

## 輸入ジニア種子の *Alternaria zinniae* 汚染率と発病率との関連

中西 義成\*・田中 道典・横井 春郎\*\*

白石 正美\*\*\*・宮井 尚彦

横浜植物防疫所業務部

Detection of *Alternaria zinniae* from imported zinnia seed by blotter method and growing-on test. Yoshinari NAKANISHI, Michinori TANAKA, Haruo YOKOI, Masami SHIRAISHI and Naohiko MIYAI (Yokohama Plant Protection Station, 5-57, Kitanaka-dori, Naka-ku, Yokohama). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 34: 103-106 (1998).

**Abstract:** *Alternaria zinniae* M.B. ELLIS, a seed-borne pathogen of leaf spot disease of zinnia (*Zinnia elegans* Jacq.) has been sometimes detected on the imported seed inspection by blotter test. Three infected seed samples (lot A and B from Taiwan, and lot C from Holland) of zinnia were investigated by both blotter test and growing-on test. In blotter test, each seed lots were showed to be infected with *A. zinniae*, 24.9, 23.7 and 1.0%, respectively, while the incidence of symptoms (damping-off, seed decay, leaf spot, etc.) on seed or germinated seed of them in the growing-on test were 33.3, 25.1 and 1.6%, respectively.

It was showed that the incidence of symptom on seed or germinated seed paralleled the percentage of the seed infection with *A. zinniae*, and that blotter method is useful for detection of *A. zinniae* on zinnia seed.

**Key words:** *Alternaria zinniae*, *Zinnia elegans*, seed-borne, blotter method, growing-on test, detection

### はじめに

*Alternaria zinniae* M.B. ELLIS によって起こるジニア黒斑病は、種子伝染性の病害であることが知られている (GAMBOGI *et al.*, 1976)。本菌は分生胞子が連鎖せず、そのくちばし (beak) の部分が顕著に長いという形態的特徴を有しているため (DAVID, 1991)、同定が比較的容易である。また、ジニア種子の輸入検査では、本菌が検出される事例も多い。

今回、本菌が検出された種子ロット (荷口) を供試して、プロッター法によってその種子汚染率を調べるとともに、当該ロットの種子を播種して発芽した幼苗での発病率 (苗立枯、不発芽等) を調べ、種子の汚染率と当該種子から生じた幼苗での発病率の関係を調査したので、その結果を報告する。

なお、本調査に際し、ご指導を頂いた横浜植物防疫

所調査研究部君島悦夫博士及び小林慶範技官に厚くお礼を申し上げます。

### 材料及び方法

#### 1. プロッター法による *A. zinniae* 汚染率調査

輸入検査で *A. zinniae* が発見された台湾産ジニア種子2ロット (A, B) 及びオランダ産ジニア種子1ロット (C) から任意にそれぞれ 840 粒, 1,260 粒, 400 粒の種子を抽出し表面殺菌は行わず、プロッター法 (AGARWAL and SIMCLAIR, 1987) により種子汚染率を調査した。抽出した種子を湿らせたろ紙上に置床し 25°C、明暗 12 時間周期の照明条件下 (ブラックライト使用) で 5 日間培養し、実体顕微鏡下で種子上の *A. zinniae* の分生胞子形成の有無を観察し、汚染種子数を記録した。

なお、本菌が確認された種子については、健全種子への二次感染を防ぐために記録後、速やかに除去した。

\* 現在、横浜植物防疫所東京支所

\*\* 現在、国土庁小笠原総合事務所

\*\*\* 現在、農産園芸局植物防疫課

## 2. 発病率調査 (Growing-on test)

供試した3ロットから、それぞれ2,200粒、1,400粒、800粒を任意に抽出し表面殺菌は行わず、オートクレーブ処理(125°C, 40分間)した土壌を容れた育苗容器(セルトップトレイ:(株)サカタのタネ製)に1穴当たり1粒播種し、バイオトロン内(コイトロン:小糸製作所製, 25°C, 相対湿度95%, 明暗12時間周期照明, 6,000 lx)で、20日間調査した。

調査期間中に苗木枯などの症状を示す発病株数を調査した。なお、立枯苗については、健全苗への二次感染を防ぐために発病調査終了後、速やかに除去した。また、不発芽種子については播種10日目に掘り上げ、プロッター法と同様に5日間培養後、*A. zinniae* 胞子の有無を実体顕微鏡を用いて確認した。

### 結果および考察

*A. zinniae* は、菌糸体の状態でジニア種子内部に存在しているため(BAKER, 1980)、乾燥した種子を観察することによりその存在を確認することは困難である。

この種類の種子伝染性病原体の検出法としてプロッター法が一般に利用され、国際種子検査協会(ISTA)では本菌の検査法としてWorking Sheetを作成して指針としている(GAMBOGI, 1982)。今回、輸入ジニア種子の検疫において*A. zinniae*の発見された種子ロットを供試して、プロッター法による本菌の検出を行い、種子の汚染率を調査した。また、当該種子ロットをGrowing-on testに供試して幼苗での発病を調査した。

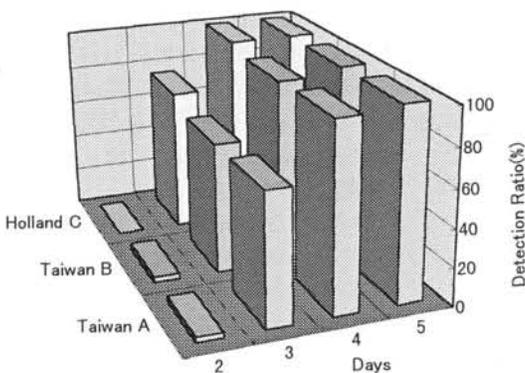


Fig. 1. Detection ratio of three samples infected with *A. zinniae* on blotter test.

プロッター検査では、特徴的な分生胞子の形態(Plate 1.)により、*A. zinniae* を種子上で容易に確認でき、またそれは調査期間(5日間の培養期間)内に*A. zinniae*の検出された種子の95%以上を、培養4日目までに検出することができた(Fig. 1.)。本試験に供試した台湾産2ロットおよびオランダ産1ロットのプロッター法で調査した*A. zinniae*による種子汚染率はそれぞれ、24.9、23.7および1.0%であった(Table. 1)。

Growing-on testでは、幼苗の地際部が茶褐色に変色し、倒伏するものがみられ(Plate 2.)、また子葉に黒褐色の斑点がみられるものもあった。分離によりこれらの症状が*A. zinniae*によるものであることを確認し、以後このような症状を示す幼苗を発病苗として計数した。発病苗は、病状が進むと全体が褐変して枯死した。

発病幼苗は、播種4日目から認められ、播種後8日目前後に多く認められた(Fig. 2.)。また、種子汚染率の高いロットでは不発芽が多く、その原因を調査した結果、不発芽種子から*A. zinniae*が高率に確認された。

*A. zinniae* はジニア種子内部に深く感染している場合は主に不発芽を引き起こすとしている(GAMBOGI *et al.*, 1976)。幼苗での発病及び不発芽はいずれも*A. zinniae*によるものと考えられ、これらの幼苗での発病数と不発芽種子からの*A. zinniae*検出数を合計して求めた発病率は、それぞれ33.3、25.1及び1.6%であった(Table. 2)。

Growing-on testによる発病率と、プロッター法で確認した*A. zinniae*による種子汚染率の24.9、23.7および1.0%は、ほぼ同率であることが確認された。

*A. zinniae*の検出試験では、プロッター法で確認される汚染率が、当該ロットの発病率を示すことが示唆され、ジニア種子の検査にはプロッター法が適してい

Table. 1 Detection of *Alternaria zinniae* on seed by blotter test at 25°C at 12/12 hours alternated NUV light and dark for five days.

| Seed Lots | No. of seed tested* | No. of seed infected with <i>A. zinniae</i> | Percentage (%) |
|-----------|---------------------|---|----------------|
|           | (A)                 | (B)   | (B)/(A)        |
| Taiwan A  | 840                 | 209   | 24.9           |
| Taiwan B  | 1,260               | 299   | 23.7           |
| Holland C | 400                 | 4   | 1.0            |

\*All tested seeds were not sterilized.

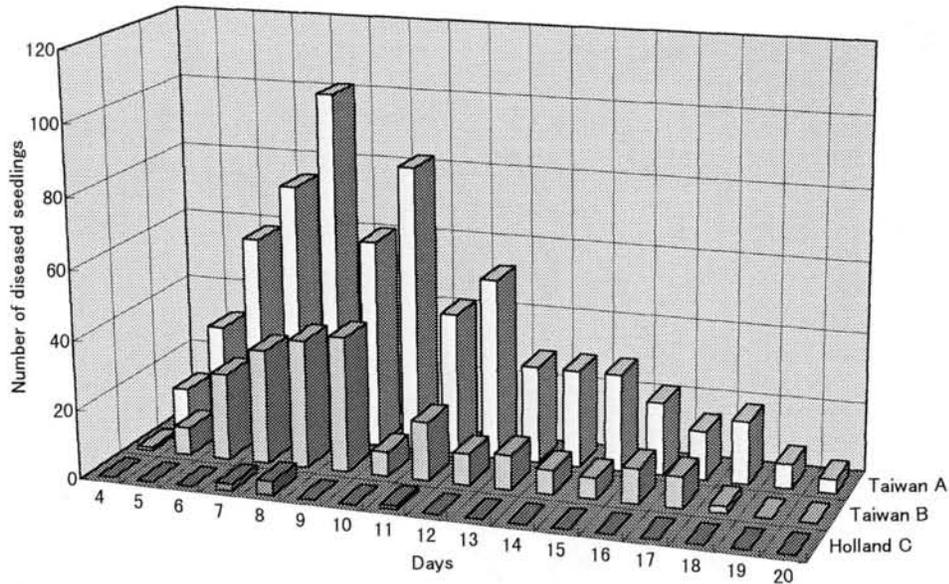


Fig. 2. Number of diseased seedlings on growing-on test for 20 days.

Table 2 Symptoms of *Alternaria zinniae* on appearance of seedlings for twenty days on growing-on test in biotron.

| Seed Lots | No. of seed tested* (A) | No. of germination seed | No. of diseased seedlings (B) | No. of non-germinated seed | No. of <i>A. zinniae</i> detected non-germinated seed (C) | Percentage (%) (B) + (C) / (A) |
|-----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|----------------------------|---|--------------------------------|
| Taiwan A  | 2,200                   | 1,986                   | 591                           | 214                        | 141   | 33.3                           |
| Taiwan B  | 1,400                   | 1,188                   | 189                           | 212                        | 162   | 25.1                           |
| Holland C | 800                     | 766                     | 6                             | 34                         | 7   | 1.6                            |

\*All tested seeds were not sterilized.

ること、また得られた検出率は当該種子を播種した場合、苗床でのジニア黒斑病の伝染源としての影響の大きさを推定する上で参考にできることが確認された。

種子検査では、このように種子検査の結果と種子伝染の関係が定量的に調べられた例は少なく、種子伝染性病原体の検査基準、種子消毒の基準などを定量的に検討する上で参考になるものと考え。

## 引用文献

- AGARWAL, V.J. and SIMCLAIR, J.B. (1987) Principles of Seed Pathology Volume II. CRC PRESS, pp. 35-37
- BAKER, K.F. (1980) Pathology of Flower seeds. Seed Science & Technology 8. pp. 577-589
- DAVID, J.C. (1991) IMI Descriptions of Fungi and Bacteria No. 1077. 1991
- GAMBOGI, P., TRIOLO, E. and VANNACCI, G. (1976) Experiments on the behaviour of the seedborne fungus *Alternaria zinniae*. Seed Science & Technology 4. pp. 333-340
- GAMBOGI, P. (1982) ISTA Handbook on seed health testing. Working Sheet No. 32 (2. Edition)



Plate 1. Conidiophores and conidia of *Alternaria zinniae*



Plate 2. Damping-off zinnia caused by *Alternaria zinniae*