III. キュウリ褐斑病の発生に対する気象要因の影響

▶宇佐見 俊行・園家 結・荒木 七海・尾崎 梨花
（千葉大学大学院園芸学研究科・千葉大学園芸学部）

はじめに

キュウリ褐斑病は，糸状菌*Corynespora cassiicola*によって引き起こされる病害である．褐斑病菌は主に葉に感染し，感染初期にはハローを伴う小斑点を生じるが，病斑が拡大すると円形あるいは不整形となり，病斑上には多数の分生子が形成されて第二次伝染源となる．本菌の被害は，1980年代以降にブルームレス台木が普及することで顕在化したとされる（挾間，1993；挾間ら，1993）．また，本病害の防除においては殺菌剤が重要な役割を負うが，これまでにベンズイミダゾール系剤，QoI（quinone outside inhibitors）剤，ボスカリド剤など様々な殺菌剤に対する耐性菌が国内外で報告されている（宮本，2019）．圃場での感染リスクの推定結果に基づいて適切なタイミングで最小限の殺菌剤散布を行うことは，殺菌剤耐性菌の発生を防止するためにも極めて重要である．そして，感染リスクの正確な推定を行うためには，褐斑病菌の生理や生態に関する正確な情報が必要である．

キュウリ褐斑病の発生生態に関する研究については，国内においては挾間（1993）が様々な角度から精力的に調査を行い，報告している．しかし，挾間の調査研究は1980年代を中心に行われたものであり，それ以来長い年月が経過している．そこで本研究では，近年日本で発生しているキュウリ褐斑病菌について，その生理生態を改めて調査した．なお，本研究結果の一部は，口頭発表（荒木・宇佐見，2020；尾崎・宇佐見，2020；園家・宇佐見，2022）および学術誌への投稿（Araki *et al.*，2021；Sonoke and Usami，2022）により既に公表した．

1. 分生子発芽および菌糸生育に対する温度の影響

国内の罹病キュウリから分離された褐斑病菌の菌株をPDA平板に植菌し，各温度で1週間培養してコロニー直径を計測した（図1）．その結果，10～35℃で菌の生育が認められ，特に25～30℃で良好に生育したが，生育適温は30℃付近と考えられた．5℃および40℃では生育は認められなかった．これらの結果に，菌株間の差異は認められなかった．

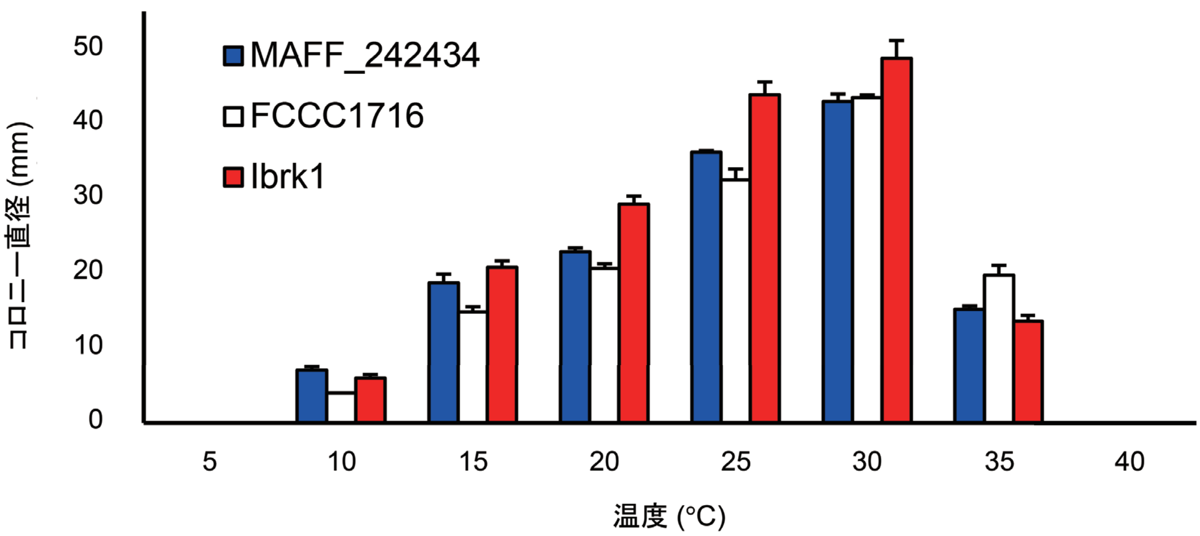

図1．キュウリ褐斑病菌の菌糸生育に対する温度の影響

菌株ごとにPDA平板3枚で1週間培養した平均値．エラーバーは標準誤差を示す．MAFF 242434は高知県，FCCC1716は福岡県，Ibrk1は茨城県の罹病株からの分離株．

また，褐斑病菌の分離株FCCC1716およびIbrk1を供試して，各温度下での分生子の発芽率を調査した（図2）．2菌株の実験結果は類似していたため，図にはFCCC1716の結果だけを掲載する．分生子発芽の適温は25～35℃で，この温度範囲ではほとんどの分生子が4時間以内に発芽した．それ以外の温度では発芽が遅延し，5℃では発芽がほぼ抑制された．40℃では6時間以内に40%程度の分生子が発芽したが，その後は横ばいで，24時間経過しても発芽率は上昇しなかった．

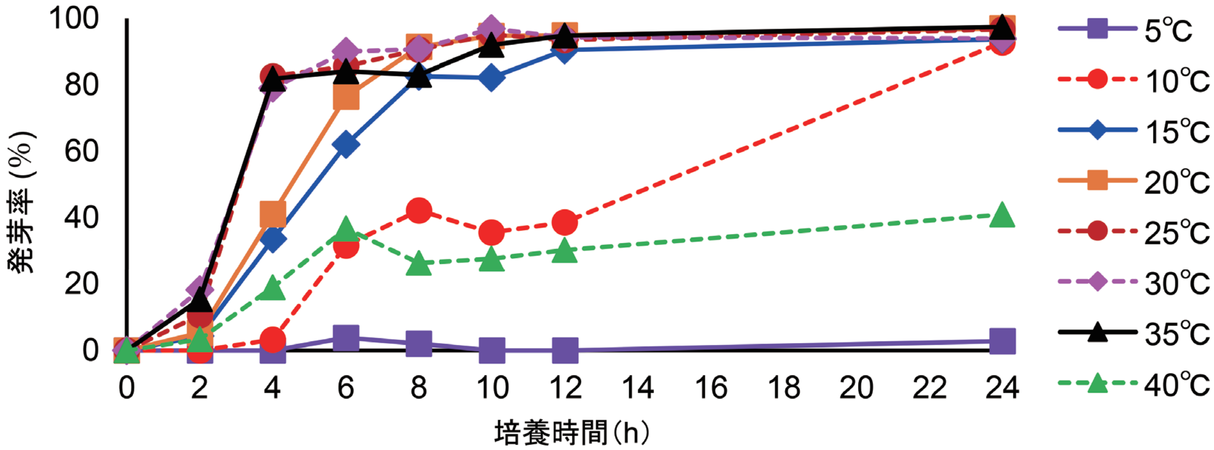

図2. キュウリ褐斑病菌の分生子の発芽に対する温度の影響

キュウリ褐斑病菌（福岡県分離株FCCC1716）の分生子を素寒天培地上に広げて各温度下に置き，暗黒下で24時間まで培養し，100個の分生子を観察して発芽率を算出した．

2. 菌の感染に対する温度および濡れ時間の影響

本葉5葉期のキュウリ（品種:'つやみどり'）の第2および第3本葉にキュウリ褐斑病菌FCCC1716の分生子懸濁液を噴霧接種し，各温度下で葉の濡れを6～48時間維持した．その後，葉を乾燥させて25℃で栽培し，接種5日後に病斑数を計数した（図3）．その結果，葉が48時間濡れていても，10℃および35℃では褐斑病菌はほとんど感染しなかった．15℃の場合も，感染はわずかであった．一方，褐斑病菌は20～30℃で顕著に感染した．25℃あるいは30℃では，12時間の葉の濡れによりわずかに感染した．しかし，褐斑病菌の顕著な感染のためには，20～30℃の温度で18時間以上の継続的な葉の濡れが必要であった．また，濡れ時間が長くなるに従って菌の感染は増加した．

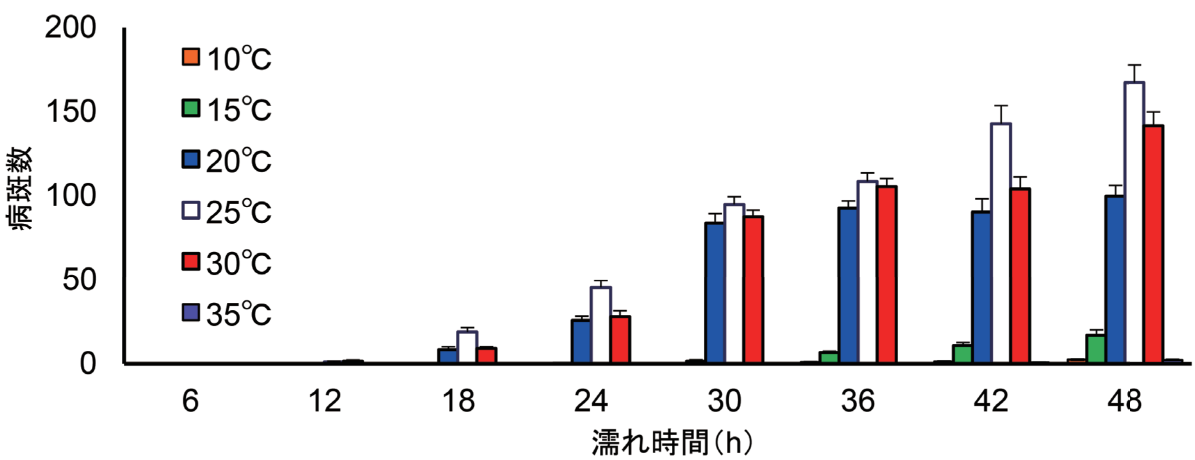

図3. キュウリ褐斑病菌の感染に対する温度および濡れ時間の影響

キュウリの葉に褐斑病菌を噴霧接種した後，各温度下で葉の濡れを6～48時間維持し，乾燥後に25℃で栽培して接種5日後に病斑を計数した．試験区ごとに4株（計8葉）のキュウリを用い，1葉あたりの平均病斑数を示した．エラーバーは標準誤差を示す．

3. 病斑上における分生子形成に対する温度・湿度および病斑の加齢の影響

本葉5葉期のキュウリ（品種：'つやみどり'）にキュウリ褐斑病の分生子懸濁液を噴霧接種し，25℃で48時間濡れを維持して菌を感染させた．その後は乾燥した条件下で栽培して病斑を形成させた．病斑を形成させた株を各温度下で相対湿度(以下，RHと略す)100%に48時間置いた後に病斑面積あたりの分生子形成数を計数した．あるいは，病斑を形成させた株をRH100%または各種塩類の飽和溶液により湿度を調整した容器内（25℃）に48時間置いた後に病斑面積あたりの分生子形成数を計数した．それらの結果を図4に示す．分生子形成は20～30℃で顕著に誘導されたが，特に30℃付近で多かった．30℃付近の温度を細かく調査した結果，28～30℃付近で分生子形成数が最も多かった．一方，15℃以下あるいは35℃以上ではほとんど形成されなかった．また，RH97%程度では分生子形成数が少なかったが，RH100%では大幅に増加した．

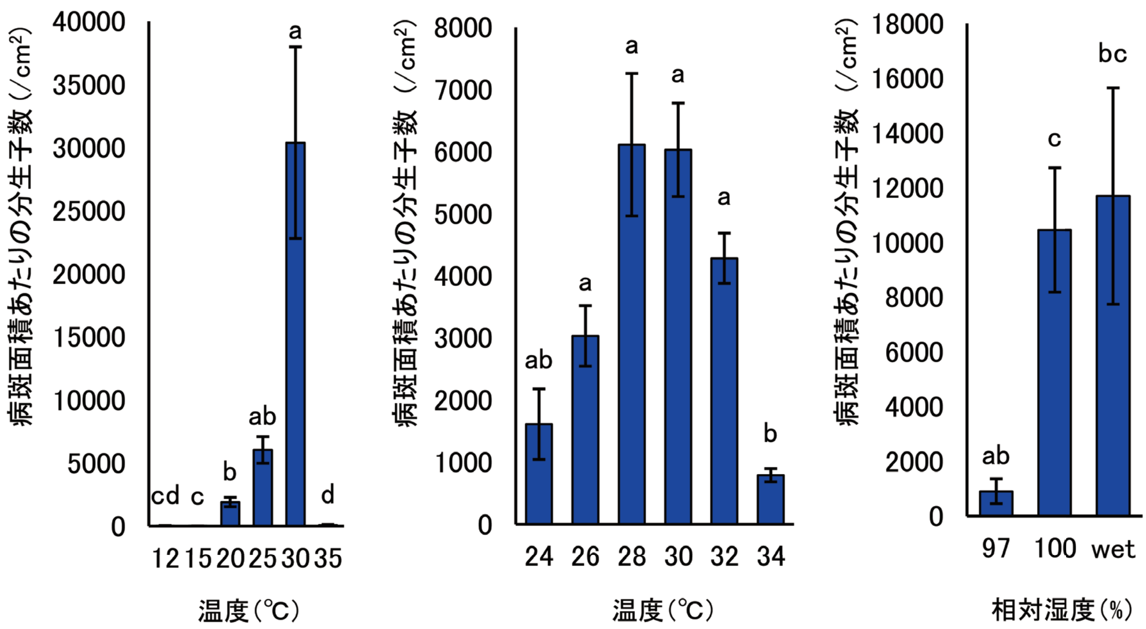

図4. キュウリ褐斑病菌の病斑上での分生子形成に対する温度および湿度の影響

キュウリ褐斑病の罹病株を異なる温度条件（左・中央）および湿度条件（右）に48時間置いて病斑面積あたりの分生子形成数を調査した．湿度の試験における「wet」は，病斑に水を噴霧して塗らした場合を示す．また，相対湿度は試験容器内に設置したデータロガーにて10分ごとに記録した数値の平均値を示す．試験区ごとに6サンプルを供試し，平均値を算出した．エラーバーは標準誤差を示す．異なるアルファベットは，Steel-Dwass検定により有意差（$p<0.05$）があることを示す．

次に，上記と同様にして褐斑病菌をキュウリに感染させ，接種後に異なる日数（2～8日）が経過した株を用意した．これを25℃・RH100%の条件下に2日間置くことで分生子形成を誘導し，病斑面積あたりの分生子形成数を計数した．また，分生子計数時における葉組織中の褐斑病菌DNAをリアルタイムPCRにより定量し，病斑面積あたりの菌バイオマス量を推定した．結果を図5に示す．分生子形成数は，接種4日後の病斑（接種2日後から分生子形成の誘導を開始）では少なかったが，接種5日後の病斑（接種3日後から分生子形成の誘導を開始）になると急増してピークとなり，その後は減少した．この時の葉組織内の褐斑病菌バイオマス量は，接種5日後でも多くはなく，接種後の日数が経過するに従って増加した．すなわち，接種5日後の病斑で面積あたりの分生子形成数が多いのは，組織中の菌が多いためではなく，分生子を形成する活性が高いためと推定された．

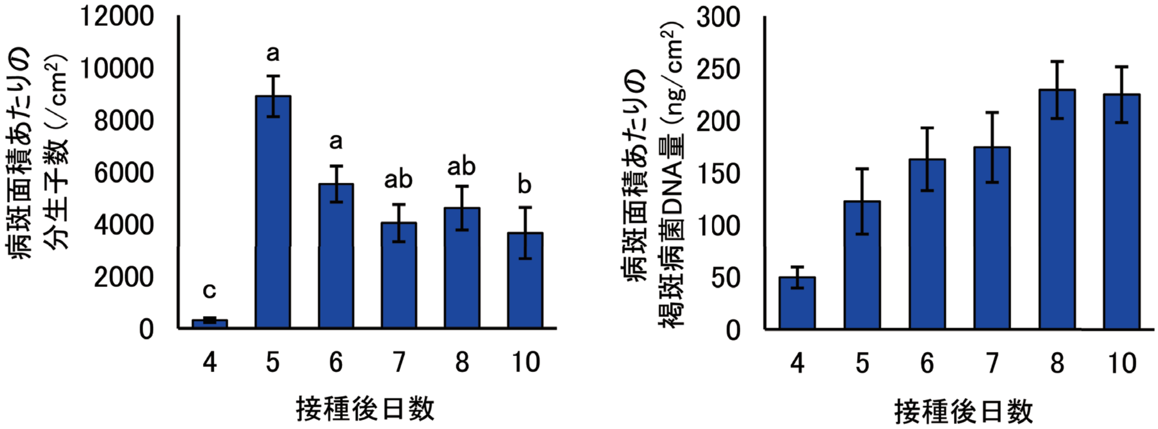

図5. キュウリ褐斑病菌の病斑上における分生子形成に対する病斑の加齢の影響

25℃下で褐斑病菌を接種して異なる日数（2～8日）が経過した病斑を25℃・RH100%の条件下に2日間置くことで分生子形成を誘導し，病斑面積あたりの分生子数を調査した（左）．同時に，葉組織中の褐斑病菌DNAをリアルタイムPCRにより定量した（右）．各グラフには，分生子計数時における接種後日数（分生子形成を誘導した2日間を含む）を示した．試験区ごとに6サンプルを供試し，平均値を算出した．エラーバーは標準誤差を示す．異なるアルファベットは，Steel-Dwass検定により有意差（$p<0.05$）があることを示す．

4. 病害発生リスクと品種の関係

様々なキュウリ品種を自根栽培で本葉5葉期まで育て，その第2本葉に褐斑病菌の分生子を噴霧接種した．接種後の株を25℃下で栽培し，接種2週間後に病斑数を計数するとともに，葉面積に占める病斑面積の割合を指数（0=病斑なし，1=5%未満，2=5～12.5%，3=12.5～25%，4=25～50%，5=50%以上）により評価した．その結果の一部を図6に示す．‘相模半白節成’は黒いぼ系（華南系）の伝統的品種で，褐斑病に耐病性を示す．その他は全て国内で生食用キュウリ栽培に用いられる白いぼ系（華北系）あるいはハイブリッド系品種である．いずれの品種でも一定の発病が見られたが，品種によっては黒いぼ系の相模半白節成と同程度の耐病性を示した．特に‘ちなつ’は複数の接種試験において安定した耐病性を示した．図6に示したものを含めて70あまりの品種に対して接種試験を行ったところ，‘極光607’や‘京しずく’も比較的安定した耐病性を示した．それらは本葉5葉期の第2葉においては耐病性を示したが，より大きく育った場合の下位葉（例えば15葉期の第4葉以下）では耐病性が弱くなり，感受性品種と同様に発病した（図7）．

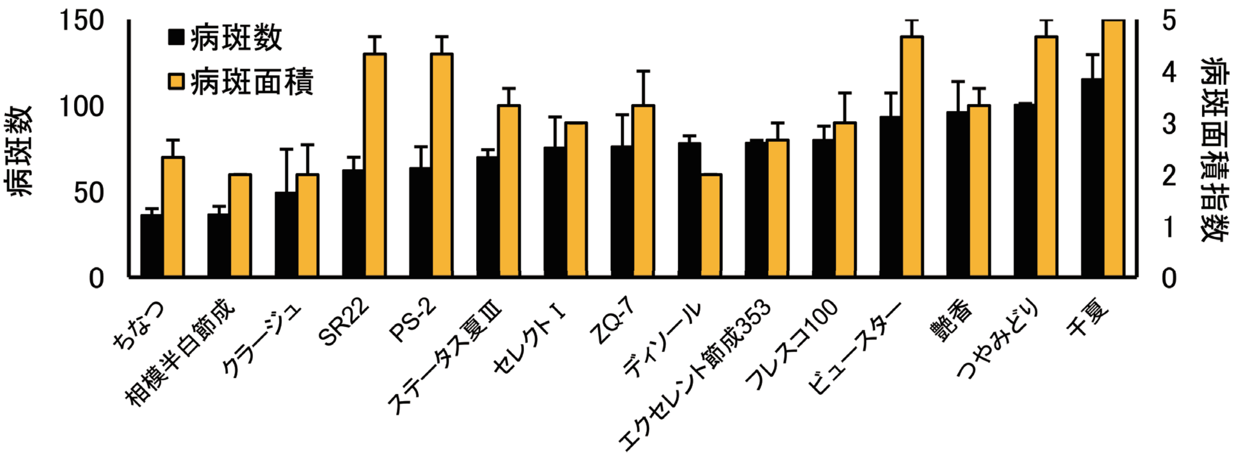

図6. キュウリ品種ごとの褐斑病の発病程度

5葉期の第2本葉に褐斑病菌を接種し，25℃で栽培して接種2週間後に病斑数と病斑面積を評価した．品種ごとに3株供試して平均値を算出した．エラーバーは標準誤差を示す．

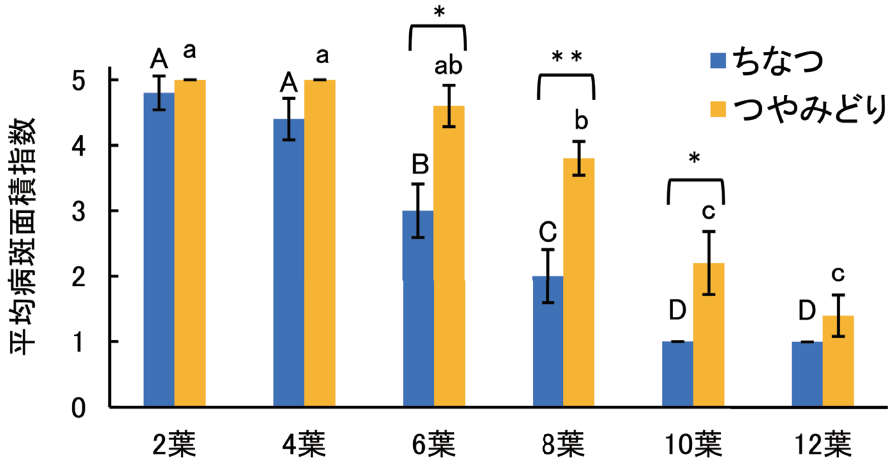

図7. 本葉15葉期のキュウリ品種における各葉位での発病程度

キュウリの品種'ちなつ'(耐病性)と'つやみどり'(感受性)を15葉期まで育て,褐斑病菌を接種して葉位ごとに病斑数と病斑面積を調査した. 品種ごとに6株供試して平均値を算出した. エラーバーは標準誤差を示す. 異なるアルファベットは, Steel-Dwass検定により有意差($p<0.05$)があることを示す. アスタリスク は Mann Whitney U 検定により有意差 (* $p<0.05$, ** $p<0.01$)があることを示す.

5. 考察

キュウリ褐斑病菌の菌糸生育および分生子発芽と温度の関係について,本研究で得られた結果は,挟間(1993)および西原(1966)によって報告されたものと概ね類似していた. ただし,挟間(1993)の報告では28℃で4時間培養した場合の発芽率は35%程度であったが,本研究の結果では25〜35℃のいずれの温度でも4時間の培養で80%程度の分生子が発芽した. さらに,挟間(1993)は39℃において分生子は発芽しないとしているが,本研究の結果では40℃でも24時間以内に約40%の分生子が発芽した. しかしながら,褐斑病菌のキュウリへの感染には20〜30℃で12〜24時間の葉の濡れが必要である点や,35℃では感染がほとんど認められない点は,本研究結果と挟間(1993)の報告は一致していた. 従って,本研究で調査した菌株が過去に報告されたものより素早く感染するとか,あるいは,より高い温度下で感染し得るわけではなかった.

興味深いことに,35℃において分生子発芽や菌糸生育は顕著であったが,キュウリへの感染はほとんど起きなかった. 挟間(1993)は,35℃下では付着器様構造の形成が抑制されることを報告しており,侵入器官の形成不全が高温下での本菌の感染を抑制している可能性がある. また,15℃での分生子発芽や菌糸伸長は20℃の場合とそれほど大きく変わらないが,キュウリへの感染頻度(病斑数)においては15℃の方が大きく劣った. このように,培養時と植物感染時では菌の温度感受性が大きく異なる場合もあり,注意が必要である. キュウリ褐斑病を起こす*C. cassiicola*は,トマト褐色輪紋病やピーマン黒枯病,ナス黒枯病を引き起こす病原菌でもある. Jones and Jones(1984)は,適温下で*C. cassiicola*がトマトに感染する際に16〜24時間の濡れ時間が必要であることを報告しており,これはキュウリに関する本研究や挟間(1993)の試験結果に一致する. しかし,ピーマンでは24〜48時間(下元, 2010),ナスでは9〜13時間(福西・山本, 1975)の濡れ時間で顕著な感染が認められると報告されており,植物の種類によって大きく異なる. このような相違も,前述した培養時と感染時の温度感受性の相違と同様に,植物と菌の相互作用の結果として生じるものと考えられる.

本病害の第二次伝染源となる病斑上の分生子は,28〜30℃でもっとも盛んに形成された. この結果も,挟間(1993)の報告に一致する. 一方,病斑上における分生子形成と湿度の関係については過去に報告がなかった. 病斑が水に濡れた場合は48時間以内に多数の分生子が形成されたが,病斑が濡れなくてもRH100%の環境であれば同等の分生子形成が誘導された. しかし,相対湿度が97%程度になると分生子形成数は大きく減少した. 従って,多量の分生子が形成されるためにはRH100%に限りなく近い環境が必要であると考えられた. また,病斑が形成されてからの時間の経過(病斑の加齢)も,分生子形成数に影響を与えた. 接種4日後の初期病斑においては,分

生子形成がほとんど認められなかったが，接種5日後では病斑面積あたりの分生子形成能がピークとなった．その後は，病斑の加齢に伴って形成能は減退した．接種5日目の若い病斑は概してサイズが小さいが，病斑面積あたりの分生子形成能は非常に高いため，第二次伝染源としては過小評価できないと考えられた．これに対して，加齢した病斑は面積あたりの分生子形成能は劣るが，病斑面積自体は拡大しているので，形成される分生子の絶対数はむしろ多くなる可能性もあり，第二次伝染源としてやはり警戒する必要がある．

黒いぼ系（華南系）のキュウリ品種は褐斑病に対して耐病性を示すことが報告されており（挾間，1993；挾間ら，1981），本研究で用いた‘相模半白節成’も病斑数および病斑面積ともに数値が小さかった．しかし，‘相模半白節成’を含めて本研究に供試した70あまりの品種は全て褐斑病に対して一定程度の感受性を有し，海外で報告されるような単一遺伝子による強力な抵抗性（Abul-Hayja *et al*., 1978; Wen *et al*., 2015）を持つような品種は確認できなかった．それでも‘ちなつ’や‘極光607’などの品種は，黒いぼ系の相模半白節成と同程度の耐病性を示した．伊藤（2013）によれば，‘ちなつ’を育成する際の育種素材には「褐斑病に強い外国産キュウリ」が使用されており，それに由来する遺伝子が耐病性を付与している可能性がある．ただし，耐病性の認められた品種においても，株の生育が進んだ場合の下位葉では耐病性の減退が認められ，そのような株や葉では発病リスクは高くなると考えられた．このことは，耐病性品種では栽培初期の発病が抑えられる（初発が遅い）が，栽培後期になると急激に発病してくるという栽培圃場での現象（畔栁，2016）に矛盾しない．

摘　要

本研究では，日本国内で発生しているキュウリ褐斑病菌について，その生理生態的性質を調査した．その結果，10～35℃で菌糸伸長が認められ，特に25～30℃で良好に生育し，生育適温は30℃付近と考えられた．5℃および40℃では生育は認められなかった．分生子発芽の適温は25～35℃で，この温度範囲ではほとんどの分生子が4時間以内に発芽した．それ以外の温度では発芽が遅延し，5℃ではほとんど発芽しなかった．また，植物への感染は20～30℃において顕著で，これらの温度下で葉が12時間濡れていれば感染が認められたが，顕著な感染のためには18時間以上の継続的な濡れが必要であった．また，濡れ時間が長くなるに従って菌の感染は増加した．10℃および35℃ではほとんど感染しなかった．分生子形成は20～30℃で顕著に誘導され，28～30℃付近で病斑面積あたりの分生子形成数が最も多かった．15℃以下あるいは35℃以上ではほとんど形成されなかった．また，RH97%程度では形成数が少なかったが，RH100%または病斑が濡れた場合では大幅に増加した．病斑面積あたりの分生子形成数は，接種5日後（25℃）の若い病斑で多く，病斑が古くなると減少した．調査した全てのキュウリ品種は褐斑病に対して一定の感受性を示したが，黒いぼ系品種の‘相模半白節成’と同程度の耐病性を示す品種もあった．しかし，株が大きく育った場合の下位葉では耐病性が弱くなり，発病するリスクが高くなると考えられた．

引用文献

Abul-Hayja, Z., Williams, P.H., and Peterson, C.E. (1978). Inheritance of resistance to anthracnose and target leaf spot in cucumbers. Plant Dis. Rep. 62: 43–45.

Araki, N., Ozaki, R., and Usami, T. (2021). Factors associated with occurrence of target leaf spot of cucumber. Acta Horticulturae 1312: 431-438.

荒木七海・宇佐見俊行（2020）．キュウリ品種の褐斑病に対する感受性の相違．日植病報 86: 172.

福西　務・山本　勉（1975）．ナス黒枯病菌の生理，生態および伝染経路（ハウス栽培のナス黒枯病に関する研究Ⅱ）．徳島農試報　14: 59-73.

挾間　渉（1993）．キュウリ褐斑病の発生生態と防除に関する研究．大分県農業技術センター特別研究報告　2: 1-105.

挾間　渉・冨来　務・佐藤俊次・安藤俊二（1981）．キュウリ褐斑病の防除に関する研究　1．大分県における初発生並びに品種間差異．九州農業研究　43: 88.

挾間　渉・森田鈴美・加藤徳弘(1993). ブルームレス台木接ぎ木キュウリにおける褐斑病抵抗性の低下. 日植病報 59: 243-248.
伊東　正(2013). 蔬菜の新品種18(公益財団法人　園芸植物育種研究所編). 株式会社誠文堂新光社, 東京.
Jones, J.P. and Jones, J.B. (1984). Target spot of tomato: epidemiology and control. Proc. Fla. State Hortic. Soc. 97: 216-218.
畔柳泰典(2016). キュウリ褐斑病の効率的な防除報. 平成27年度試験研究主要成果(岡山県農林水産総合センター農業研究所): 71-72.
https://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/502548_3749742_misc.pdf
宮本拓也(2019). キュウリ褐斑病菌およびうどんこ病菌のコハク酸脱水素酵素阻害剤耐性に関する研究. 茨城県農業総合センター研究報告 1: 1-41.
西原夏樹(1966). Corynespora菌によるキウリ褐斑病について(予報). 関東病虫研年報　13: 40.
尾崎梨花・宇佐見俊行(2020). 葉の濡れを維持する時間および温度がキュウリ褐斑病菌の感染に及ぼす影響. 日植病報 86: 171-172.
下元祥史(2010). ピーマン黒枯病の発病に及ぼす湿度および温度の影響. 四国植防　45: 1-5.
Sonoke, Y. and Usami, T. (2022). Environmental effects on the sporulation of Corynespora cassiicola in cucumber leaf spots. Acta Horticulturae (in press)
園家　結・宇佐見俊行(2022). キュウリ褐斑病の分生子形成に影響を与える因子. 日植病報 88: 226-227.
Wen, C., Mao, A., Dong, C., Liu, H., Yu, S., Guo, Y.D., Weng, Y., and Xu, Y. (2015). Fine genetic mapping of target leaf spot resistance gene cca-3 in cucumber, *Cucumis sativus* L. Theor. Appl. Genet. 128: 2495–2506.

Ⅳ. キュウリべと病の発生に対する気象要因の影響

▶宇佐見 俊行・長濱 野乃佳・佐々木 悠人・宮島 麻岐・滝沢 友莉子
（千葉大学大学院園芸学研究科・千葉大学園芸学部）

はじめに

キュウリべと病は，卵菌類*Pseudoperonospora cubensis*によって引き起こされる病害である．本菌に感染したキュウリの葉では，葉脈に囲まれた多角形の領域が淡黄色～褐色の病斑となる．高湿度下では病斑上に分生子（遊走子のう）が形成され，これが風などによって運ばれて第二次伝染源となる。分生子は水に濡れることで遊走子を放出し，これが遊泳後に被のう胞子となって発芽し，気孔より感染する．本菌による病害の発生は，他の多くの植物病害の場合と同様に，栽培圃場の気象や物理的環境の影響を大きく受ける．そのため，病害発生と気象条件の関係（Granke and Hausbeck, 2011; Granke *et al*., 2014; Holmes *et al*., 2015; Pouzeshimiyab and Fani, 2020）や，感染条件などについての数理モデルの構築（Arauz *et al*., 2010; Neufeld and Ojiambo, 2012; Sun *et al*., 2017），そして圃場での病害発生予測（Yang *et al*., 2007）などに関する研究も多く行われてきた．

環境条件などから病害の発生を高い精度で予測するためには，各条件下における病原菌の生理や生態を十分に知る必要がある．キュウリべと病菌の生理生態および疫学的性質に関しては国内外で多くの研究例があるが，海外ではCohenら（Cohen, 1977; Cohen and Eyal, 1977, 1980; Cohen and Rotem, 1969, 1970, 1971; Cohen *et al*., 1971）を中心として，国内では岩田（1952a;1952b）や稲葉ら（稲葉, 1975; 稲葉・梶原, 1975）を中心として，特に精力的な研究が行われている．しかし，例えば本菌の感染と温度の関係においては，Cohen（1977）が28℃以上では感染しないとする一方で，Neufeld and Ojiambo（2012）は30℃でも十分に感染すると報告するなど，研究調査事例ごとの相違点も散見される．このような相違は，発生している菌の生理や性質が地域ごとに異なるためかも知れない．日本国内に発生した菌については，樋浦（1929）や岩田（1952a;1952b）が発芽や感染，分生子形成に対する温度の影響などを調査して報告しているが，これらの報告からは数十年あるいは100年近くが経過している．そこで本研究では，2019年に日本国内（宮崎県）で発生したキュウリべと病菌について，病害の発生に関わる生理生態的特性を改めて調査した．なお，本研究結果の一部は，口頭発表（滝澤・宇佐見, 2020; 長濱・宇佐見, 2022）および学術誌への投稿（Nagahama and Usami, 2022）により既に公表した．

1. キュウリべと病の発生生態

1) 菌の感染および発病に対する温度の影響

本葉12葉期のキュウリ（品種：‘ハイ・グリーン 21’）の第2, 4, 6本葉の葉裏に，べと病菌の分生子懸濁液（分生子10^3個/ml）を噴霧接種（8μl/cm^2）し，10, 15, 20, 25, 30℃下で葉が濡れた状態を24時間維持した後，葉を乾燥させて引き続き同じ温度で栽培した．その結果，15, 20, 25℃では接種後3～4日で初期病斑の形成が認められ，その後病斑が発達した．一方で，10℃および30℃では，接種2週間後まで観察しても病斑の形成は認められなかった．

上記の結果では，温度が菌の感染に影響を与えたのか，発病に影響を与えたのかが判別できなかった．そこで，感染時の温度だけをコントロールする試験を行った．本葉5 葉期のキュウリ（品種：‘ハイ・グリーン 21’）の第3本葉の葉裏に，密度を変えたべと病菌の分生子懸濁液（分生子10^3個もしくは10^4個/ml）を噴霧接種（10μl/cm^2）し，5～30℃下で葉が濡れた状態を24時間維持した後に葉を乾燥させた．以降はいずれの試験区の株も25℃下で2週間まで栽培し，形成された病斑を計数した．その結果を図1に示す．5～25℃で接種した場合は菌の感染が認められたが，30℃ではほとんど感染しなかった．グラフにおいては視認できないが，30℃において分生子密度100個/cm^2で接種した際には1葉平均0.7個の病斑が観察された．また，結果は示していないが，1000個/cm^2の場合では1葉平均3.7個の病斑が観察された．

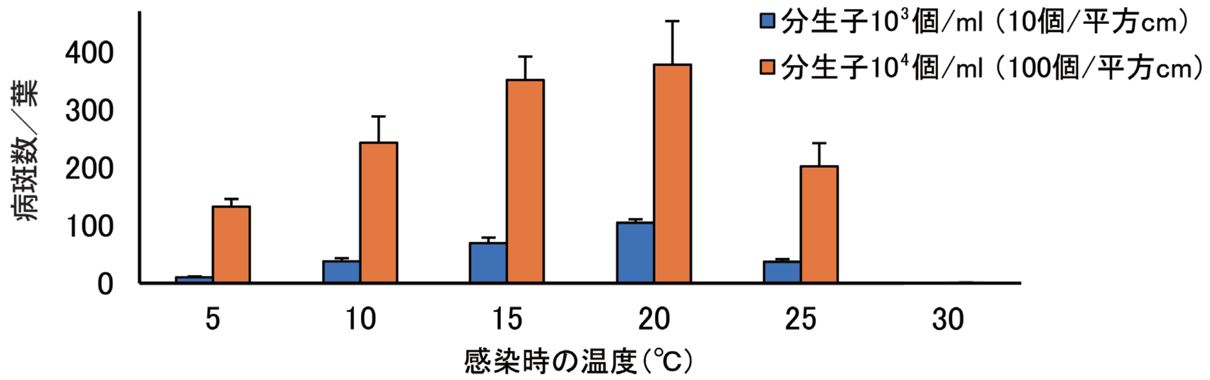

図1. キュウリべと病菌の感染に対する温度の影響

キュウリにべと病菌の分生子懸濁液（分生子10^3個もしくは10^4個/ml）を噴霧接種（10μl/cm^2）し，5～30℃下で葉が濡れた状態を24時間維持した後に葉を乾燥させた．以降は25℃下で2週間まで栽培し，形成された病斑を計数した．試験区ごとに3株（計3葉）のキュウリを用い，1葉あたりの平均病斑数を示した．エラーバーは標準誤差を示す．

2) 菌の感染に対する温度および濡れ時間の影響

本葉5葉期のキュウリ（品種：'ハイ・グリーン 21'）の第3本葉（または第3，4本葉）の葉裏に，べと病菌の分生子懸濁液を分生子75個または15個/cm^2となるように噴霧接種し，10～30℃下で葉が濡れた状態を1.5～24時間維持した後に葉を乾燥させた．以降はいずれの試験区の株も20℃下で2週間まで栽培し，形成された病斑を計数した．その結果を図2に示す．

データのオリジナリティーを維持する為、次のバージョンで掲載します。

図2. キュウリべと病菌の感染に対する温度および濡れ時間の影響

キュウリの葉にべと病菌の分生子を分生子75個/cm^2（グラフ上）または15個/cm^2（グラフ下）となるように噴霧接種し，10～30℃下で葉が濡れた状態を各時間維持した後に葉を乾燥させた．以降はいずれの株も20℃下で2週間まで栽培し，病斑を計数した．試験区ごとに3株のキュウリを用い，1葉あたりの平均病斑数を示した．エラーバーは標準誤差を示す．

べと病菌は5～25℃下で顕著に感染したが，20℃または25℃で感染させた場合において，特に短い濡れ時間で多くの病斑を生じた．しかし，分生子を75個/cm^2の密度で接種した場合でも濡れ時間1.5時間では感染は認められず（図2上），2時間でわずかに感染した．15～25℃下では3～4時間の濡れ時間で顕著な感染が認められた．より低温では感染に必要な濡れ時間は長くなった．30℃下では，ほとんど感染が認められなかった．

3) 乾燥による濡れの中断が感染に及ぼす影響

上記の研究結果のように，キュウリべと病の感染には一定の温度下で葉の濡れが一定時間維持される必要がある．プランテクトで環境好適条件が検出されるなど，感染リスクが高いと判断された場合に，農薬散布の代替手段として「一時的な乾燥による感染の抑制」が可能かどうかを検証した．本葉6～8葉期のキュウリ（品種：'ハイ・グリーン 21'）の第2，4本葉に，べと病菌の分生子懸濁液（分生子10^3個/ml）を噴霧接種し，15℃または25℃下で葉が濡れた状態を1～3時間維持した後，葉を乾燥させて乾燥状態を1時間維持した．その後，水を噴霧して再び濡らし，15℃または25℃下で濡れを24時間維持した．対照区は，噴霧接種後に乾燥させることなく濡れを24時間維持した．以降はいずれの試験区の株も20℃下で栽培し，接種7日後に病斑を計数した．その結果，いずれの温度でも，湿潤環境に置かれた菌が感染行動を開始してから一定時間以内に乾燥させると，植物がその後再び濡れたとしても，発病が大きく抑制された（図3）．25℃では，濡れが3時間持続した後の乾燥では発病が十分に抑制されなかったが，それでも乾燥させなかった対照区と比較して病斑数は有意に減少した．

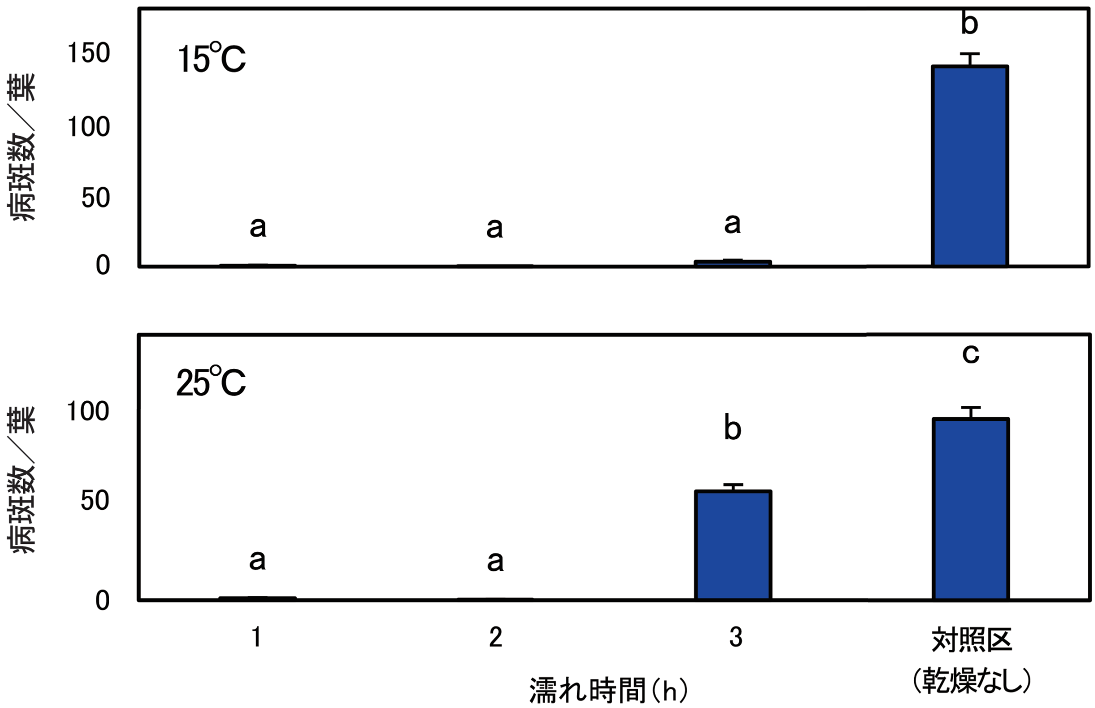

図3. キュウリべと病菌の感染に対する一時的な乾燥の影響

キュウリの葉にべと病菌の分生子を噴霧接種し，15℃（上）または25℃（下）で葉が濡れた状態を1～3時間維持した後，乾燥させ1時間維持した．その後，再び水を噴霧し，15℃または25℃下で濡れを24時間維持した．対照区は，噴霧接種後に乾燥させることなく濡れを24時間維持した．以降は全て20℃で栽培し，接種7日後に病斑を計数した．試験区ごとに3株（計6葉）のキュウリを用い，1葉あたりの平均病斑数を示した．エラーバーは標準誤差を示す．異なるアルファベットは，Steel-Dwass検定により有意差（$p<0.05$）があることを示す．

また，上記の試験では葉を一旦乾燥させた後に乾燥状態を1時間維持したが，生産圃場で長時間乾燥を維持するのは困難と思われるため，継続的な乾燥が必要かどうかを検証した．本葉5葉期のキュウリ（品種：'ハイ・グリーン 21'）の第3，4本葉に，上記の試験と同様にべと病菌の分生子を噴霧接種した．25℃で葉が濡れた状態を2時間維持してから葉を乾燥させ，その直後（0分）か，15分あるいは60分乾燥を維持した後に水を噴霧して再び濡らし，25℃下で24時間濡れを維持した．対照区は，噴霧接種後に乾燥させることなく濡れを24時間維持した．以降は全ての株を20℃で栽培し，接種7日後に病斑を計数した．その結果，乾燥を維持する時間に関係なく発病は顕著に抑制された（図4）．すなわち，葉が乾燥した時間を維持する必要はなく，所定の時間内に一旦乾燥すれば，べと病菌の感染は抑制されると考えられた．

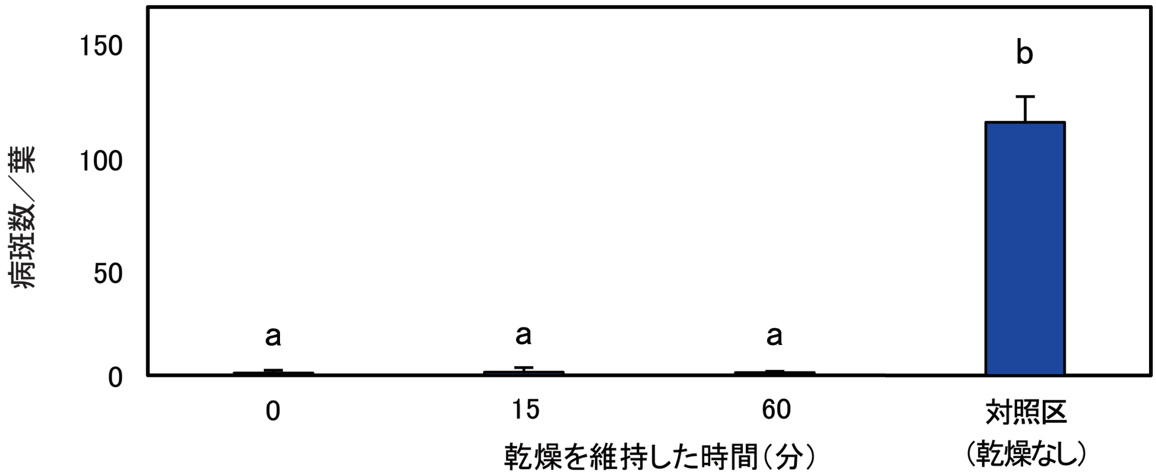

図4. キュウリべと病菌の感染に対する乾燥時間の影響

キュウリの葉にべと病菌の分生子を噴霧接種し，25℃で葉が濡れた状態を2時間維持した．葉を乾燥させ，その直後（0分）か，15分あるいは60分乾燥を維持した後に水を噴霧して再び濡らし，25℃下で24時間濡れを維持した．対照区は，噴霧接種後に乾燥させることなく濡れを24時間維持した．以降は全て20℃で栽培し，接種7日後に病斑を計数した．試験区ごとに3株（計6葉）のキュウリを用い，1葉あたりの平均病斑数を示した．エラーバーは標準誤差を示す．異なるアルファベットは，Steel-Dwass検定により有意差（$p<0.05$）があることを示す．

4) 病斑上における分生子形成に対する 温度・湿度の影響

これまでの試験と同様にしてキュウリ（品種：'ハイ・グリーン21'）にキュウリべと病菌を接種し，乾燥した条件下で栽培して葉に病斑を形成させた．そして，これを相対湿度（以下RHと略す）100%となるように密閉容器内に入れ，様々な温度の培養器内に24時間置いた後，病斑面積あたりの分生子形成数を計数した．次に，病斑を形成させた株をRH100%または各種塩類の飽和溶液により湿度を調整した容器内に入れ，20℃の暗黒下に24時間置いた後に病斑面積あたりの分生子形成数を計数した．それらの結果を図5に示す．分生子形成は10～25℃で顕著に誘導されたが，特に20℃で多かった．また，RH100%程度では顕著に分生子が形成されたが，高湿度であっても相対湿度が100%に至らない条件では，形成数が抑制された．

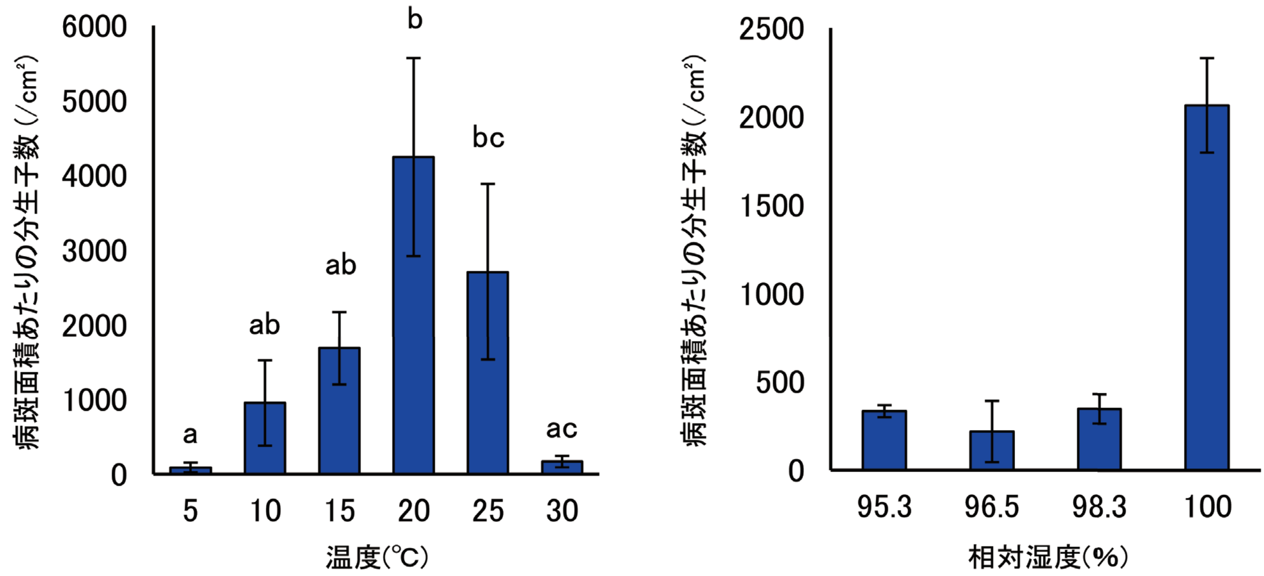

図5. キュウリベと病菌の病斑上での分生子形成に対する温度および湿度の影響

キュウリベと病の罹病葉を異なる温度条件(左)および湿度条件(右)に24時間置いて病斑面積あたりの分生子形成数を調査した. 相対湿度は, 試験容器内に設置したデータロガーにて10分ごとに記録した数値の平均値を示す. 試験区ごとに3葉供試し, 平均値を算出した. エラーバーは標準誤差を示す. 異なるアルファベットは, Steel-Dwass検定により有意差($p<0.05$)があることを示す.

2. 考察

本研究において, キュウリの葉にべと病菌を接種してから10〜30℃で維持した場合, 15〜25℃で発病が認められた. 一方で, 10℃および30℃では接種2週間以内での発病は認められなかった. 感染と発病の温度感受性を区別するために, 感染時の温度だけを変動させた実験(図1, 図2)では, 葉の濡れが数時間以上維持されれば10℃あるいは5℃でも顕著な感染が認められた. 一方, 30℃ではほとんど感染しなかった. この際, 接種する分生子の密度が低い場合(10個/cm^2, 図1; 15個/cm^2, 図2下)は一切感染が認められなかったが, 高い場合(100および1000個/cm^2, 図1; 75個/cm^2, 図2上)の場合はごくわずかに感染した. この結果は, 岩田(1952b)およびSun et al. (2017)の結果に準じている. しかし, Cohen(1977)は分生子密度が高い場合であっても28℃では一切感染しないとしている. 一方で, Neufeld and Ojiambo(2012)は30℃でも顕著な感染が認められることを報告している. 高温下での菌の生理生態については, 黒澤(1927)が30℃で発芽が認められないとする一方で, 岩田(1952a)は認められるとするなど, 報告により結果が異なる場合もある. このような相違は, 国や地域ごとの菌の性質や, 試験環境の違いに起因するのかもしれない.

図2の結果では, 20℃あるいは25℃で菌を感染させた場合に, 最も短い濡れ時間で顕著な感染が認められた. また, 図1においては15℃での感染頻度は20℃に次いで高く, 25℃を凌いだ. これらのことから, 本研究におけるキュウリベと病菌の感染好適温度は15〜25℃と考えられる. これは, 日本における岩田(1952b)の報告や, 海外におけるCohen(1977), Neufeld and Ojiambo(2012), Sun *et al*.(2017)の報告に, 概ね一致する. 好適温度下において, 感染に必要な最短の濡れ時間が2時間程度であることも, 岩田(1952b)やCohen(1977), Sun et al.(2017)の報告に一致する. ただし, Cohen(1977)は25℃において分生子10個/cm^{2}で接種した場合にはほとんど感染が認められないと報告しているが, 本研究で同じ分生子密度で接種した場合, 25℃では20℃と同様に短い濡れ時間で多数の病斑が形成され, 感染リスクが低いどころか適温に該当すると判断された. この点は大きな相違があるが, Neufeld and Ojiambo(2012)やSun *et al.*(2017)の報告を鑑みても, 25℃での感染・発病リスクは高いと考えられる.

一方, 圃場における第二次伝染源の発生リスクを推し量るために, 病斑上における分生子形成と温度および湿度の関係を調査した. その結果, 分生子形成の最適温度は20℃付近となり, 5℃や30℃ではほとんど形成されなかった. これは, 樋浦(1929)やCohen(1977), Sun *et al.*(2017)の報告と一致する. また, RH100%未満にお

ける相対湿度と分生子形成との関係については，Sun *et al.*（2017）がRH90%ではほとんど分生子形成が誘導されないことを報告している以外は，これまで情報がなかった．本研究において，塩類飽和水溶液により調湿して調査したところ，RH100%未満では分生子形成数が少ないことが明らかとなった．しかし，今回調査した温度や湿度以外にも病斑のステージや宿主の光合成量，光条件など様々な因子が分生子形成に影響を与えると言われるため（Cohen and Eyal, 1977; Cohen and Rotem, 1969; Cohen and Rotem, 1970; Cohen *et al.*, 1971; 稲葉，1975; 稲葉・梶原，1975; Perl *et al.*, 1972），圃場における分生子形成にはそうした諸条件が複雑に影響を与えると考えられる．

これまで述べてきたようなキュウリベと病菌の生理生態的知見は，圃場での病害発生リスクを推定するためだけでなく，病害の発生を抑制するためにも活用できる．本研究の試験結果から，菌が感染を成立させるために15℃では4時間程度の，25℃では3時間程度の濡れ時間が必要であることが明らかとなった．そこで，これらの時間が経過する前に葉を乾燥させることが，菌の感染にどのような影響を与えるかを調査した．その結果，15℃および25℃のいずれの場合でも，分生子が濡れを得て感染行動を開始してから3時間以内に乾燥させることで，菌の感染が有意に抑制された．感染のためにより長い濡れ時間が必要な15℃においては，3時間経過後に乾燥させた場合でもほとんど発病しなかった．さらに，この乾燥の際には長時間の乾燥状態の維持は必要なく，一旦完全に乾燥させれば，直後に再び濡らしたとしても感染は完全に抑制された．Cohen and Rotem（1971）およびCohen *et al.*（1971）は，水に濡れた分生子が発芽前に乾燥した場合，その生存率が大幅に減少することを報告している．本研究の結果も，それに準じていると考えられる．Cohen and Ben-Naim（2016）は，バジルの施設栽培において夜間にファンを稼働させて葉を乾燥させることで，バジルベと病を抑制できることを報告している．バジルベと病菌を引き起こす*Peronospora belbahrii*は直接発芽により感染するため，分生子から遊走子が放出されない．それでも乾燥により感染が抑制されることは，極めて興味深い．一方で国内では，暖房機を結露センサーにより制御して促成栽培キュウリのベと病を抑制する試みもされている（牛尾・竹内, 2006）．このように，圃場における発病リスクを高い精度で推定し，それに連動させた機器を用いて植物周辺の物理環境を自動的に改善する仕組みを構築できれば，効率的かつ省力的に病害を防除できる可能性がある．

摘　要

本研究では，キュウリベと病を引き起こす*Pseudoperonospora cubensis*の国内分離株について，病害の発生に関わる生理生態的特徴を調査した．まず，本菌をキュウリの葉に接種して10～30℃で栽培したところ，15～25℃では接種後3～4日で初期病斑が認められた．一方，10℃および30℃では発病しなかった．次に，各温度下における感染を調査したところ，5～25℃では感染が認められたが，30℃ではほとんど感染しなかった．接種後の葉の濡れ時間を変えながら各温度下における感染を調査したところ，20℃または25℃では特に短い濡れ時間で多くの病斑を生じた．15～25℃では最短2時間でわずかな感染が認められ，濡れが3～4時間維持されると感染が顕著になった．各試験の結果から，キュウリベと病菌の感染好適温度は15～25℃と判断された．また，本菌の感染が成立する前に葉を一旦乾燥させると，葉が再び濡れた場合でも発病は顕著に抑制されたため，農薬散布に替わる防除法として活用できる可能性も考えられた．一方，病斑上における分生子形成の最適温度は20℃で，5℃や30℃ではほとんど分生子が形成されなかった．分生子はRH100%で顕著に形成されたが，100%未満では形成数が少なかった．

引用文献

Arauz, L.F., Neufeld, K.N., Lloyd, A.L. and Ojiambo, P.S. (2010). Quantitative models for germination and infection of *Pseudoperonospora cubensis* in response to temperature and duration of leaf wetness. Phytopathology 100: 959-967.

Cohen, Y. (1977). The combined effects of temperature, leaf wetness, and inoculum concentration oninfection of cucumbers with *Pseudoperonospora cubensis*. Canadian Journal of Botany 55: 1478-1487.

Cohen, Y. and Ben-Naim, Y. (2016). Nocturnal fanning suppresses downy mildew epidemics in sweet basil. PLoS ONE 11(5): e0155330.

Cohen, Y. and Eyal, H. (1977). Growth and differentiation of sporangia and sporangiophores of *Psudoperonospora cubensis* on cucumber cotyledons under various combinations of light and temperature. Physiological Plant Pathology 10: 93-103.

Cohen, Y. and Eyal, H. (1980). Effects of light during infection on the incidence of downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) on cucumbers. Physiological Plant Pathology 17: 53-62.

Cohen, Y. and Rotem, J. (1969). The effects of lesion development, air temperature and duration of moist periods on sporulation of *Pseudoperonospora cubensis* in cucumbers. Israel Botany 18: 135-140.

Cohen, Y. and Rotem, J. (1970). Rate of lesion development in relation to sporulating potential of *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber. Phytopathology 61: 265-268.

Cohen, Y. and Rotem, J. (1971). Dispersal and viability of sporangia of *Pseudoperonospora cubensis*. Transactions of the British Mycological Society 57: 67-74.

Cohen, Y., Perl, M., and Rotem, J. (1971). The effect of darkness and moisture on sporulation of *Pseudoperconospora cubensis* in cucumbers. Phytopathology 61: 594-595.

Granke, L.L. and Hausbeck, M.K. (2011). Dynamics of *Pseudoperonospora cubensis* sporangia in commercial cucurbit fields in Michigan. Plant disease 95: 1392-1400.

Granke, L.L., Morrice, J.J., and Hausbeck, M.K. (2014). Relationships between airborne *Pseudoperonospora cubensis* sporangia, environmental conditions, and cucumber downy mildew severity. Plant disease 98: 674-681.

Holmes, G.J., Ojiambo, P.S., Hausbeck, M.K., Quesada-Ocampo, L., and Keinath, A.P. (2015). Resurgence of cucurbit downy mildew in the United States: A watershed event for research and extension. Plant Disease 99: 428-441.

稲葉忠興 (1975). キュウリベと病菌の胞子形成. 植物防疫29: 441-446.

稲葉忠興・梶原 敏宏 (1975). キュウリベと病の病態生理学的研究. 農業技術研究所報告, C, 病理・昆蟲 29: 65-139.

黒澤英一(1927).胡瓜露菌病菌の性質に就いて. 台湾博物学会会報17: 1-18.

樋浦　誠(1929).農業植物の露菌病に関する研究(Ⅱ)胡瓜露菌病と気象との関係.各務研究報告(岐阜高等農林学校)　6: 1-54.

岩田吉人(1952a).胡瓜露菌病菌分生胞子の発芽と温度との関係に就て.三重大学農学術報告　5: 35-41.

岩田吉人 (1952b). 胡瓜葉の露菌病感染に要する時間に就いて. 三重大学農学部学術報告5: 42-49.

Nagahama, N. and Usami, T. (2022). Drying leaves suppresses cucurbit downy mildew caused by Pseudoperonospora cubensis. Acta Horticulturae (in press).

長濱野乃佳・宇佐見俊行(2022).温度および湿度がキュウリベと病菌の分生子形成に及ぼす影響.日植病報 88: 226.

Neufeld, K.N. and Ojiambo, P.S. (2012). Interactive effects of temperature and leaf wetness duration on sporangia germination and infection of cucurbit hosts by *Pseudoperonospora cubensis*. Plant disease 96: 345-353.

Perl M., Cohen Y., and Rotemab J. (1972). The effect of humidity during darkness on the transfer of assimilates from cucumber leaves to sporangia of *Pseudoperonospora cubensis*. Physiological Plant Pathology. 2: 113-122.

Pouzeshimiyab, B. and Fani, S.R. (2020). Epidemiology and aerobiology of *Pseudoperonospora cubensis* in northwest Iran. Italian Journal of Agrometeorology 2: 109-116.

Sun, S., Lian, S., Feng, S., Dong, X., Wang, C., Li, B., and Liang, W. (2017). Effects of temperature and moisture on sporulation and infection by *Pseudoperonospora cubensis*. Plant Disease 101: 562-567.

滝沢友莉子・宇佐見俊行（2020）. 葉の濡れを維持する時間および温度がキュウリべと病菌の感染に及ぼす影響. 日植病報 86: 172.

牛尾 進吾・竹内 妙子 （2006）. キュウリ促成栽培における結露センサー付き暖房機制御装置を利用したべと病の発病抑制. 関東東山病害虫研究会報 53: 51-54.

Yang, X.T., Li, M., Zhao, C.J., Zhang, Z., and Hou, Y.L. (2007). Early warning model for cucumber downy mildew in unheated greenhouses. New Zealand Journal of Agricultural Research 50: 1261-1268.