

Alternaria alternataによるルリタマアザミ黒斑病（新称）の発生

誌名	北日本病害虫研究会報
ISSN	0368623X
著者名	越智,昭彦 菅原,敬
発行元	北日本病害虫研究会
巻/号	60号
巻号補足	
掲載ページ	p. 118-121
発行年月	2009年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Alternaria alternata によるルリタマアザミ黒斑病 (新称) の発生

越智 昭彦*・菅原 敬**

Occurrence of *Alternaria* Leaf Spot on Small Globe Thistle (*Echinops ritro*)
Caused by *Alternaria alternata*

Akihiko OCHI* and Kei SUGAWARA**

2008年6月から7月にかけて山形県村山地域で、切花用として雨除けハウスで栽培中のルリタマアザミの葉身に、不整形の褐色病斑が発生し、罹病部から *Alternaria* 属菌を分離した。分離菌はルリタマアザミに病原性を有し、培養特性、形態的特徴および分子生物学的分類から *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler と同定した。本菌によるルリタマアザミの病害は国内では報告がなく、ルリタマアザミ黒斑病 (*Alternaria* leaf spot) と呼称することを提案する。

Key words: *Alternaria alternata*, *Alternaria* leaf spot, *Echinops ritro*, small globe thistle

ルリタマアザミ (*Echinops ritro*, 英名 small globe thistle) は、南ヨーロッパから西アジア原産のキク科多年草で、初夏から晩夏にかけて茎の先端に直径4~5cmの鮮やかな青紫色のボール状頭花をつける。葉にはアザミのようなとげがあり、草丈は50~140cm、株はロゼット状で花茎は直立し、上部ではよく分枝して多数の花をつける。栽培体系は、3~5月に播種して初秋に定植し、翌年以降の6~8月に出荷される。一般的に露地または雨除け栽培が行われ、主に切花に利用される。2008年に、山形県村山地域において、切花用として雨除けハウスで栽培していた開花期の株で、中位葉から下位葉に褐色の不整形病斑が発生した。罹病部からは単一の *Alternaria* 属菌を分離した。 *Alternaria* 属菌によるルリタマアザミの病害は国内では報告がなく、分離菌について病原性を確認するとともに、培養、形態的特徴および分子生物学的解析から分類・同定を行ったので報告する。

なお本研究は、新たな農林水産施策を推進する実用化技術開発事業の「花き類病害の双方向型総合診断・防除システムの開発および公開」により実施した。

材料および方法

1. 病徴

現地雨除けハウスで開花期のルリタマアザミについ

て、罹病株の病徴観察を行った。

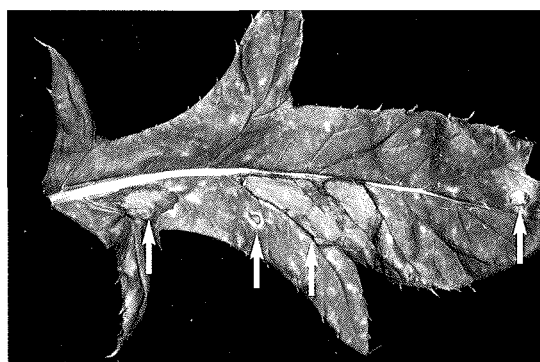
2. 病原菌の分離および病原性確認

罹病株を現地圃場から採取し、いくつかの病斑から約5mm角の罹病組織片を切り取り、70%エタノールで30秒、表面殺菌し、滅菌蒸留水で2回水洗後、滅菌ろ紙上にて余分な水分を除き、2%素寒天平板培地 (WA 培地) に置床した。これらを25℃の暗所で5日間培養後、組織片から伸長した菌糸の先端部をかきとり、ジャガイモ煎汁ブドウ糖寒天平板培地 (PDA 培地) 上に置床して25℃の暗所で培養した。さらに培地上に形成した分生子を単孢子分離し、菌株 Ya721, Ya722 および Ya723 を得た。このうち代表菌株として Ya722 および Ya723 を以下の試験に用いた。

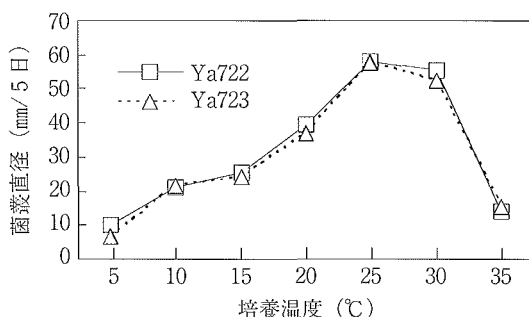
接種試験には直径9cmのポットに園芸用土を充填して育苗した本葉8葉期、草丈約16cmのルリタマアザミの健全苗を供試した。V-8 ジュース寒天平板培地 (V-8 ジュース 200ml, 炭酸カルシウム 3g, 寒天 20g, 蒸留水 800ml 以下 V-8 寒天培地) を用い、両分離菌株を25℃暗黒下で14日間培養して形成させた分生子を滅菌水で 5×10^5 個/ml に調製後、Tween20 を0.01% となるように添加して、株あたり10ml を噴霧接種した。対照区には同量の滅菌水を処理し、各区それぞれ3株を供試した。接種後2日間は容量約20Lのプラスチック製容器に収納

*山形県農業総合研究センター Yamagata Integrated Agricultural Research Center, Minorigaoka, Yamagata 990-2372, JAPAN

**山形県庄内総合支庁農業技術普及課産地研究室 現在：山形県庄内総合支庁酒田農業技術普及課



第1図 ルリタマアザミに発生した自然病徴(矢印)



第3図 V-8寒天培地培養5日後における分離菌株の菌叢直径



第2図 分離菌株(Ya722)噴霧接種10日後の病徴
左:接種, 右:対照

して多湿状態とし、以後は開放して20～25℃の温室内で管理した。接種7日後から随時、発病の有無を調べるとともに、形成した病斑からの接種菌の再分離を行った。

3. 分離菌の同定

前述の分離菌株をPDA培地で前培養し、菌叢周縁部から打ち抜いた直径5mmの含菌寒天片をV-8寒天培地に置床し、培養5日後に菌叢直径を計測した。培養温度は5、10、15、20、25、30および35℃の7段階とし、暗黒条件で行った。分生子および菌叢の観察は、V-8寒天培地に25℃暗黒下で培養した菌叢を随時肉眼で観察するとともに、14日間培養して形成された分生子を光学顕微鏡で観察した。また、rDNAのITS1、5.8S、ITS2領域(rDNA-ITS)の塩基配列を決定し、DDBJに登録されている *Alternaria* 属菌との相同性比較を行った。

結果および考察

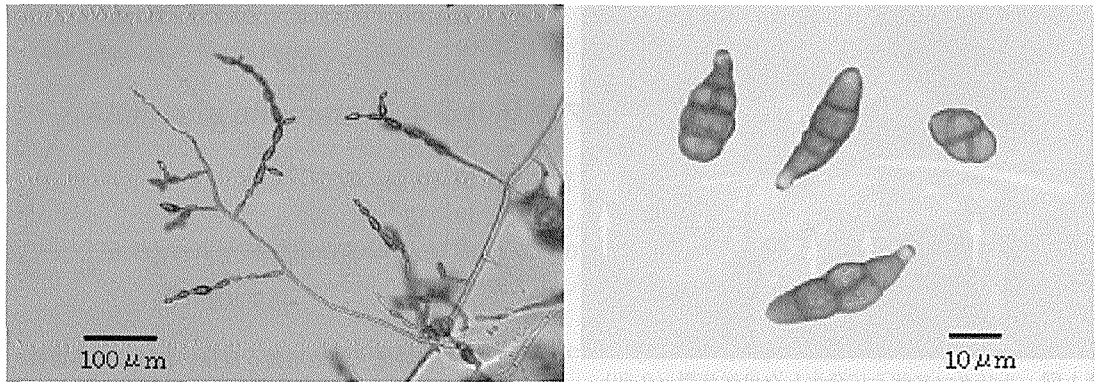
1. 病徴

2008年6～7月に、山形県村山地域で切花用として雨除け栽培中のルリタマアザミ本葉の葉身に、淡褐色で、直径1～2mmの斑点が発生し、斑点はやがて拡大して周囲が濃褐色の不整形となった。病斑は葉縁から進展することが多く、不明瞭な輪紋を伴う場合がみられた。病斑



第4図 分離菌株 Ya722 の V-8 寒天培地 25℃, 暗黒, 14 日培養後の菌叢

は病勢が進むと融合して大型化し、病徴の激しいものでは葉縁から葉軸に及ぶような、大型の病斑となる場合もみられた(第1図)。病斑は下位葉から中位葉に多く見ら



第5図 分離菌株 Ya722 の V-8 寒天培地での形態
左：25℃，暗黒，5 日培養後の分生子の形成状況
右：25℃，暗黒，14 日培養後の分生子の形態

第1表 分離菌株と既報の *Alternaria alternata* の分生子の形態比較

分離菌株 または記載種	分生子の 連鎖数	形態	大きさ	嘴部長さ	隔壁数	
			全長×幅 (μm)	(μm)	横	縦
Ya722	0-9	卵形～楕円形～倒棍棒状	11.7-58.0×5.0×18.0 (平均23.5×10.9)	0-24.0 (平均4.2)	1-4	0-4
Ya723	0-9	卵形～楕円形～倒棍棒状	13.3-48.0×5.0×16.7 (平均24.1×11.6)	0-28.0 (平均4.2)	1-4	0-4
<i>A. alternata</i> ^{a)}	連鎖有	倒棍棒状	20.0-63.0×9.0×18.0 (平均37.0×13.0)	-	<8	-
<i>A. alternata</i> ^{b)} (G-1)	3-9 (平均5.0)	-	22.5-52.5×10.0×17.5 (平均31.0×14.0)	-	1-4 (平均3.0)	0-2 (平均0.8)
<i>A. alternata</i> ^{c)} (No. 9544)	連鎖有	卵形～倒棍棒状	9.0-71.0×6.0×18.0 (平均32.0×13.0)	1.3-17.7	0-10	0-4
<i>A. alternata</i> ^{d)} (Leaf 9-c)	連鎖有	棍棒状	23.0-85.0×9.0×26.0 (平均40.8×12.9)	3.0-35.0 (平均8.2)	2-7	0-4
<i>A. alternata</i> ^{e)} (A3)	数-10程度	卵形～楕円形～倒棍棒状	12.0-44.0×4.0×16.0 (平均24.5×9.0)	2-12 (平均3.9)	1-8	0-3

a) Ellis (1971), b) Furukawa and Kishi (2000), c) Inoue and Nasu (2000), d) Negishi and Suyama (2002), e) 棚橋ら (2004)

- : 記載なし

れたが，上位葉に進展した場合は，切花としての商品価値を損ね出荷に影響した。

2. 分離菌の病原性確認

分離菌株 Ya722 および Ya723 を噴霧接種した株はいずれも，接種 7 日後頃から本葉の葉縁部に，自然病徴と同様に直径 1-2mm の，淡褐色の斑点が現れた。斑点はその後拡大して，14 日後には濃褐色の不整形となった（第2図）。病斑部からは接種菌株と同一の形態をもつ菌が再分離された。対照区では発病はみられなかった。

3. 分離菌株の同定

両分離菌株は，V-8 寒天培地では 5～35℃ において生育し，生育適温は 25～30℃ であった（第3図）。V-8 寒天培地上での培養菌叢は両分離菌株ともはじめ灰白色で，

後にオリーブ色を帯びた黒色となった（第4図）。分生子は両分離菌株とも暗黄色，卵形から楕円形で，成熟すると倒棍棒状となった。Ya722 では全長 11.7-58.0μm（平均 23.5μm），幅 5.0-18.0μm（平均 10.9μm），嘴部の長さは 0-24μm（平均 4.2μm）で，欠くものもあり，横隔壁数は 1-4 個，縦隔壁が 0-4 個であった。これらの特徴は Ellis (1)，Furukawa and Kishi (2)，Inoue and Nasu (3)，Negishi and Suyama (5) および棚橋ら (6) の記載とほぼ一致し，両分離菌株を *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler と同定した。（第5図，第1表）。

なお，rDNA-ITS の相同性は両分離菌株とも *A. alternata* (AY714479 (4) 他) と 100% 一致し，培養，形態的特徴に基づく同定結果を支持する結果となった。

国内において *A. alternata* によるルリタマアザミの病害は報告されていない。このため、本病害をルリタマアザミ黒斑病 (*Alternaria* leaf spot) と呼称することを提案する。

引用文献

- 1) Ellis, M. B. (1971) Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew. pp.411-497.
- 2) Furukawa, T. and Kishi, K. (2001) *Alternaria* Leaf Spot on Three Species of *Pelargonium* Caused by *Alternaria alternata* in Japan, J. Gen. Plant Pathol. 67 : 268-272.
- 3) Inoue, K. and Nasu, H. (2000) Black Spot of Peach Caused by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. J. Gen. Plant Pathol. 66 : 18-22.
- 4) Mercado, D., Renard, M. E., Duveiller, E. and Maraite, H. (2006) Identification of *Alternaria* spp. on wheat by pathogenicity assays and sequencing. Plant Pathology. 55 : 485-493.
- 5) Negishi, H. and Suyama, K. (2002) *Alternaria* Leaf Spot on Mealycup Sage (*Salvia Benth.*) Caused by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. J. Gen. Plant Pathol. 68 : 321-325.
- 6) 棚橋 恵・山口吉博・横山泰裕・尾谷 浩 (2004) *Alternaria alternata* (Fries: Fries) Keissler. によるセイヨウナシ黒斑病 (新称). 日植病報 70 : 168-175.