

Alternaria alternata (Fries:Fries) Keisslerによる インパチエンスアルタナリア斑点病 (新称) の発生

久保周子・鈴木 健¹・竹内妙子
(千葉県農業総合研究センター)

First Occurrence of *Alternaria* Leaf Spot Disease of *Impatiens* Caused by *Alternaria alternata* (Fries:Fries) Keissler

Chikako KUBO², Takeshi SUZUKI and Taeko TAKEUCHI

摘 要

2002年4～5月、千葉県下の施設栽培圃場において、インパチエンスの葉に、初め暗褐色しみ状の斑点を生じ、やがて斑点の中央が灰白色で周囲が赤みを帯びた黒褐色となる病害が発生した。発病部位からは高率に*Alternaria*属菌が分離された。分離菌の接種試験および同定を行った結果、本病は*Alternaria alternata* (Fries:Fries) Keisslerによる新病害であり、病名としてインパチエンスアルタナリア斑点病を提案する。また、本病の伝染源を検討したところ、種子伝染の可能性が示唆された。

インパチエンス(アフリカハウセンカ; *Impatiens sultani* Hook. f.) は花壇用苗物類や鉢物類として全国的に栽培されている品目の一つである。千葉県では、花壇用苗物生産農家に限らず、シクラメン等鉢花生産農家の間作作物として、広く栽培が行われている。近年、海外より多くの品種が導入され、その栽培面積は拡大しているが、ウイルス病(久保ら, 2002)をはじめとした様々な病害の発生が生産阻害要因となっている。

2002年3～5月、千葉県下で施設栽培されているインパチエンスの葉に中央が灰白色で周囲が赤みを帯びた黒褐色の斑点となる症状が発生した。そこで、分離菌による病徴の再現および病原菌の所属について検討したところ、本症状は新病害であることが明らかとなったので報告する。なお、本報の一部については、平成15年度日本植物病理学会大会において発表した(久保ら, 2003)。

材料および方法

1. 病原菌の分離

千葉県袖ヶ浦市および船橋市の現地2圃場より採取したインパチエンス(品種:ローズピンク)の罹病葉を流水で洗浄後、病斑およびその周縁部を素寒天培地に置床し、20℃で培養した。常法(小倉, 1984)にしたがい単菌糸分離を行い、ショ糖加用ジャガイモ寒天(PSA)培地に置床した。25℃, 暗黒条件下で培養し、両圃場より各2菌株(菌株番号:0211-L, 0211-S, 0205, 0206)を供試した(第1表)。

2. 病徴の再現

分離菌株0211-Lおよび0206をPSA平板培地で15日間、25℃, 暗黒条件下で培養し、形成された分生子を滅菌水に懸濁した。各懸濁液を $10^3 \sim 10^4$ cfu/mlに調整後、2002年9月18日に健全苗に噴霧接種した。各区5鉢ずつを供試し、2反復とした。対照として滅菌水処理区を設けた。28℃の恒温高湿接種装置内に48時間置き、

1 現在, 千葉県産業支援技術研究所

2 Address: Chiba Prefecture Agriculture Research Center, Daizenno-cho 808, Midori-ku, Chiba-shi 266-0006, Japan
2005年5月9日受領

その後ガラス室内で管理した。同年9月26日および10月3日に発病葉数および発病花数を調査した。

3. 病原菌の同定

培養中にPSA平板培地上で形成された分離菌の分生子の形態を光学顕微鏡下で観察した。また、分離菌株0211-L, 0211-S, 0205, 0206をPSA平板培地に置床後, 5, 10, 15, 20, 25, 28, 30, 35および40 に設定した恒温庫内で5日間培養し, 菌系の生育温度範囲および生育適温を調査した。

ISOPLANT (ニッポンジーン) により分離菌株0211-Lおよび0206のDNAを抽出後, ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') およびITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') の両プライマーを用いてPCRを行い, rDNA-ITS領域を増幅した。1.5%のアガロースゲル電気泳動後, 目的とした断片を切り出し, QiAquick Gel Extraction Kit (QiAGEN) でDNAを回収した。得られたDNAをDNAシーケンスキット (Big Dye™, Applied Biosystem) を用いて反応させた後, DNAシーケンサー (ABI377, Applied Biosystem) により塩基配列を決定した。得られた両菌株のrDNA-ITS領域の塩基配列をDNA Database of Japan (DDBJ) のホモロジー検索プログラム (BLAST) で相同性検索を行った。

4. 種子伝染の確認

本症状が発生した現地ほ場の残留種子を供試した。

君島 (1999) の種子洗浄法により, 種子表面上の菌の有無を確認した。種子100粒を100mlの滅菌水中で10分間振とうし, 洗浄した。この洗浄液を遠心分離 (3000rpm, 10分間) 後, 沈殿液を光学顕微鏡で観察した。また, 洗浄後の種子を選択培地に置床し, 25 で培養した (君島, 1999)。

2002年6月12日に, 滅菌したピート板に種子50粒を播種し, ガラス室で栽培した。同年7月3日に, 株ごとに発病の有無を調査した。

結果および考察

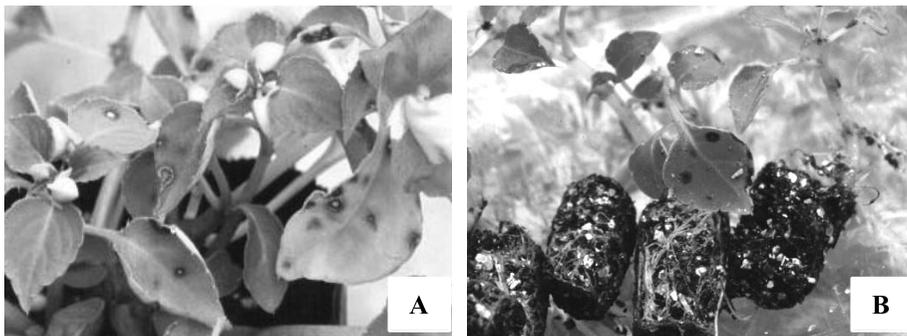
1. 病徴および発生状況

葉では, 初め暗褐色でしみ状の斑点が生じ, やがてその斑点は, 中央が灰白色, 周囲が赤みを帯びた黒褐色となった。(第1図-A)。症状が激しいと葉全体が黄化し, 容易に落葉した。花卉では, 淡褐色のややくぼんだしみ状の斑点が生じ, やがてそれは中央が淡褐色, 周囲が黒褐色の斑点となった。

本病は, 2002年3月下旬より袖ヶ浦市および船橋市の生産者ほ場において発生が認められ, 5月上旬より急激に拡大した。袖ヶ浦市では, 5月に発芽直後の幼苗においても発生が認められた (第1図-B)。いずれ

第1表 供試菌の由来

菌株名	発生地域	分離源	分離年月
0211-L	袖ヶ浦市	インパチエンス (ローズピンク)	2002年5月
0211-S	袖ヶ浦市	インパチエンス (ローズピンク)	2002年5月
0205	船橋市	インパチエンス (ローズピンク)	2002年4月
0206	船橋市	インパチエンス (ローズピンク)	2002年4月



第1図 インパチエンスに発生した病徴

A: 中央が灰白色で周囲が赤みを帯びた黒褐色の斑点

B: 幼苗に発生した暗褐色しみ状の斑点

も品種ローズピンクのみに発生し、他の品種では認められなかった。

2. 分離菌の病原性

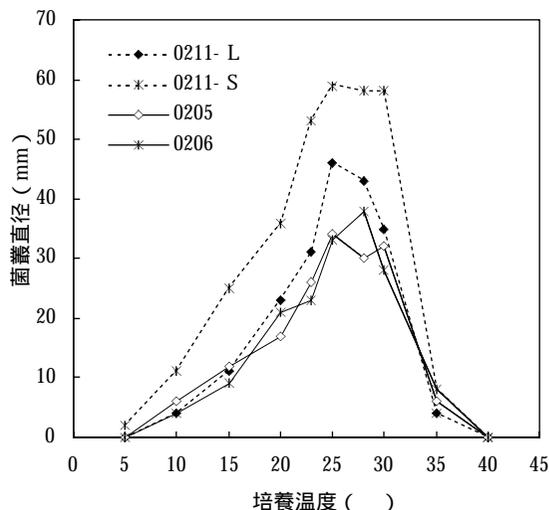
分離菌株0211-Lは接種6日後の9月24日に、0206は接種8日後の9月26日に初期病徴を確認した。9月26日の発病葉率は0211-L接種株では78.6～85.1%，0206では0～2.0%，発病花率は0211-Lが20.0～33.3%であったが、0206では発病は認められなかった。10月3日の発病葉率は0211-Lが88.4～92.2%，0206は33.9～37.5%，発病花率は0211-Lが28.6～85.7%，0206は10.0～50.0%と日数の経過に伴い増加した(第2表)。以上の結果、いずれの菌株も発病程度に差はあるものの病原性が確認され、また症状部位からは、接種菌と同一性状の菌が再分離された。

3. 分離菌の性状および形態

供試した4菌株はいずれもPSA培地上でオリーブ色から暗褐色を呈した。各供試菌株は10～35℃で生育し、菌糸生育適温は25～30℃であった(第2図)。分生子は暗褐色で、縦横に隔壁を有し、俵型から倒棍棒型で、連鎖して形成された(第3図)。分生子の大きさは0211-Lが21.3～47.5×10.5～18.8(平均34.4×13.5)μmで、0206が20.0～38.8×7.5～12.5(平均23.7×9.4)μm

であった。分生子の多くは円筒形の嘴部が存在したが、存在しないものも認められた。嘴部の長さは、両菌株とも2.5～5μmであった。これら分離菌の性状は、Ellis et al.(1976)の*Alternaria alternata*(Fries:Fries) Keisslerの記載とほぼ一致した(第3表)。

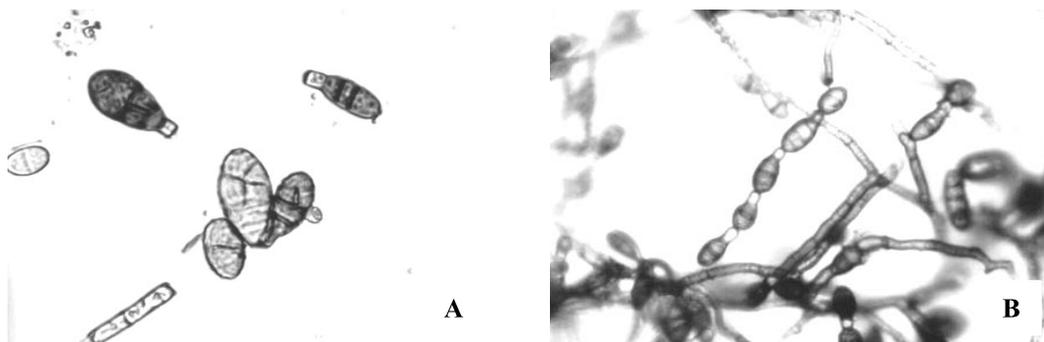
またrDNA-ITS領域の相同性検索では、*A. alternata*



第2図 分離菌の生育適温

第2表 分離菌の病原性

供試菌	反復	9月26日		10月3日	
		発病葉率(%)	発病花率(%)	発病葉率(%)	発病花率(%)
0211-L	A	78.6	20.0	92.2	85.7
	B	85.1	33.3	88.4	28.6
0206	A	2	0	37.5	10.0
	B	0	0	33.9	50.0
無接種		0	0	0	0



第3図 分離菌の形態

A: 分生子

B: 連鎖して形成される分生子

第3表 分離菌の形態

菌株名	分生子 (μm)		嚙部 (μm)	
	大きさ (平均)	形状	厚み	発病花率 (%)
0211-L	21.3 ~ 47.5 × 10.5 ~ 18.8 (34.4 × 13.5)	俵型 ~ 倒棍棒型	(0) 2.5 ~ 5	円筒形
0206	20.0 ~ 38.8 × 7.5 ~ 12.5 (23.7 × 9.4)	俵型 ~ 倒棍棒型	(0) 2.5 ~ 5	円筒形
<i>Alternaria alternata</i> ^{a)}	20 ~ 63 × 9 ~ 18 (37 × 13)	倒棍棒型、卵型、 長円、逆洋ナシ型	(0) 2 ~ 5	円筒形 円錐形

a) Ellis (1976) .

第4表 r DNA-ITS領域の相同性

病原菌	accession No.	相同性 (%)	
		0211-L	0206
<i>Alternaria alternata</i>	AY154682	100	100
<i>A. alternata</i>	AF392981	100	100
<i>A. alternata</i>	AF397236	100	100
<i>A. alternata</i>	AF397230	100	100
<i>A. alternata</i>	AF397224	100	100

第5表 現地ほ場の残留種子からの発病

播種粒数	発芽苗数	発病株数	発病株率 (%) ^{a)}
50	34	4	11.8

a) 発芽苗に対する発病株の割合

と100%一致した (第4表)。

以上より, 分離菌は *A. alternata* (Fries : Fries) Keissler であることが明らかとなった。

4. 病名の提案

インパチエンスに発生した斑点症状は, 分離菌の形態的特徴, 相同性検索および接種試験結果から, *A. alternata* (Fries : Fries) Keissler による病害であることが明らかとなった。本菌によるインパチエンスの病害は未報告であるため, 病名としてアルタナリア斑点病 (英名 : Alternaria leaf spot) を提案する。

5. 種子伝染の確認

種子洗浄法および選択培地では, *Alternaria* 属菌は確認されなかったが, 滅菌したピート板で発芽したインパチエンス苗34株のうち11.8%の子葉に病斑が確認された (第5表)。また, 発生は同時期に異なった地点で特定の品種のみに確認されたことから, 種子伝染の可能性が強く示唆された。

インパチエンス等の花壇用苗物類の生産現場では, 葉上からの灌水が一般的である。したがって, 幼苗での発病がたとえわずかであっても, 灌水による水滴と共に分生子が飛散し, 本病の発生が拡大し, 蔓延することが推定される。そのため, 種子生産現場での品質管理体制の強化が望まれる。

引用文献

- Ellis, M. B. (1976) Dematiaceous Hyphomycetes. CAB International. pp. 464 - 497 .
- 小倉寛典 (1984) 新版土壌病害の手引き (「新版土壌病害の手引き」編集委員会編). 日本植物防疫学会, 東京. pp. 62 - 65 .
- 君島悦夫 (1999) 種子伝染病の生態と防除 (大畑貫一ほか編). 日本植物防疫学会, 東京. pp. 97 - 105 .
- 久保周子ら (2002) 関東病虫研報 65 : 59 - 62 .
- 久保周子ら (2003) 日植病報 69 : 261 (講要) .