

[山梨大発研報告 16 1~4 1981]

## ブドウ灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* のブドウ果粒 および葉上での繁殖

後藤 昭二・青野 力三

### Propagation of Grey Mold of Grape, *Botrytis cinerea*, on Grape Berries and Leaves.

SHOJI GOTO and RIKIZO AONO

The Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University, Kofu 400

Pathogenicity of grey mold of grape, *Botrytis cinerea*, on grape berries and leaves was studied. Seven strains of *B. cinerea* was classified into 3 types, L(large), M(moderate), and W(weak), on the basis of the lesion on leaf of Muscat Bailey A. This classification almost agreed with the degree of propagation of the mold on grape berries of Koshu and Delaware. All strains used did not or very weakly grow on the berries of Koshu, but did well on Riesling and Semillon. On the berry of Delaware, L and M type strains could propagate, but W type strains grew weakly. On the wax-free berries, all strains could propagate very well.

わが国のブドウ栽培では従来、灰色かび病菌の顕著な発生例は殆んどなかったようであるが、近年ヨーロッパ系品種の栽培が多くなるにつれてその発生例が多くなっているようである。一般にわが国在来の甲州種、気候風土に定着してきたDelaware や交配種のMuscat Bailey Aなどは灰色かび病菌に浸され難く、Riesling や Semillon といったヨーロッパ系品種は感染し易いことが経験的に知られている。

著者らは<sup>1)</sup>先に山梨県下のブドウ園から灰色かび病菌, *Botrytis cinerea* 100菌株を分離、同定し、これら菌株の病原性をレタス葉上での病斑形成から病原性強大なL型と弱小なW型とに分類、報告した。

本報では、これら菌株のなかから代表的な数菌株を選定してブドウ葉上と果粒上における繁殖状況を観察し、各菌株およびブドウ品種による繁殖程度の相違、さらに *B. cinerea* の繁殖に対する表皮ワックスの効用などについて研究した結果を報告する。

#### 実験方法

供試菌株 著者らが<sup>1)</sup>先にブドウから分離、同定した *B. cinerea* の中の7菌株—BC-025, -045, -080, -091, -102, -114, -132—を選択、供試した。

ブドウおよびレタス葉上での供試菌株の繁殖試験 供試菌の前培養、培養方法などは前報<sup>1)</sup>と同様に行なった。ブドウ葉は Muscat Bailey A の5月下旬採取の若葉(大きさ・7-9×7-9 cm<sup>2</sup>)とやや大きな成熟葉(大きさ・13-15×13-15 cm<sup>2</sup>)とを用いた。前報においては病斑の大きさ7.5 cm<sup>2</sup>以上をL、7.5 cm<sup>2</sup>以下をWとして表示したが、本報では15 cm<sup>2</sup>以上をL、7-15 cm<sup>2</sup>をM、7 cm<sup>2</sup>以下をWと表示した。

ブドウ果粒上での供試菌株の繁殖試験方法 供試ブドウには Delaware, Riesling, Semillon, 甲州の4品種の成熟果を用いた。果粒は水道水、次いで殺菌水で洗浄した。あらかじめ供試菌株はPDA (potato-

dextrose-agar) 平板培地に20℃, 7日間培養して, 胞子が形成したところに, 洗浄した果粒を直接, 接触させることによって接種した。胞子を接種した果粒は, 深底ペトリー皿内に用意した金網上にならべ20℃で4週間培養した。ペトリー皿内は殺菌水を浸潤した濾紙片を置いて湿室とした。なお, 本実験は1回の試験に果粒10~18個を用い2年間で4回の試験を行った。結果は4回の実験の平均値をとり, 供試果粒数に対する供試菌株が繁殖した果粒数(%)として表わした。同時に供試菌を接種しない対照試験も行った。

ブドウ果粒から表皮ワックスの除去 クロロホルム, エタノール(99% v/v), 石油エーテル(b. p. 40-60℃)の3種の溶媒をそれぞれ用いた。ワックスの抽出除去は Martin<sup>2)</sup>の浸漬法に準じて行った。すなわち, 溶媒100 mlを入れた250 ml容ビーカーを第1から第3までの3個用意する。供試ブドウ果粒を第1ビーカーに約1分間浸漬し, 続いて第2, 第3ビーカーの同一溶媒中に順次浸漬した。この果粒を風乾, 殺菌水で洗浄後, 前項同様にして供試菌を接種, 培養した。

果粒浸漬後の溶媒は溜去し, 重量を測定して果粒表皮からの除去ワックス量( $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ )とした<sup>1, 3)</sup>。

#### 結果および考察

*B. cinerea* のブドウ葉と果粒上での繁殖 供試7菌株のブドウ葉上とレタス葉上での繁殖(病斑形成)状況を, 培養6日目の病斑の大きさによって, L(>15 cm<sup>2</sup>), M(7-15 cm<sup>2</sup>), W(<7 cm<sup>2</sup>)として

Table 1に示した。また, L, M, W各タイプのブドウ葉上での病斑形成の過程を Fig. 1に示した。この結果から解るように BC-025, -045, -080, -114の4菌株は, レタス葉上とブドウ葉上での病斑タイプはほぼ一致していた。ただし, BC-091と BC-102のレタス葉上での結果は, 前回<sup>1)</sup>は L(M)型であったが, 本実験では W型となるといった相違がみられた。また, BC-091のブドウ葉上での結果は L型で前回のレタス葉上の結果と一致し, BC-102ではブドウ葉上と本回のレタス葉上とも W型で一致した。BC-

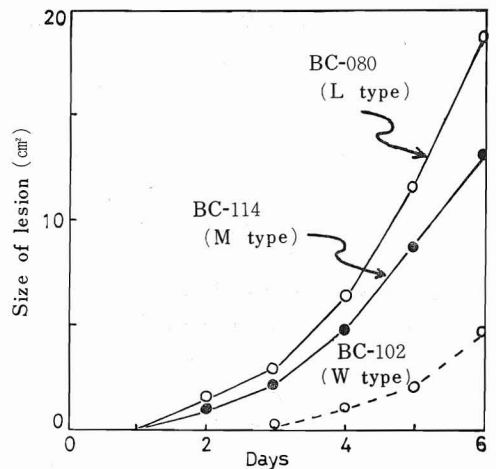


Fig. 1. Development of the lesion on grape leaf (Muscat Bailey A) by L, M, and W type strains.

Table 1. Propagation of *Botrytis cinerea* on grape and lettuce leaves.

Strain	On lettuce leaf		
		Goto et al, <sup>1)</sup> 1980	On grape leaf <sup>a)</sup>
BC-025	W <sup>b)</sup>	W	W
BC-045	M	L	L
BC-080	L	L	L
BC-091	W	L	L
BC-102	W	L	W
BC-114	M	L	M
BC-132	L	W	L

Incubation was carried out at 20℃ for 6 days.

a) young and small leaf (7-9 x 7-9 cm) of Muscat Bailey A was used.

b) degree of lesion, W = 7 cm<sup>2</sup>, M = 7-15 cm<sup>2</sup>, L = 15 cm<sup>2</sup>.

132は前回と本回とのレタス葉上での結果と異なり、ブドウ葉上での結果はL型で、今回のレタス葉上の結果と一致した。このような相違の原因は不明であるが、基質となる植物体の選択、接種胞子の数などについてさらに検討が必要であろう。

なお、ブドウ葉は採取期によって *B. cinerea* の繁殖(病斑形成)が著しく異なり、未熟な若葉に比べ、成熟したと思われる大型葉での繁殖は著しく悪くなりW型の菌株は繁殖(病斑形成)が認められないことが多かった。

*B. cinerea* のブドウ果粒上での繁殖 経験的に灰色かび病菌に強いといわれている甲州種、Delaware と繁殖し易いといわれる Riesling, Semillon の4品種の果粒を供試し、*B. cinerea* 7菌株の各果粒上での繁殖の程度を観察した。繁殖の程度は、供試全果粒数に対する繁殖した果粒数の比(%)としてTable 2に表示した。

甲州種においてはBC-025, -102, -132の3菌株は全く繁殖が認められず、他の4菌株の繁殖率も22~33%と悪かった。Delaware においては、BC-132は繁殖せず、BC-025と-102は繁殖率6~12%と低率であったが、他の4菌株は46~62%と比較的良好であった。Riesling と Semillon に対しては、Riesling に対するBC-102の場合を除き、繁殖率はいずれも50~88%と良好であった。

以上のような各ブドウ品種における *B. cinerea* の繁殖試験の結果はRiesling や Semillon は灰色かび病

菌に感染し易い品種であり、甲州種は感染し難い、といった従来からの経験的な知識を裏付けるものであった。他方、*B. cinerea* の菌株間にも果粒上に繁殖容易なものや困難な菌株があり、特に Delaware, 甲州種を対象としたとき、その差が明瞭であった。この差はレタスやブドウ葉上での病斑形成能の差とおおよそ一致するものであった。

なお、ブドウ品種による *B. cinerea* の繁殖(灰色かび病菌抵抗性)の差や菌株による果粒上での繁殖の差については解明されておらず今後の研究が望まれる。また、本実験では果粒への接種胞子数を的確に計数する手法が確立できず、接種胞子数を無視した結果になっているが、胞子数は胞子の発芽、発病と密接な相関があると思われるので、手法上の今後の解決が要求される。

表皮ワックス除去果粒上での *B. cinerea* の繁殖 表皮ワックスをそれぞれクロロホルム、エタノール、石油エーテル(b. p. 40~60°C)の3種の溶媒で除去した甲州種果粒上での *B. cinerea* の繁殖状況を観察した。結果はTable 3に示した。また、各溶媒での抽出ワックス量も同時に示した。

クロロホルムで除去処理した甲州果粒には、未処理果粒上には繁殖が認められなかったBC-025, -132も含め、全菌株とも100%の繁殖率であった。エタノール、石油エーテル処理果粒では16~33%の繁殖率で僅かに処理効果が認められた。

クロロホルムは表皮全ワックスを抽出する<sup>4,5,6)</sup>

Table 2. Propagation of *Botrytis cinerea* on various grape berries.

Strain	Varieties of the grapes			
	Koshu	Delaware	Riesling	Semillon
BC-025	0 <sup>a)</sup>	6	65	70
BC-045	22	46	70	83
BC-080	33	56	77	88
BC-091	27	62	77	88
BC-102	0	12	50	56
BC-114	22	50	55	88
BC-132	0	0	50	55

Incubation was carried out at 20°C for 28 days.

a) : %: Number of berries on which *B. cinerea* propagated/total number of berries used.

Table 3. Propagation of *Botrytis cinerea* on wax-free grape berry.

Solvent <sup>a)</sup>	Strains					Amount of the wax removed by solvent ( $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ grape surface)
	BC-025	BC-045	BC-091	BC-114	BC-132	
Chloroform	100 <sup>b)</sup>	100	100	100	100	4.03
Ethanol (99% v/v)	16	—	33	—	—	0.29
Petroleum ether (b. p. 40–60°C)	16	—	16	—	—	0.27
Intact berry	0	11	16	11	0	0

Grape berry was used the white variety of Koshu and culture was incubated at 20°C for 28 days.

a) Solvents used to remove of the surface wax. The extraction was carried out by Martin's method<sup>1)</sup>.

b) %, Number of berries on which *B. cinerea* propagated/total number of berries used.

ことから、処理果粒は防壁としてのワックスが除去されて表皮細胞が露出あるいは死滅し *B. cinerea* の繁殖をうながすものと思われる。これに対して石油エーテルやエタノールは表皮ワックスの一部の溶解能しかないこと<sup>4)</sup>から、ワックス主成分である Oleanolic acid その他のワックス成分が残り *B. cinerea* の浸入、繁殖に対する防壁をなしているものと思われる。これらのことは、表皮ワックスが病害菌に対して防壁としての役割説を裏付けるものであろう。

#### 要 旨

ブドウ灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* のブドウ果粒および葉上における繁殖について検討した。

供試7菌株は Muscat Bailey A 葉上での病斑面積から強大なL, 中間的なM, 弱小なW型に分けられた。この群別は一, 二のブドウ品種果粒上での繁殖とおおよそ一致した。供試7菌株は甲州種果粒上では全く繁殖しないか、微弱な生育であった。しかし, Riesling, Semillon 上には良く繁殖した。Delaware 上では病斑LとM型菌株は比較的良く繁殖したが, W型菌株は微弱な生育であった。ワックス除去処理した甲州種果粒には全菌株とも非常に良く繁殖した。

本研究を行なうに当り実験の一部を担当された後藤牧子君に感謝します。

#### 文 献

- 1) 後藤, 寺林, 横塚: 農化, **54**, 117 (1980)
- 2) Dudman, W. F., Grncarvic, M.: *J. Sci. Food Agric.*, **13**, 221 (1962)
- 3) 後藤, 青野: 山梨大発研報告, **16**, 5 (1981)
- 4) Radler, F.: *Aust. J. Biol. Sci.*, **18**, 1045 (1965)
- 5) Radler, F., Horn, D. H. S.: *Aust. J. Chem.*, **18**, 1059 (1965)
- 6) Grncarevic, M., Radler, F.: *Am. J. Enol. Viticul.*, **22**, 80 (1971)