タマネギの *Botrytis* 属菌による 葉枯れに関する研究 第3報 *Botrytis* 属菌分生胞子の飛散原因と飛散状況

松 尾 綾 男

Studies on leaf blight of onion caused by *Botrytis* spp. III.

Conidial dispersal

Ayao MATSUO

摘要： タマネギを侵す主要な *Botrytis* 属菌 3 種, *B. squamosa*, *B. allii*, *B. cinerea* の風や水滴による胞子分散, また, タマネギ圃場における *Botrytis* 属菌胞子の分散の高さ, 時刻別の分散数を調査した.

1) *Botrytis* 属菌胞子の風による分散は, 整風では 1.88m/sec で始まるが, 野外では気流の複雑な変化を生ずるため, 0.83m/sec でも分散している.

2) *Botrytis* 属菌胞子は水滴落下の衝撃で容易に分散を起こす.

3) 圃場における分散胞子の高さ別の数は地表で多く, 高くなるにつれて少なくなり草冠では採集されなかった.

4) 日中における胞子の分散数は午後 3 時頃に多かった. これは関係湿度が最低を示したのち, やや増加を始めた時刻であった.

5) 分散胞子には個々に離れたものと, 2 個以上の胞子が集団のままのものが存在した.

I 緒 言

一般に植物病原菌の胞子の分散には風雨, 温湿度および光線などの外的因子が強く影響している^{1-3,7-13}. 従ってこれら胞子の分散に関与する条件を明確にすることは, 病原菌の侵入行動の解明や病害の疫学的な解析に寄与するのみでなく, 病害の発生予察ならびに薬剤防除の面からもきわめて重要である.

淡路地方では *Botrytis* 属菌によるタマネギの葉枯れや貯蔵中の腐敗が近年多発しているが, 病原菌として重要なものは *B. allii*, *B. squamosa*, *B. cinerea* の 3 種である⁴. これら各菌の広範な野外における胞子飛散について, 定期的な胞子採集により得た概略的な結果の一部はすでに報告した⁵ が, 本報文ではさらに細かく胞子が風雨によってどのような分散行動を示すかを中心に検討した. さらに胞子の時刻別の分散の変化について, すでに Lorbeer³, 齊藤ら⁸の報告があるが, 筆者も野外におけるこれら *Botrytis* 属菌胞子の飛散を

追跡し若干の知見を得たのでここに一括報告する. 本試験を行なうに当り種々協力をいただいた研究室の方々に謝意を表する. なお, 英文の表題および摘要について御指導をいただいた神戸大学農学部鈴木直治教授に深謝する次第である.

II 実験材料および方法

1. 風による分生胞子の分散

供試菌は Richards 液または, 2% 蔗糖加用ジャガイモ煎汁寒天 (PSA) ベトリ皿培養の *B. allii* や *B. cinerea* を用いた. また, *B. squamosa* はポット植えタマネギ生葉に温室で接種し葉先枯れを起こさせ, その枯死部に胞子を無数に形成したものを乾燥後に使用した. 供試菌の菌叢はベトリ皿培地のまま, あるいは *B. allii* の場合は寒天培地のままコルクボーラーで直径 2cm に打抜いた菌叢片を, 2 片ずつスライドガラス上にのせて用いた. 胞子を形成した枯死葉はベトリ皿にのせて用いた.

胞子を分散させるための送風には東芝製扇風機 S F 30 E を使い、風力調節スイッチおよび扇風機の前面にガーゼをおおって風の強さを調節した。また気流を直線的にするためにボール紙製の内径 25cm、長さ 110 cm の風どうを作り、風どうの一端から風を送り風の出口から 5cm の外側で、ピラム風速計によって30秒間風速を測定し毎秒当りの平均風速を求めた。試験には 0.87~4.8m/sec の範囲を用いたが詳細は実験毎に示した。

供試菌は何れも風どうの風の出口から 5cm の外側に気流に向かって約 45° に傾けて風をあてた。分散胞子の採集はグリセリンニカワを塗布したスライドグラスを、胞子飛散源から 3~5cm 風下に、気流に対し約 60° 傾けて設置して採集した。胞子採集時間は各処理とも30秒間で行なった。

採集胞子数の測定はオリンパスまたはニコン双眼顕微鏡の下で10×15の倍率において、ほぼ100~200視野について調査した。胞子数の調査は個々に分散して付着したものと、2個以上が集団のまま付着したものはそれぞれの個数の集団数として算えた。10個以上の胞子集団は一括して>10として算定した。

2. 水滴による分生胞子の分散

PSA ペトリ皿に *B. allii* を培養したものを蓋を除いてガラス接種箱内に静置した。撒水処理前の胞子分散量をみるため、ジヒドロストレプトマイシン 50ppm を添加した PSA ペトリ皿培地を、接種箱内で5秒間蓋を除いて胞子を採集した。その後ひしゃく型噴霧器に水道水を入れ、極く低圧で粗い水滴を飛ばし菌叢上に落下させた。その際噴口を上に向けて菌叢に風圧がかからないように注意した。水滴落下による胞子分散量の調査は、処理前と同一方法によった。胞子採集後のペトリ皿は 24°C に保ち、発育した *B. allii* の菌叢数をそのまま胞子数として算定した。実験は2回反復し胞子飛散源・胞子採集用の両ペトリ皿も各2枚あて使用した。

つぎに家庭用アイロン用小型スプレーを用いて霧状の微細水滴を菌叢面に落下させた場合についても同様手法により検討した。噴霧は約5秒間行ない、分散胞子数の測定は1回・2回の実験ではペトリ皿各2枚あて用いて、噴霧前と霧が完全に落下した後の2回の採集を行なった。3回目の実験では噴霧直後の霧が落下中の採集を加えた3回の採集を行なった。

3. タマネギ圃場における胞子分散の高さ

1973年5月30日午後2~4時において、約3aのタマネギ圃場のほぼ中央に、上面にグリセリンニカワを

塗布したスライドグラスをペトリ皿内に入れて30分、90分または120分間露出して胞子を採集した。スライドグラスの位置は畦の高さ、畦より5cm低い畦間の溝、草冠高の1/2の高さ(畦表より約25cm)にそれぞれ設置した。採集後の胞子数はニコン双眼顕微鏡下で20×15の倍率で400~700視野について測定した。試験圃場のタマネギは収穫期も近づく *Botrytis* 属菌による葉枯れがかなり多い状態であった。

4. タマネギ圃場における時刻別の胞子分散

前項の圃場において6月1日と15日の2回、昼間の胞子分散数を2時間毎に調査した。両日の天候はほぼ同様で曇り時々晴れで微風が吹いていた。胞子採集は圃場のほぼ中央の畦面で行なったが、実験1の9時10分の採集のみ草冠高(約50cm)についても実施した1処理にストマイ加用 PSA ペトリ皿10枚を用い、各1分間露出して胞子を採集し5日後に発育コロニーの形状から菌の所属を判定し菌数を算えた。

III 実験結果

1. 風による分生胞子の分散

コルクローラーで打抜いた菌叢片を飛散源とした場合の *B. allii* 菌の分生胞子の分散は、Tab. 1 に示す

Table 1. Effect of various wind velocity on conidial dispersal of *B. allii**

Wind velocity m/sec	Number of conidia trapped
0.87	0
1.50	0
1.88	0
2.97	0
3.71	3 conidial masses

* Each test was done for one minute.

ように風速 0.87~2.97m/sec の範囲ではみられなかったが、3.71m/sec では分生子梗に生じた細枝の部分からちぎれて胞子塊となって飛んだものが僅かに採集された。しかし、*B. allii* 菌の分生子梗がさらに伸長発育したものをを用いた場合、Tab. 2 に示すように1.88m/sec の風でも細枝からちぎれた胞子集団が採集されており、分生子梗が伸長したものでは、この程度の風でも分散が起こるものようであった。風速が2.97mまたは3.71m/sec になると、きわめて多数の胞子が採集され容易に分散が行なわれることがみられた。

Tab. 2 の実験で菌叢片を打抜いた残りのペトリ皿

Table 2. Conidial dispersal by wind of *B. allii* grown fully on PSA petriplates

Wind velocity m/sec	No. of microscopic fields observed	No. of conidia per field	No. of conidial masses per field
0.87	100	0	0
1.50	100	0	0
1.88	100	1	0.01
2.97	77	16.1	0.182
3.71	98	14.2	0.296

内の菌叢をそのまま飛散源として用いた場合、Tab. 3に示すように風速 1.88m/sec では分散は認められなかったが、2.97m/sec では分散が認められ、3.71m/sec ではかなり多くの胞子が分散していた。

Table 3. Conidial dispersal by wind from a colony of *B. allii* grown on PSA petri-plate

Wind velocity m/sec	No. of micro- scopic fields observed	No. of conidial masses
0.87	45	0
1.50	45	0
1.88	45	0
2.97	45	9
3.71	42	50

枯死葉上の *B. squamosa* を分散源とした場合、Tab. 4 に示すように 1.50m/sec では分散はみられなかったが、1.88m/sec ではかなり多くの胞子が採集された。この場合は送風時に枯死葉がかなり激しく動揺しており、また分生子梗が *B. allii* のそれより長

かったのが胞子分散数を増加させたと思われる。なお風速の増加に伴ない分散胞子数は増加し、3.71m/sec では多数の胞子が採集された。

Table 4. Conidial dispersal by wind of *B. squamosa* sporulated on die-backed onion leaves*

Wind velocity m/sec	No. of micro- scopic fields observed	Total numbers of conidia
0.87	150	0
1.50	150	0
1.88	140	32.5
2.97	137.5	36.5
3.71	114	234

* Mean value of duplicates.

つぎに風による分生胞子の分散が、個々に分かれて行なわれるのか、あるいは2個以上の胞子が集団のまま分散するかについて検討した結果を Tab. 5 に示した。

B. cinerea 菌について3回、*B. allii* 菌について2

Table 5. Distribution of the number of conidia in a conidial mass dispersed by wind from the culture of two *Botrytis* species

Fungi	Exp.	Number of conidia in a conidial mass trapped										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	>10
<i>B. cinerea</i>	I*	106	76	24	14	9	5	3	1	3	5	7
	II**	80	62	40	18	13	9	1	2	0	3	2
	III***	51	26	6	4	2	3	0	0	1	0	4
<i>B. allii</i>	I*	107	24	9	3	6	0	2	0	0	0	9
	II**	267	35	7	6	3	2	2	0	2	1	10

* Test fungus was grown on Richards' solution.

** Test fungi were grown on PSA in petri-dishes.

*** Test fungus were grown on PSA. Experiment was conducted by atomizing water together with wind.

回検討したが、実験Ⅰ*は Richards 液培養菌、Ⅱは PSA ペトリ皿培養菌、ⅢはⅡと同一菌を用い送風処理時に同時にスプレーで水を菌叢に噴霧した場合である。Ⅰ**、は PSA ペトリ皿培養菌を、それぞれ用いた。これらの実験を通じての結論は、胞子は個々に離れて分散する場合と2個以上が集団のまま、時には10個以上の胞子が集団で分散することである。

2. 水滴による分生胞子の分散

野外における胞子の分散の物理的条件として雨滴による衝撃が考えられる。大粒の雨滴またはしぶきを想定した水滴の落下による胞子の分散は、Tab. 6 に示すように明らかであった。微細な霧状水滴が落下して

Table 6. Conidial dispersal of *B. allii* by spraying of droplets*

Exp.	Number of conidia trapped**	
	Pre-spraying	Post-spraying
I	5	116
II	1	22

* The source of conidia to be dispersed was produced on PSA in petri-dishes. Droplets were sprayed upward and allowed to fall gently on the conidiophores.

** Average value of each petri-dish.

Table 7. Conidial dispersal of *B. allii* by water spraying*

Exp.	Number of conidia trapped**		
	Pre-spraying	1 min. after spraying	3 min. after spraying
I	2	—	2.5
II	0.5	—	2.0
III	0	1.5	0

* Mean of two petri-dishes.

Table 8. Height of drifting *Botrytis* conidia in an onion field*

Height of slide set for spore trap	Time of exposure	No. of microscopic field observed	No. of conidia in a conidial mass trapped					
			1	2	3	5	10	Total of conidia
Level of ridge (a)	120 min.	770	22	2	1	0	1	39
Between ridges, 5 cm below (a)	30 min.	722	20	8	2	1	0	35
	90 min.	773	40	2	0	0	1	68
1/2 height of canopy	120 min.	400	4	0	0	0	0	4

* Trapping were done during 2 to 4 pm, 30 May, 1973.

も胞子の分散が起こることは、Tab. 7 の結果からうかがえるが、Tab. 6 のように多くの胞子分散は起こらず、逆に噴霧直後には分散を起こした胞子も霧状水滴の沈下に際して、胞子も一緒に落とされるため空気中での浮遊菌数が減少することがみられた。

3. タマネギ圃場における胞子分散の高さ

タマネギ圃場内における *Botrytis* 属菌胞子の浮遊密度は地表面、とくに畦間の溝のような低い所で高く、ついで畦の表面であった。草冠の1/2の高さ(約25cm)では胞子の数は急激に減少しており、地表面の1/5程度しか採集されなかった (Tab. 8)。さらに草冠高においては Tab. 9 の午前9時に行なった結果では、地表面でのペトリ皿10枚当りの *B. squamosa* の胞子採集数40に対し0であった。以上の点から胞子の分散は地表面に近いところほど多いと結論しうる。なお、Tab. 8 の試験当日 (5月30日) は風速 1m/sec 内外の微風であったが、2個以上の胞子が集団のまま採集される例が認められ、野外の自然分散においてもモデル実験の結果とほぼ一致することが明らかとなった。

4. タマネギ圃場における時刻別の胞子分散

圃場における昼間の午前9時～午後5時の間での *Botrytis* 属菌胞子の分散量の変化を、Tab. 9, 10 に示したが、6月1日の Tab. 9 では *B. squamosa* のみが採集された。朝9時10分にはかなりの胞子が採集されたが、時間とともに減少し午後1時10分には最少値を示した。午後3時10分に最高の胞子数が採集された。これに続いて午後5時10分が多く採集された。胞子採集数の変化を関係空気湿度の動きからみると、午後1時10分に最低湿度を示し、午後3時10分には若干湿度が上昇を始めている時であった。また、この昼間の胞子飛散数の変化は同時に採集された *Botrytis* 菌以外の雑菌類の採集数の変化とほぼ同様な動きを示した。

6月15日に同一圃場で採集した結果を Tab. 10 に

Table 9. Diurnal change of density of *Botrytis* conidia in the air (1)

Time of trapping	Temp. °C	Relative humidity %	Wind velocity m/sec	Height of trap	No. of collection / petri-dish*	
					<i>B. squamosa</i>	Others
9.10 am	19.8	66	1.27	level of ridge	4±1.56	13.7±5.4
				height of canopy	0	9.4±9.0
11.05	23.4	56	1.43	level of ridge	1.1±0.88	20.7±13.8
1.10 pm	24.5	55	1.37	do	0.8±1.14	11.0±3.9
3.10	23.6	56	1.07	do	13.6±12.9	49.1±9.4
5.10	21.0	61	0.83	do	8.0±3.1	33.3±20.6

* Mean of ten petri-dishes. Note: Cloudiness at each time, 10, 4, 4, 3, and 6, respectively. Wind directions were mainly shown NNE-NNW, during the test. The traps were exposed for one min. at each noted time.

Table 10. Diurnal change of density of *Botrytis* conidia in the air (2)

Time of trapping	No. of trapped conidia / petri-dish			
	<i>B. squamosa</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>B. spp.</i>	Total
9.10 am	0	0.35	0.35	0.7
11.10	0	0.9	0	0.9
1.00 pm	0	0.6	0	0.6
3.00	0	1.7	0.7	2.4
5.00	0	0.5	0	0.5

Note: Trapped 15 June, 1973.

示したが、6月1日の胞子採集とほぼ同様な変化がみられ、やはり午後3時に特異的に多くの胞子が採集された。

ただ、6月15日は *B. squamosa* 菌はまったく採集されず、*B. cinerea* 菌がこれに代って多数採集され、その外に所属未決定の *Botrytis* spp. もかなり採集された。

IV 考 察

菌類の胞子分散には高湿度を要するもの⁷⁾、逆に乾燥時に分散を起こすもの^{8,9)}などが知られている。また一方胞子みずから放出する例も知られている¹⁾、*Botrytis* 属菌の場合、試験管内などでは胞子が完全に成熟して、胞子を支える細枝が収縮退化して分生子梗から脱落しても、なお分生子梗上に付着して胞子の分散は起こらない。しかし、外部から衝撃を与えると容易に分散が起こる。

小野・鈴木⁷⁾ はいもち病菌胞子は多湿条件下で、風速 1m/sec の場合には僅か6個の胞子離脱を起こした

が、風速 5m/sec では1,500個の胞子離脱を認めた。*B. allii* 菌の場合 0.87~2.97m/sec の風では、胞子の分散はきわめて僅かであったが、3.71m/sec では多数の胞子が採集された。ただ、この実験では風の速度が一定であり、風向きも一定であるために実際の胞子分散に必要な最低の風速は、上の値よりもかなり低いものと考えられる。この点は野外においての採集で *Botrytis* 属菌胞子の分散が 0.83m/sec (Tab. 9) の微風でも起こっている点から明らかであろう。そして、野外においては風の流れは一定の速度や方向を示さず、さらに植物による気流のうずを生ずるなど複雑な流れを生ずるために、胞子の離脱が起こりやすいものと考えられる。今回の実験においても、タマネギ枯死葉を胞子飛散源として用いた場合、風によって枯死葉は激しく振動し衝撃が強まったために胞子の分散が多くなった。何れにせよ風による *Botrytis* 菌の胞子分散は風速の増加に伴って増加することは明らかである。

つぎに水による胞子の分散であるが、小野ら⁷⁾ はいもち病菌の場合水が胞子に接するや否や胞子とはびは

ねるように離脱すると述べている。Botrytis 菌の場合も胞子が水に接すると一団に固まって付着していた胞子は、容易に分散する。しかし、いもち病菌のようにとびはねるような行動は示さない。

水滴の落下に伴う Botrytis 菌の胞子の分散は、単なる落下による衝撃と上述の水による分散との協力作用によるものかも知れない。実際場面の野外では雨には風を伴っており、風雨の協力で分散が起こることもあろう。筆者ら⁵⁾はすでに降雨の継続する中で野外での胞子採集を行ない、晴天日より少ない目であったが Botrytis 菌胞子を採集したことから、Botrytis 属菌胞子が雨滴と風によって分散することは明らかである。

小野ら⁷⁾は陸苗代でのいもち病菌胞子の分散の高さを調査したが、地面で14.7個採集されたのに対し草冠では1.7個、草冠より 50cm の上部では一つも採集されなかった。また市川²⁾は草高 1 m 余りの水田内でのいもち病菌胞子の高さ毎の分散は、地上が最も多く高さを増すに従い分散数が減少し、草高以上では激減したと述べている。一方、鈴木穂¹¹⁾は水田の草高 60cm の群落内でのいもち病菌胞子数の分布は、水面上 20 cm に最も多く、それを中心に上下に胞子数が減少すると報告している。長江ら⁹⁾はナタネ菌核病菌の子の胞子は自然風下 (0.5~5m/sec) で、地面に近いほど胞子密度が高かったと述べている。このように植物群落内における病原菌胞子は一般に地面に近いほど飛散密度が高く、草冠を越えると殆んど飛散していないようである。

タマネギ圃場での Botrytis 属菌の場合も小野・鈴木や長江らの成績と良く符合した。鈴木¹¹⁾は水面上 20 cm での胞子飛散量の多いことと、胞子湧源の高さが同一であった点を述べているが、タマネギ圃場においての Botrytis 属菌胞子は地表または地表近くに垂下した下葉枯死葉に形成されるので、地表で多く採集されたものであろう。

つぎに病原菌胞子の時刻別飛散であるが、Lorbeer³⁾は、*B. squamosa* 菌の胞子分散の日周期について検討し、胞子の大部分は日中に採集され、2時間刻みで見ると最高値は晴天の場合日中の気温が高まり、関係湿度の下ったときにあると述べている。また斉藤・森本⁸⁾はビニールハウス内における病原菌胞子の分散の

時刻別消長をみており、キュウリべと病菌、トマト葉かび病菌の分生胞子は午前中とくに 9 時頃の換気窓開放時刻を中心に多く採集されるが、キュウリうどんこ病菌やピーマン灰色かび病菌は正午前後に多く、これらの菌では乾燥状態が漸次続いた後に飛散しやすくなるようであると述べている。このように Botrytis 属菌胞子の分散は関係湿度の低下に伴って増加するものようである。筆者の 2 回の採集日ともうす曇りで、*B. squamosa*, *B. cinerea* とも同一時刻に胞子採集のピークがあり、関係湿度が最低を若干過ぎて再び上昇過程に入った頃で、本実験の範囲では Lorbeer³⁾や斉藤ら⁸⁾の成績とよく一致した。

Botrytis 属菌の胞子分散のうち興味ある現象は、胞子が個々に離れて飛散する場合が勿論多いが、2 個以上のときには 10 数個が集団で飛散しており、本属菌のタマネギ葉身への侵入が単個や 2, 3 個の集団胞子では起こらず、多数胞子の集団の場合に容易な点から考察すると、胞子の集団による分散は本属菌の侵入増殖に大きな意義を有すると思われる。

引用文献

- 1) 平塚直秀 (1955) 植物銹菌学研究。笠井出版社、東京, pp. 174—176.
- 2) 市川久雄 (1965) 日植病報, 31 : 291—295.
- 3) Lorbeer, J. W. (1966) : Phytopath. (Abs.), 56 : 887.
- 4) 松尾綾男 (1973) 兵庫農試研報, 21 : 43—46.
- 5) ———・西村十郎・神納 浄・坂本 庵・山田憲一・入江和己 (1973) 兵庫農試研報, 21 : 47—50.
- 6) 長江春季・鮫島常喜・渡辺文吉郎 (1973) 日植病報 (講要), 36 : 146—147.
- 7) 小野小三郎・鈴木穂積 (1959) 北陸病虫害会報, 7 : 6—19.
- 8) 斉藤 正・森本松男 (1966) 日植病報 (講要), 32 : 329.
- 9) 坂本 庵・松尾綾男・宇都敏夫 (1970) 兵庫農試研報, 18 : 39—42.
- 10) 鈴木穂積 (1963) 日植病報 (講要), 28 : 62—63.
- 11) ——— (1965) 日植病報 (講要), 30 : 69.
- 12) 鈴木孝仁 (1967) 日植病報 (講要), 33 : 349.
- 13) ——— (1969) 日植病報 (講要), 35 : 371.

Summary

The dispersal of conidia of three *Botrytis* species, *B. squamosa*, *B. allii* and *B. cinerea*, which are major pathogens of onion, was examined in relation to wind velocity and water droplets falling gently on conidiophores. The dispersal was also examined in the onion field at different levels and different

times in a day.

1) In the laboratory experiments, conidia were released at the wind velocity above 1.88 m/sec, whereas the dispersal occurred even at 0.83 m/sec of the wind velocity in onion fields, possibly because of the complicated wind blow in the open air.

2) Conidia were readily released by the gently falling water droplets.

3) In the onion field, the largest number of conidia were trapped by slides placed horizontally at 5 cm below the level of ridges between the ridges, followed by the level of ridges, and much less at 1/2 height of the plant canopy.

4) In the field, the maximum conidial release took place about 3.00 pm when the relative humidity of air just began to rise after being its minimum.

5) The released conidia were mostly single conidia in air, but they also aggregated into masses consisting of more than two conidia.