プリムラ花卉上での灰色かび病菌の生育過程の観察法

太幡展司*・本間保男**・有本 裕**・下山守人*

Hiroshi TABATA*, Yasuo HOMMA**, Yutaka ARIMOTO** and Morito SHIMOYAMA*:
An Observation Method of the Growth Stage of *Botrytis cinerea* on Primula Petals.

Abstract

For observing the growth stages of *Botrytis cinerea*, a simple method using petals of primula or petunia was developed. When the petals were inoculated with conidial suspension prepared from the culture of *B. cinerea*, conidial germination began by 5 hr after inoculation. Hyphal penetration occurred by 8 hr, when conidial germination was attained to about 50%. Conidiophores were developed within 3 to 4 days after inoculation, and sporulation was observed on the following day. The symptoms appeared by 11 hr after inoculation, and the number of lesions reached the maximum level by 16 hr (about 180 lesions at inoculum concentration of 10^5 conidia/ml). Since the life cycle of the fungus is so quick and symptom appears so rapidly on petals, the present method is expected to be applicable for screening chemicals.

Key words: *Botrytis cinerea*, *Primula polyantha*, *Petunia hybrida*, growth stage, symptom occurrence.

灰色かび病は、野菜、果樹、花き類などに発生する多犯性病害で、また、薬剤耐性菌の出現によりその防除が困難となっている病害の一つである。この灰色かび病菌を観察する手段として、スライドグラスが用いられてきたが、孢子発芽ならびに菌糸伸長しか観察できず¹⁾、当然のことながら菌糸侵入、発病さらに分生孢子形成は観察不可能であった。また、手塚ら²⁾によって、発病の観察や薬剤の効果判定に輪切りキュウリ果実を用いる方法が考案されたが、彼等の方法では本菌の生育過程を観察できない問題があった。そこで、我々は、宿主植物を用いて、本菌の全生育過程が詳細に観察できる方法を検討した。

この目的のために、供試材料は随時供給できること、栽培管理が容易であり、かつ安価に入手できることが必要と考えられた。これらの条件を満足する供試植物としてサクラソウ科の *Primula polyantha* Mill

(以下プリムラと記す) およびナス科の *Petunia hybrida* Vilm (以下ペチュニアと記す) を考えた。

発芽および侵入 灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* Persoon を PSA 平板培地で 25C、4 日間培養後、BLB ランプで 2 日間照射し、再び 25C、2 日間培養して分生孢子を形成させた。培地上に滅菌水 10 ml を注ぎ、滅菌毛筆で分生孢子をかきとり、2 重の滅菌ガーゼでろ過し、滅菌水を用いて 10^5 個/ml の孢子濃度になるように調製した。温室内で栽培したプリムラおよびペチュニアの花部を、開花 2—3 日後に、花梗部から切り離し、前述の孢子懸濁液 5 μ l をマイクロシリンジで花卉上に滴下して、25C の湿室 (ほぼ 100%) に静置した (Plate I-1)。接種後、1 時間毎に滴下した花卉を切り取り、100% メタノールに 3 時間浸漬して脱色した後、コットンブルーで染色して顕微鏡観察 (200—400 倍) をおこなった。プリムラ花卉上では接

* 明治大学農学部 Faculty of Agriculture, Meiji University, Kawasaki, Kanagawa 241, Japan

** 理化学研究所 The Institute of Physical and Chemical Research, Wako, Saitama, 351-01, Japan

1) 白石雅也・福島雅夫・赤井重恭 (1970). 日植病報 36 : 230-236. 2) 手塚信夫・木曾皓 (1976). 農業誌 1 : 321-324.

Fig. 1. The time course of each growth stage of *Botrytis cinerea* on the petal of *Primula polyantha* and *Petunia hybrida*.

- Conidial germination on *Primula polyantha*.
- Conidial germination on *Petunia hybrida*.
- Hyphal penetration to *Primula polyantha*.
- Hyphal penetration to *Petunia hybrida*.
- △ Rate of increase of lesion number on *Primula polyantha*.

種後4時間から5時間目に発芽が始まり、その発芽率は6時間後には18%、9時間後には約70% (Plate I-2)、11時間後には約90%に達した (Fig. 1)。組織への侵入は約8時間で始まり、12時間後には発芽胞子の約70%が侵入した (Fig. 1)。ペチュニア花弁上の発芽率ならびに発芽胞子当りの侵入率を観察したところ、プリムラ花弁と同様に、接種後約5時間目に発芽が始まり、その発芽率は8時間後には約40%、11時間後には約80%に増加した。侵入は約8時間後から始まり、それ以降はほぼプリムラ花弁と同じ侵入率を示した (Fig. 1)。花弁組織への侵入はすべて細胞縫合部より行われた。

分生胞子の形成 ペチュニアおよびプリムラ花弁上に、上述の方法で胞子懸濁液を点滴接種後、1日毎に花弁に生じた病斑部を切り取り、光顕により分生胞子の形成状況を観察した。その結果、接種後2～3日目には褐色病斑部表面に分生子柄が観察された。3～4日目には、1分生子柄当たり10～20個の卵型分生胞子が形成された (Plate I-3)。5日目までには、多数の分生胞子が形成され、肉眼でもその存在が明瞭に観察された。プリムラ花弁上でも同様の結果が認められた。

病斑形成 供試菌による発病の有無を検討するため、前述の胞子懸濁液をプリムラおよびペチュニア花弁上に噴霧接種し、25℃の湿室に静置した。接種16時間後、花弁上に形成された病斑数を数え、その増加率を時間毎に求めた (Fig. 1)。プリムラおよびペチュニアでは、接種11時間後までに初期病斑が形成された。その後、侵入率の増加に伴い病斑数は増加し、16時間後には、両花弁の病斑数は最大となった (Plate I-4)。16時間以降は隣接病斑が融合して調査が困難となったので、病斑数が最大となる接種後16時間目を発病調査の最適時と判断した。

以上述べたように、プリムラおよびペチュニアの花弁は、年間を通じ供給が可能であり、また、メタノールで速やかに脱色されるので、花弁上に接種された灰色かび病菌の胞子発芽、組織への侵入、分生子柄および分生胞子形成の過程や発病が短時間に、かつ、詳細に観察することが可能となった。よって、これらの特長から、薬剤の効果判定に利用できるものと思われる。

(昭和61年3月14日受理)

Explanation of plate

Plate I

1. Petals of primula inoculated with conidial suspension ($5\ \mu\text{l}$) of *Botrytis cinerea* using a microsyringe.
2. Germinated conidia of *B. cinerea* on petals of primula 9 hr after inoculation.
(Bar= $20\ \mu\text{m}$)
3. Conidial formation of *B. cinerea* on a petal of petunia 5 days after inoculation.
(Bar= $20\ \mu\text{m}$)
4. Lesions on petals of primula 16 hr after inoculation.

Abbreviation

c: conidium, g: germ tube, ph: penetration hypha, cp: conidiophore

Plate I