

トルコギキョウ斑点病におけるハウス内資材の 汚染状況と発病好適温度の検討

成山秀樹^{*}・石井貴明¹⁾

2015年以降、福岡県をはじめ全国的に発生地域が拡大している、糸状菌*Pseudocercospora nepheloides*によるトルコギキョウ斑点病について、ハウス内資材の汚染状況と感染・発病好適温度について検討した。複数のハウス内資材から発芽可能な分生孢子が検出され、ハウス内資材が次作での伝染源になっている可能性が示唆された。*P. nepheloides*のPDA培地上での生育好適温度、植物体上での感染・発病・分生孢子形成好適温度を調査した。PDA培地上では15～30℃で生育し、25℃で最も生育が良好であった。植物体上では15～30℃で発病が確認され、30℃で最も発病程度が高かった。25℃以下では病斑上に分生孢子が形成されたが、30℃では形成されず、30℃で管理した植物体を25℃で管理すると分生孢子は形成された。以上の結果は、高温の夏季には発病が目立たないが、秋季になり気温が低下すると急激に発病する、生産圃場における発病状況と一致した。

[キーワード：分生孢子，伝染源，ハウス内資材，好適温度，トルコギキョウ斑点病]

Investigation of *Pseudocercospora nepheloides* Contamination in a Greenhouse and the Optimum Temperature for *Eustoma grandiflorum* Infection. NARIYAMA Hideki and Takaaki ISHII (Fukuoka Agriculture and Forestry Research Center, Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. For. Res. Cent.* 6:5-9(2020)

Leaf spot disease in *Eustoma grandiflorum* caused by *Pseudocercospora nepheloides* originated in Fukuoka Prefecture in 2015, and it has spread all across Japan since then. In this study, we investigated the contamination of gardening materials in a greenhouse and identified the optimum temperature for the proliferation of this disease pathogen. Spores detected on some materials in the greenhouse could germinate, suggesting that the contaminated materials in the greenhouse acted as pathogen sources. We also determined the effect of temperature on the growth of the fungus on PDA nutrient medium, rate of infection, disease progression, and sporulation on plant cultivars. The fungus grew between 15℃ and 30℃, and optimum growth was observed at 25℃. Symptoms were evident between 15℃ and 30℃, being most prominent at 30℃. On plants, spores were formed only at or below 25℃ but not at 30℃. When the plants were relocated from 30℃ to 25℃, sporulation occurred. These results are similar to those observed in diseased fields in summer and autumn.

[Key words: gardening materials, leaf spot disease, optimum temperature, *Pseudocercospora nepheloides*, spore]

緒 言

トルコギキョウ斑点病（以下、斑点病）は、*Pseudocercospora nepheloides* によって引き起こされる糸状菌性の病害である（Braun *et al.* 2009）。本病は、トルコギキョウ（*Eustoma grandiflorum*）の葉に黒褐色や灰褐色のすす状の斑紋を生じ、商品価値を大きく低下させる。病徴が伸展すると葉枯れを生じ、幼苗期に発病した場合は株が枯死することもある（石井ら 2011）。

1954年にドミニカ共和国で初めて発生が確認され、以後1996年にアルゼンチンで、2003年に米国で発生が報告された（Wolcan 2005）。日本においては、2008年に福岡県の育苗中の苗で初めて発生が確認された（石井ら 2011）。その際の苗は処分され、その後当該圃場や周辺で、本病の発生は確認されなかった。しかし、2015年頃から、本病は福岡県を含む九州各県で一斉に発生し始め、全国的に発生地域が拡大した。2019年9月時点で、東北から沖縄までの18県から特殊報が発出されている（福岡県 2017、鳥取県 2019）。

現在、福岡県では育苗期から本圃に至るまで本病が

発生し、被害を受けている。これまで日本では発生が限定的であったため、本病に関する報告が少なく、防除対策が確立されていない。伝染源や発病好適温度の解明は、栽培環境の改善策や防除対策を確立する上で、重要な知見である。伝染源については、同じ*Pseudocercospora* 属菌による病害であるオクラ葉すす病やトマトすすかび病は、罹病残渣が伝染源となっていることが明らかとなっている（岸 1998）。また、取り除いた罹病株を圃場周辺に野積みしている圃場では発病しやすい（石井 未発表）ことから、罹病残渣が伝染源となっている可能性は高い。一方、罹病残渣の影響の小さい育苗施設内においても発病しており、汚染資材が伝染源になっている可能性も考えられる。本試験では、ハウス内資材に付着した分生孢子が伝染源になっている可能性について検討するため、ハウス内資材における分生孢子の付着状況について調査した。さらに、感染・発病好適温度および分生孢子形成温度を明らかにするため、温度別接種試験を実施した。

*連絡責任者（病害虫部：nariyama-h6360@pref.fukuoka.lg.jp）

1) 現 福岡県農林水産部経営技術支援課

材料および方法

1 ハウス内資材の汚染

ハウス内資材における分生胞子の付着および生死を確認するため、試験を行った。

福岡県香春町、久留米市 2 圃場 (A, B とする)、宮若市の計 4 圃場で調査を実施した。調査時期は、香春町が 2018 年 6 月、久留米市 A が同年 11 月、宮若市および久留米市 B が 2019 年 4 月で、香春町と久留米市 A はハウス 2 棟について、久留米市 B と宮若市はハウス 1 棟について調査した。

調査対象資材は、フラワーネット、フラワーネット支柱、ハウス内張ビニールの天井面 (以下内張ビニール)、ハウス内張ビニール用パイプ (以下内張用パイプ)、ハウス被覆ビニール側面の内側 (以下被覆ビニール)、ハウス側面のアーチパイプ (以下アーチパイプ)、ハウス側面の防虫ネット (以下防虫ネット) の 7 資材とした。1 資材につき 20 箇所について、1.5 cm×2.5 cm のセロハンテープの粘着面を資材の表面に付け、分生胞子を採取した。次に、セロハンテープの粘着面をスライドグラス上に垂らした水滴の上に乗せ、25℃で 2～4 日間静置した後、光学顕微鏡で検鏡し、分生胞子の有無とその発芽状況を調査した。

2 培地上における生育好適温度

2018 年 6 月に、香春町圃場から採取した罹病葉上の分生胞子を単胞子分離し、菌株 Pn180601KAW を得た。この菌株をポテトデキストロース寒天培地 (以下 PDA 培地、日水製薬株式会社) 上で約 15 日間、25℃で前培養し、伸長した菌叢をコルクボーラーで打ち抜いて得た菌叢ディスクを、新たな PDA 培地上に置き、15℃、20℃、25℃、30℃の暗黒条件下で培養した。培養 11 日目に、菌叢ディスクの外縁部から伸長した菌糸の先端部までの長さを測定し、最長と最短の平均値から、1 日当たりに伸びた菌糸の長さを菌糸伸長度として算出した。1 温度条件につき 2 反復で実施した。

3 植物体上における感染、病斑形成および分生胞子形成の好適温度

(1) 栽培条件

試験は 2 回実施した。いずれの試験もトルコギョウ品種「ハピネスホワイト」を供試し、2018 年 6 月 19 日に園芸培土を詰めた 288 穴セルトレイに播種した。ロゼット化防止のため、セルトレイを 7 月 17 日まで 10℃で冷蔵処理し、8 月 30 日まで昼温 25℃、夜温 18℃で冷房育苗した。その後、セルトレイをガラス室に移動させ、順化した後、苗を 9 月 10 日に園芸培土を詰めた 12 cm 径ビニールポットに鉢上げし、試験に供試した。施肥は、IB 化成 S1 号 (N:P₂O₅:K₂O=10:10:10) を 1 ポット当たり 4 粒施用した。

(2) 試験区の条件

第 1 回試験は 15℃、20℃、25℃、30℃の 4 条件について、1 区 8 株×3 反復で、第 2 回試験は 25℃、

30℃の 2 条件について、1 区 5 株×2 反復で実施した。試験は人工気象器 (MLR-352-PJ、パナソニック社製および LPH200、エヌケーシステム社製) 内で実施し、照度は 22,000 Lx の 24 時間設定とした。

(3) 接種方法

供試植物への接種源は、罹病葉の病斑から採取した分生胞子を用いた。2018 年 6 月 14 日に香春町圃場から罹病葉を採取し、病斑上の分生胞子を水で濡らした筆で集め、分生胞子懸濁液を作製した。分生胞子懸濁液は、第 1 回試験は濃度 4.2×10^5 個/mL、第 2 回試験は 3.6×10^5 個/mL に調製し、界面活性剤としてポリオキシエチレン (20) ソルビタンモノラウレート を 0.05% 添加した。第 1 回試験では、10 月 17 日に本葉 8～10 葉展開した植物体に、第 2 回試験では、12 月 18 日に本葉 10～12 葉展開した植物体に、1 株あたり 10 mL の分生胞子懸濁液を全葉に噴霧接種した。感染を促すため、接種直後に水を溜めたプラスチックケース (36 cm×32 cm×28 cm) に入れ、蓋をして密閉し、所定の温度条件の人工気象器に入れ、高湿度条件を保持した。接種 5 日後にケースの蓋を取り除いた。

(4) 発病調査

第 1 回試験は菌接種 35 日後に、第 2 回試験は 42 日後に発病調査を実施した。各区全株について、接種時の最上位展開葉より上位 2 葉目から最下葉までの葉について、発病の有無を調査するとともに、以下の調査基準に基づき発病程度別に調査し、発病度を算出した。すなわち、発病度 = $(\sum (\text{発病指数別葉数} \times \text{指数})) / (4 \times \text{調査葉数}) \times 100$ (発病指数 0: 発病を認めない, 1: 病斑面積率が 5% 未満, 2: 病斑面積率が 5% 以上 25% 未満, 3: 病斑面積率が 25% 以上 50% 未満, 4: 病斑面積率が 50% 以上) とした。また、いずれの試験も、30℃区の植物体は、接種 35 日後または 42 日後の発病調査の後、半数の植物体を 25℃条件に移し、半数はそのまま 30℃条件に置き、その後の発病状況を調査した。なお、ケースは密閉し、発病に好適な高湿度条件とした。

統計処理は、第 1 回試験の発病葉率ならびに発病度を Box-Cox 変換後、一元配置分散分析を行い、Tukey-Kramer の HSD 検定により試験区間の差を比較した。

結果

1 ハウス内資材の汚染

各資材における分生胞子の付着調査結果を第 1 表に示した。多発生であった香春町の圃場では、ハウス 1, 2 を合わせると、調査対象の 6 種類全てに発芽可能な分生胞子が認められた。また、中発生であった宮若市の圃場では、6 種類の資材のうち フラワーネットおよび内張ビニールに、発芽可能な分生胞子が認められた。一方、少発生であった久留米市 A, B 圃場では、分生胞子が付着している資材は少なく、A 圃場のハウス 2 の防虫ネット上のみに、発芽不能な分生胞子の付着が認められた。

第1表 各資材における分生胞子の採取割合および発芽状況¹⁾

採取場所		資 材 名							分生胞子採 種時の圃場 の発病程度 (達観)
		フラワーネット	フラワーネット 支柱	内張ビニール	内張用 パイプ	被覆ビニール	アーチハウ ス	防虫ネット	
香春町	ハウス1	0 (0) ²⁾	5.9 (5.9)	10.5 (10.5)	0 (0)	10.0 (10.0)	— ³⁾	15.8 (15.0)	多
	ハウス2	4.3 (4.3)	35.0 (35.0)	20.0 (0)	5.6 (5.6)	0 (0)	—	4.3 (4.3)	多
宮若市	ハウス1	15.0 (5.0)	0 (0)	10.5 (10.5)	—	0 (0)	0 (0)	0 (0)	中
久留米市A	ハウス1	0 (0)	0 (0)	—	—	0 (0)	0 (0)	0 (0)	少
	ハウス2	0 (0)	0 (0)	—	—	0 (0)	0 (0)	45.0 (0)	少
久留米市B	ハウス1	0 (0)	0 (0)	—	—	0 (0)	0 (0)	0 (0)	少

1) 1資材につき20箇所から分生胞子を採取。調査対象外の胞子等により、斑点病菌の分生胞子の有無が分からない箇所は調査から除外

2) 数値は斑点病菌の分生胞子が採取された調査箇所数の割合(%)。()内は、発芽した分生胞子が採取された調査箇所数の割合(%)

3) 「—」は未調査

各資材における分生胞子の付着状況は、多くの調査対象で調査20箇所中1～3箇所に付着が認められ、1箇所当たりの分生胞子数は約3個/cm²であった。香春町のハウス2のフラワーネット支柱と、久留米市Aのハウス2の防虫ネットのみ、それぞれ20箇所中7箇所と9箇所に分生胞子の付着が認められ、久留米市Aのハウス2の防虫ネットのみ、1箇所当たりの数は数十個/cm²であった。

2 培地上における生育好適温度

PDA培地上における斑点病菌の温度別の菌糸伸長度について、第1図に示した。15℃から25℃までは、温度が高くなるほど菌糸の生育が速かったが、30℃では、15℃よりも生育は遅かった。

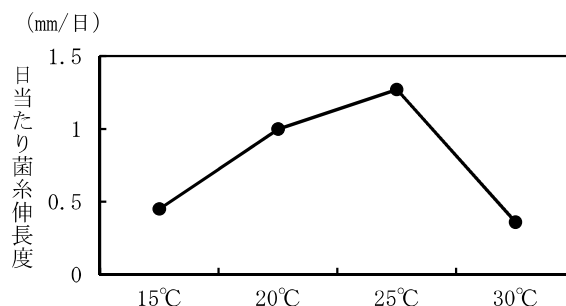
3 植物体上における感染、病斑形成および分生胞子形成の好適温度

植物体上における斑点病の温度別の発病程度および分生胞子の形成状況について、第2表および第2図に示した。第1回試験では、30℃までは温度が高くなるほど発病程度が高くなる傾向が見られた。また、15～25℃の温度条件では病斑上に分生胞子が形成されたが、30℃では形成されず、病斑は退緑斑紋であった。第2回試験でも、第1回試験の25℃区と30℃区と同様の傾向が見られた。

第1回、第2回試験とも、30℃区の植物体は、発病後30℃のまま高湿度条件に置いても分生胞子は形成されなかったが、25℃の高湿度条件に移すと、分生胞子が形成された。

考 察

まず、ハウス内資材の汚染状況について考察する。ハウス内の各資材における発芽可能な分生胞子の付着状況を調査した結果、多発は場ほど、多くの種類の資材に分生胞子が付着していた。付着していた分生胞子

第1図 培地上における斑点病菌の温度別の菌糸伸長度²⁾

- 1) 香春町圃場由来の菌株 Ph180601KAW を供試
- 2) PDA培地上で暗黒下11日間培養時の日当たり菌糸生育長

の数は、久留米市Aのハウス2の防虫ネットを除けば1cm²当たり約3個であった。ハウス内資材が伝染源となっている病害としては、キュウリ褐斑病(宮本ら2007)やナスすすかび病(山口ら2000)が知られている。宮本ら(2007)は、ハウス内資材がキュウリ褐斑病の次作での伝染源になっており、ほとんどの圃場では、カーテンビニールやハウス鉄骨には1cm²当たり約5個の分生胞子が付着していたことを報告している。本試験でも、内張ビニールや内張用パイプに同程度の分生胞子が確認されていることから、資材に付着した斑点病菌の分生胞子が次作での伝染源になっている可能性が推察される。ただし、次作での伝染源となっている可能性については、分生胞子の生存日数の検討や、汚染資材を用いて栽培した場合の発病の確認等が必要である。また、宮本ら(2007)は、誘引用のワイヤーや灌水チューブで、セロハンテープ1cm²当たり100～1,000個の分生胞子を検出し、これらの資材が主要な伝染源となっている可能性について報告している。本試験では灌水チューブやマルチは調査していないため、今後検討する必要がある。久留米市Aのハ

第2表 植物体上における斑点病の発病好適温度

	処理温度	接 種 ～ 初 発 確認日数	発 病 葉 率 (%)	発病度 ²⁾	分 生 胞 子 ⁴⁾ 形 成	25℃での ⁵⁾ 分生胞子 形 成
第1回 ¹⁾ 試験	30℃	18日	65.4 a ³⁾	49.1 a ³⁾	—	+
	25℃	18日	55.4 a	37.3 a	+	N T
	20℃	23日	56.7 a	28.4 a	+	N T
	15℃	28日	18.8 b	8.5 b	+	N T
第2回 ¹⁾ 試験	30℃	17日	91.8	80.0	—	+
	25℃	20日	79.2	55.1	+	N T

1) 第1回試験は接種35日後、第2回試験は接種42日後に調査

2) 発病度 = {Σ(発病指数別葉数×発病指数)×100} ÷ (総調査葉数×4)

発病指数については、

0: 葉に病斑を認めない

1: 病斑が葉面積の5%未満

2: 病斑が葉面積の5%以上、25%未満

3: 病斑が葉面積の25%以上、50%未満

4: 病斑が葉面積の50%以上

3) 異なるアルファベット間には Tukey-Kramer の HSD 検定により 5%水準で有意差あり

4) 分生胞子形成については、+: 確認 - : 未確認 NT: 未実施

25℃での分生胞子形成は、接種35日後(第1回試験)、42日後(第2回試験)調査後、25℃に移動

5) 第1回試験では接種35日、第2回試験では接種42日以降は25℃で栽培



30℃の病斑



25℃の病斑

第2図 30℃の退緑病斑と25℃の分生胞子が生じた病斑

ウス2の防虫ネットでは、分生胞子は多数付着しているものの、その発芽能力は失われていた。これは、過去の多発した作期に付着した分生胞子が、高温・乾燥条件や時間の経過とともに死滅した可能性が考えられる。ハウス内資材の汚染状況については、多発圃場を中心に、今後さらに調査事例が必要である。

次に、斑点病菌の生育好適温度について考察する。PDA培地上での菌糸の生育については、25℃までは温度が高くなるほど生育が促進されたが、30℃では急激に抑制された。本試験で用いた菌株の好適温度は25℃前後と考えられた。一方、植物体上においては、15℃の発病度は20～30℃よりも有意に低く、30℃までは温度が高くなるほど発病程度が高くなる傾向が認められた。しかし、15～25℃では病斑上に分生胞子が形成されたのに対し、30℃では形成されなかった。生産圃場

で観察される斑点病は、まず葉に薄い退緑斑紋が生じ、時間の経過とともに退緑斑紋上に黒褐色や灰褐色の分生胞子が形成され、この分生胞子が飛散して二次伝染が起きる(石井ら2011)。30℃においては、病斑の発生程度は25℃以下に比べて高かったが、分生胞子は形成されず、病斑は退緑斑紋の状態では止まっていた。30℃で発病させた植物体を25℃条件に置くと、病斑上に分生胞子が形成された。このことから、30℃の高温条件下では、感染・発病は好適であるが、分生胞子は形成されないと考えられる。ただし、分生胞子の形成能力が失われるわけではない。

生産圃場では、春季～梅雨時期に多発し、盛夏にはほとんど発病が見られない。しかし、秋季になって気温が低下すると急激に発病する(成山2018)。退緑斑紋の病斑は、非常に色が薄く目視での確認が困難なものも多い。現地では、発病はしていても、病斑として認識できていなかった可能性があり、本試験結果は生産圃場での発生状況を説明できる。

本病は近年発生が拡大した病害であるため、発生生態に関する知見は少ない。本試験では、次作の伝染源になりうる発芽可能な分生胞子がハウス内資材に付着していること、植物体上の感染、病斑形成および分生胞子形成の好適温度について明らかにした。本試験結果は、ハウス内の消毒や、分生胞子の形成・飛散前の罹病葉摘葉による二次感染の防止など、防除対策に応用できると考えられる。

謝 辞

本研究を行うにあたり、試験圃場の選定および調査、供試菌株の収集等に協力していただいた現地の生産者、

普及指導センター，および専門技術指導員の方々に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- Braun U, Farr DF, Minnis AM(2009)Nomenclatural notes on some cercosporoid hyphomycetes. *Schlechtendalia* 19 : 81-84.
- 福岡県(2017) 平成 28 年度病害虫発生予察特殊報第 2 号について. <http://jppn.ne.jp/fukuoka/jyouhou/28/toku2.pdf>(2019 年 9 月 30 日閲覧).
- 鳥取県(2019) 令和元年度病害虫発生予察特殊報第 1 号. <http://jppn.ne.jp/tottori/joho/tokushuho/01toku/01tokutorukogikyoku.pdf>(2019 年 9 月 30 日閲覧).
- 石井貴明・浦 広幸・宇都俊介(2011)*Pseudocercospora eustomatis* によるトルコギキョウ斑点病の発生. 日本植物病理学会報 77(3) : 205.
- 岸 國平(編)(1998) 日本植物病害大事典. 全国農村教育協会, 東京, p. 327, 475.
- 宮本拓也・富田恭範・神原幸雄・皆藤昌彦(2007) キュウリ褐斑病の発病と農業用資材および罹病残渣に存在する分生子との関係. 関東東山病虫研報 54 : 9-12.
- 成山秀樹(2018)トルコギキョウ斑点病の発生生態と防除対策. 植物防疫 72 : 598-601.
- Wolcan SM(2005)Occurrence of *Pseudocercospora eustomatis* on *Eustoma grandiflorum* in Argentina. Australasian Plant Pathology. 34 : 617- 618.
- 山口純一郎・御厨初子・松崎正文(2000)ナスすすかび病の発生推移と発生初期の薬剤防除. 九病虫研報 46 : 46-49.