ISHS) 842: 359-362.
- 神頭武嗣・松浦克成・小河拓也・宇佐見俊行・雨宮良幹 (2011). 紫外光 (UV-B) 照射によるイチゴうどんこ病の防除. 植物防疫 65 (1): 28-32.
- Kanto, T., Matsuura, K., Ogawa, T., Yamada, M., Ishiwata, M., Usami, T. and Amemiya, Y. (2014). A new UV-B lighting system controls powdery mildew of strawberry. Acta Hort. (ISHS) 1049: 655-660.
- 小林光智衣・藤川貴史・佐藤 衛・久松 完・神頭武嗣・山田 真・石渡正紀 (2014). 紫外光照射 (UV-B) によるバラうどんこ病の発病抑制. 植物防疫 68 (2): 1-5.
- Kusuma, P., Pattison, M. P. and Bugbee, B. (2020). From physics to fixtures to food: current and potential LED efficacy. Hort. Res. 7: 56.
- 西村文宏・森 充隆・佐藤衛 (2017). UV-B 照射によるパセリーうどんこ病の防除効果. 関西病虫研報 59: 15-20.
- 農研機構 (2019). 紫外光照射を基幹としたイチゴの病害虫防除マニュアル～技術編～. pp. 9-31. https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/files/kakisigaisennwebmain.pdf (2024年7月12日アクセス確認)
- 岡田清嗣・岡久美子 (2014). UV-B 照射によるナス科作物の病害防除. 植物防疫 68 (2): 6-13.
- 岡山健夫・松谷幸子・新子悟志・酒井善弘・萩原敏弘 (1994). イチゴうどんこ病菌の DMI 剤に対する感受性の低下. 日植病報 60: 350. (講要)
- 岡山健夫 (2023) 「高品質のイチゴはうどんこ病に弱い，その対策は？」 iPlant 1(6)
- Ota, E., Nishimura, F., Mori, M., Tanaka, M., Kanto, T., Hosokawa, M., Osakabe, M., Satou, M. and Takeshita, M. (2021). Up-regulation of pathogenesis-related genes in strawberry leaves treated with powdery mildew-suppressing ultraviolet irradiation. Plant Pathol. 70: 1378-1387.
- Sakai, Y. and Osakabe, M. (2010). Spectrum-specific damage and solar ultraviolet radiation avoidance in the two-spotted spider mite. Photochem. Photobiol. 86: 925-932.
- 関根崇行・近藤 誠・伊藤博祐・辻 英明・山田 真 (2014). 紫外光照射 (UV-B) によるイチゴ病害抑制効果. 北日本病虫研報 65: 93-97.
- Suthaparan, A., Solhaug, K. A., Stensvand, A. and Gislerød, H. R. (2016). Determination of UV action spectra affecting the infection process of *Oidium neolycopersici*, the cause of tomato powdery mildew. J. Photochem. Photobiol. 156: 41-49.
- Suthaparan, A., Pathak, R., Solhaug, K. A. and Gislerød, H. R. (2018). Wavelength dependent recovery of UV-mediated damage: tying up the loose ends of optical based powdery mildew management. J. Photochem. Photobiol. 178: 631-640.
- Tanaka, M., Yase, J., Aoki, S., Sakurai, T., Kanto, T. and Osakabe, M. (2016). Physical control of spider mites using ultraviolet-B with light reflection sheets in greenhouse strawberries. J. Econ. Entomol. 109: 1758-1765.
- 内橋 嘉一・高野 仁・田中 雅也・田坂 勝次・神頭 武嗣 (2024). LED 光源を用いた UV-B 照射によるイチゴうどんこ病およびイチゴ炭疽病の抑制. 日植病報 90: 5-13.