

秋田県におけるネギ黒腐菌核病の発生

齋藤 隆明¹⁾, 藤井 直哉¹⁾, 渡辺 恭平²⁾, 伊賀 優実³⁾, 藤 晋一³⁾

Occurrence of Welsh Onion White Rot Caused by *Sclerotium cepivorum* in Akita

Takaaki SAITO¹⁾, Naoya FUJII¹⁾, Kyohei WATANABE²⁾, Manami IGA³⁾ and Shin-ichi FUJI³⁾

(1) Akita Prefectural Agricultural Experiment Station, 2) Akita Prefectural Plant Protection Office

3) Akita Prefectural University)

Key Words：ネギ，黒腐菌核病，*Sclerotium cepivorum*

緒 言

2022年5月に、秋田県中央部の初夏どりネギ（品種「坊主不知葱」）ほ場において、株の生育抑制や黄化、枯死症状の発生がみられた（第1図a）。本症状を呈した株では、茎盤部から葉鞘にかけて黒変し、その表面に黒色の菌核が多数形成されていた（第1図b）。そこで、本症状の原因を詳細に調査した結果、ネギ黒腐菌核病（病原菌 *Sclerotium cepivorum*）であることが判明し、本県では初確認されたため、ここに報告する。

材料と方法

1. 病原菌の分離

黒変症状を呈したネギの表面から、病変部位を2~3mm角で切り取り、70%エタノールに60秒間浸漬して表面殺菌した。切片をポテトデキストロス寒天培地（PDA培地、富士フィルム和光純薬工業株式会社）上に静置して20°C・暗所で培養した。生育した菌叢を分離して供試菌株222-1とした。

2. 病原菌の生育と温度の関係、病原菌の形態

222-1株をPDA培地に置床して20°C・暗所で前培養し、菌叢の先端を寒天ごと8mmのコルクボーラーで打ち抜き、含菌寒天をPDA培地に置床後、5、10、15、20、25、30、35°Cの定温器で培養した。培養3日後に菌叢の直径を計測し、1日あたりの菌叢生育速度を求め、8

日後に菌核の形成量を達観で確認し、菌核の長径と短径を測定した。

3. 病原性の確認

222-1株をPDA培地で20°C・暗所で3日間前培養した後、菌叢片をふすま培地で20°C・暗所で培養して接種源とした。対照として、ネギ黒腐菌核病菌と同種のニンニク黒腐菌核病菌株A01-1（青森県農林総合研究所から分譲）を供試した。接種は、接種源と園芸培土を重量比で1:9に混和した汚染土を用い、無接種区として菌を培養していないふすま培地を同様の方法で園芸培土（げんきくん1号、片倉コープアグリ株式会社）に混和したものをを用いた。これらの供試培土を2.5号ポリ鉢に充填し、葉齢2~3葉期のネギ苗（品種「夏扇パワー」、（株）サカタのタネ）を8本/鉢を移植し、3反復設けた。10°C、15°C、20°C（12時間日長・湿度70%）にそれぞれ制御したグロウスキャビネットに入れて約20日間栽培した。その後、供試したネギ苗に現地を確認された黒変症状がみられた場合に発病ありとし、発病苗率を算出し、発病がみられたネギの一部を（1.）と同様の方法で分離し、同一の菌であるかを確認した。

4. 分離菌の分子系統解析

222-1株をPDA斜面培地で培養後、PS液体培地に移植し、25°C・暗所で5日間培養した。得られた培養物はブフナー漏斗を用いて吸引ろ過し、菌体を回収後に

1) 秋田県農業試験場, 2) 秋田県病害虫防除所, 3) 秋田県立大学

2024年8月2日受理

約 5mm 角の大きさに切り出し、PEX 法(Nakahara et al. 1999)により DNA を抽出した。抽出した DNA を鋳型とし、rDNA internal transcribed spacer (ITS) 領域は既報(White et al. 1990)に基づき、heat shock protein 60(hsp60)、glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (g3pdh)、calmodulin(cal)遺伝子は既報(Andrew et al. 2012)に基づき、PCR 反応を行った。PCR で使用したプライマーを用いてシーケンス反応を行い、ABI PRISM 3500xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems)で配列を解析した。ITS 領域の塩基配列は BLAST 解析による菌種の仮同定に使用した。本菌が *S. cepivorum* と推定されることから hsp60 遺伝子、g3pdh 遺伝子、cal 遺伝子については配列を結合し、本菌の近傍に分類される *Sclerotinia* 属菌の配列とともに近隣結合法(Neighbor joining method, NJ)により系統樹を作成し分子同定を行った(Xu et al. 2010)。

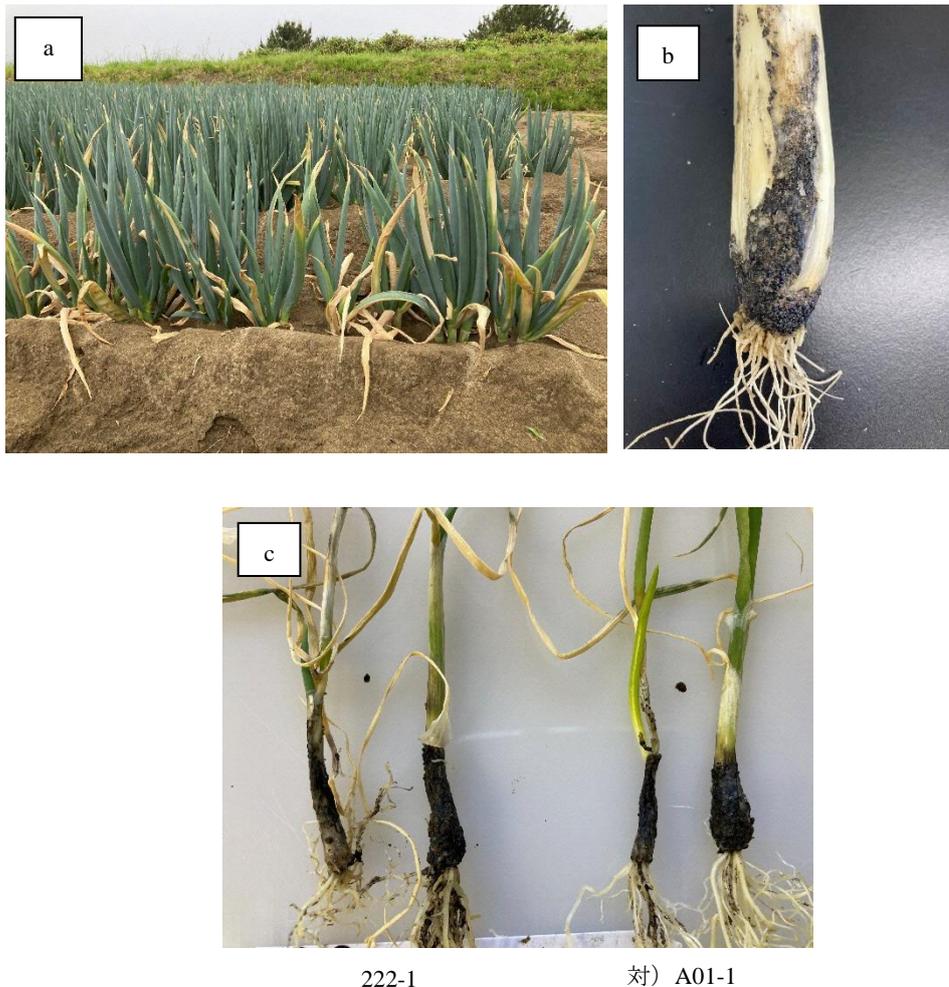
結果と考察

1. 病原菌の生育と温度の関係、病原菌の形態

222-1 株の菌叢の生育は 5~25℃で認められ、20℃で菌叢生育速度が最も速かった(第 2 図)。また、菌核の形成は 15~25℃で認められ、黒色で偏平・中高であり、20℃で形成量が最も多かった(第 3 図、データ一部略)。大きさは長径 0.19~0.72mm、短径 0.13~0.62mm で、若井田(1968)の *Sclerotium cepivorum* の大きさと概ね一致した(第 1 表)。

2. 病原性の確認

222-1 株および A01-1 株の接種試験では、現地で確認されたネギの黒変症状が再現され、10℃と 15℃では発病苗率が 100%となり、20℃では 12.5%と低く(第 1 図)、無接種区では症状が認められなかった。これらの結果から、発病適温は 20℃より低く、菌叢生育適温と異なっていると考えられ、既報の結果(池田・酒井 2020)と概ね一致していた。



第 1 図 現地ほ場におけるネギ黒腐菌核病の発生状況と病徴および接種試験の発病状況 (a:ほ場の状況, b:ネギ茎盤部の病徴, c:222-1 株と対)A01-1 株の接種による病徴)

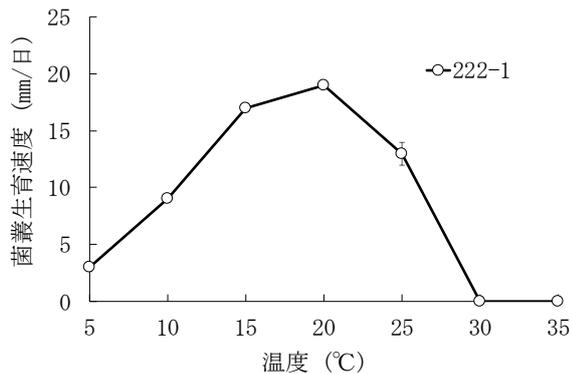
第1表 222-1株の形態

供試菌株	菌核の長径×短径(mm)
222-1	0.19~0.72×0.13~0.62
<i>S. cepivorum</i> ¹⁾	0.21~0.58×0.16~0.40

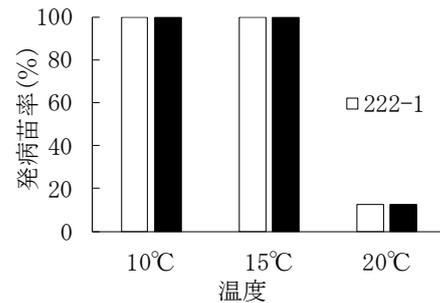
1) 若井田(1968)



第3図 222-1株(ネギ分離菌株)と対 A01-1株(ニンニク分離菌株)をPDA培地で20°C・暗所で培養後の菌叢

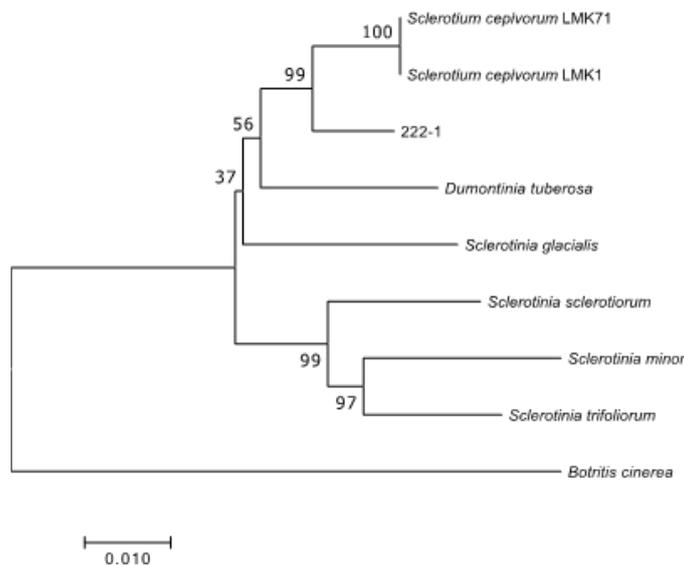


第2図 222-1株の各培養温度における生育速度(3反復の平均値, エラーバーは標準誤差)



第4図 接種試験による発病状況

- 1) 黒変が確認されたネギ苗を発病苗とした.
- 2) データは3反復の平均値.



第5図 222-1株と *Sclerotium* 属菌および分子系統学的に近縁な *Sclerotinia* 属菌との系統樹解析

- 1) 解析は Hsp60, g3pdh, cal 遺伝子の塩基配列を結合し近隣結合法により行った. アウトグループには *Botrytis cinerea* を用いた.
- 2) 分岐の数値は1000回の反復によるブートストラップ値 (%) を表す.
- 3) bar=10/1000 塩基.

3. 分子系統解析

222-1株のITS領域を決定し, BLAST解析を行った結果, *Sclerotinia*属菌と高い相同性を示した. 加えて

hsp60遺伝子, g3pdh遺伝子, cal遺伝子の塩基配列を結合した系統樹解析において, 222-1株はオスロ大学保存菌株 *S. cepivorum* LMK71 (1889.S)と *S. cepivorum*

LMK1(1878.S) (Couch and Kohn 2000) と単一クラスターを形成した (第 5 図) . これらの結果に基づいて、222-1 株を *S. cepivorum* と同定した.

以上から、本県で発生したネギの茎盤部と葉鞘部に黒変を伴う生育抑制ならびに黄化および枯死症状は、ネギ黒腐菌核病によるものであることが明らかになり、秋田県では初確認となる。本病は、関東地方では茨城県、千葉県、東海地方では静岡県、中国地方では鳥取県などの根深ネギ産地で確認されており、低温時期に収穫する作型で多発し問題となっている (小河原 2023) . 本県の初夏どりネギは、5~6 月が収穫期となるため、本病が発生しやすかったと思われる。本県の主な作型は夏どりネギ (7~9 月収穫) と秋冬どりネギ (10 ~12 月収穫) であるが、定植時期および収穫時期に本病が発生しやすい低温時期であるため、両作型における本病の発生拡大が懸念される。また、本病原菌はニンニクやタマネギにも病原性があるため (桑田ら 1984) , ネギ以外の品目での発生も合わせて注意が必要である。

摘 要

秋田県の初夏どりネギほ場において、黒腐菌核病の発生が初確認された。本県における本病の発生拡大に注意が必要である。

謝 辞

本研究を行うにあたり、青森県農林総合研究所の岩間俊太氏より、ニンニク黒腐菌核病菌株の分譲や多くのご助言をいただいた。ここに感謝の意を表す。

引用文献

- Andrew, M., Barua, R., Short, S. M., Kohn, L. M. 2012. Evidence for a Common Toolbox Based on Necrotrophy in a Fungal Lineage Spanning Necrotrophs, Biotrophs, Endophytes, Host Generalists and Specialists PLoS ONE e29943.
- Couch, B. C. and Kohn, L. M. 2000. Clonal Spread of *Sclerotium cepivorum* in Onion production with Evidence of Past Recombination Events. Ecology and Population Biology 90:514-521.
- 池田健太郎・酒井 宏. 2020. 土壌温度がネギ黒腐菌核病の発病に及ぼす影響. 日植病報. 86:148-150.
- 池田幸子・清水基滋. 2006. 北海道における食用ユリでのユリ類黒腐菌核病の発生. 北日本病虫研報. 57:49-52.
- 桑田博隆・島田慶世・千葉順逸・鷲尾貞夫・千葉末作. 1984. ニンニク黒腐菌核病に関する研究. 青森農試研報. 28:17-63.
- Nakahara, K., Hataya, T., and Uyeda, I. (1999) A simple rapid method of nucleic acid extraction without tissue homogenization for detecting viroid by hybridization and RT-PCR. Journal of Virological Methods 77:47-58.
- 小河原孝司. 2023. ネギ黒腐菌核病の発生実態と防除対策. 植物防疫. 77 : 474-478.
- 若井田正義 1968. ネギ黒腐菌核病に関する研究. 宇都宮大学農学部学術報告特輯. 23:18-19.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. L., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., White, T. J. (Eds.), PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego, pp. 315-322.
- Xu, Z., Harrington, C. T., Gleason, L.M., Batzer, C. J., 2010. Phylogenetical placement of plant pathogenic *Sclerotium* species among teleomorph genera. Mycologia. 102: 337-346.