

(短報)

ノリの壺状菌病耐性に関する評価

藤武史行・三根崇幸・横尾一成

Evaluation to Disease Tolerance of Nori, *Porphyra* spp. on Chytrid Disease

Fumiyuki FUJITAKE, Takayuki MINE and Kazunari YOKOO

はじめに

壺状菌病は、卵菌綱、フクロカビモドキ目、フクロカビモドキ科、フクロモドキ属の一種である *Olpidiopsis porphyrae* がノリ葉体に感染して起こる病気である¹⁾。本病になるとノリ葉体は緑色に変色し、さらに症状が進行すると、白く脱色して養殖網から脱落する。本病は、全国のノリ養殖漁場において毎年のように発生し、年によっては、深刻な被害を及ぼしている²⁾。

本病原菌は、病害防除法として一般的に実施されている乾燥冷凍および酸処理に対して耐性を有するため、本病原菌により発病する本病の効果的な防除法がないのが現状である。このため、本病の被害を軽減するためには、本病に耐性を示す品種（以下、壺状菌病耐性品種）の開発が重要であり、耐性を正確に評価する必要がある。これまで壺状菌病耐性の評価方法に関しては、昭和55年度種苗特性分類調査報告書³⁾で示されているものの、この方法では、本病原菌の感染濃度が明確でなかったため、品種の壺状菌病耐性を正確に評価することが困難であった。

そこで、壺状菌病耐性の評価方法を確立するために、壺状菌病遊走子の採集方法および感染方法について検討するとともに、壺状菌遊走子感染濃度を定量した感染試験により、3品種の壺状菌病感染細胞数を比較し、品種評価を試みたので報告する。

材料および方法

ノリ葉体の培養条件

ノリ葉体は、補強栄養塩として改変 SWM-Ⅲを添加した有明海地先海水を用いて、水温 18℃、塩分約 30、光

強度 90 $\mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$ 、11 時間明期：13 時間暗期で培養した。

壺状菌遊走子の採集

壺状菌病の感染被度が異なるノリ葉体（1 視野（ $\times 400$ 倍）あたり 10～50 個、50～100 個、および 100～200 個）を酸処理（pH2.0、1 分間）した後、海水 100 ml の入った枝付き丸底フラスコに入れ、4 時間通気培養した。培養 1 時間毎に海水を採取し、海水中的の本菌遊走子数をプランクトン計数板を用いて計数した。本病遊走子の確認は、光学顕微鏡（ $\times 200$ 倍）下で、大きさ、鞭毛の有無、および運動性の有無により行った。

壺状菌遊走子の感染方法

試験には、室内培養で葉長 2～3 cm まで生長させたサビノリ *P. yezoensis* 品種名 U-51 を用いた。このノリ葉体を、海水 20 mL の入った三角フラスコにそれぞれ 3 枚入れた後、本菌遊走子を終濃度が 100 個/ml、1000 個/ml、および 10000 個/ml となるように添加し、CRADLE-SHAKER（ATTO 社製）で緩やかに攪拌培養した。培養 24、48、および 72 時間後に、光学顕微鏡（ $\times 200$ 倍）1 視野あたりの本菌感染細胞数を計数した。

壺状菌病の感染試験

試験には、室内培養で葉長 2～3 cm まで生長させたサビノリ *P. yezoensis* 品種名 U-51、S-5-0、およびオオバグリーンの計 3 株を用い、U-51 を対照株とした。これらのノリ葉体を、海水 20 mL の入った三角フラスコにそれぞれ 3 枚入れた後、本菌遊走子を終濃度が 100 個/ml となるように添加し、CRADLE-SHAKER で緩やかに攪拌培養した。培養 48 時間後に、光学顕微鏡（ $\times 200$ 倍）1 視野あたりの本菌感染細胞数を計数した。

結果および考察

壺状菌病感染被度別ノリ葉体を通気培養し、培養海中の本菌遊走子数を計数した結果は表1のとおりであった。すなわち、感染被度が10~50個および50~100個のノリ葉体では、いずれも試験期間を通して海水中に遊走子を確認することができなかった。一方、感染被度が100~200個のノリ葉体では、培養4時間後に遊走子が確認され、その数は2000個/ml以上であった。このことから、感染被度が100~200個のノリ葉体を4時間通気培養することで、遊走子を採集できるものと考えられた。

表1 遊走子放出に要した培養時間

感染被度 (個/視野)	培養時間			
	1	2	3	4
10~49	-	-	-	-
50~99	-	-	-	-
100~200	-	-	-	+

- : 未放出, + : 放出

本菌の感染試験方法を検討するため、遊走子を濃度別にノリ葉体に感染させ、本菌の感染段階および感染細胞数を調べた。その結果、全ての遊走子感染濃度区において、本菌の感染段階は同様な傾向であった。感染24時間後では、正常細胞との識別が困難な感染初期の細胞(写真1)が多く観察された。感染48時間後になると、成熟した球形の菌体が細胞内に認められ、正常な細胞との識別が容易であった(写真2)。感染72時間後では、遊走子放出後の細胞や感染初期の細胞が観察された(写真3)。感染72時間後に観察された感染初期の細胞は、遊走子放出後の細胞が観察されたことから、2次感染した細胞であると推察された。このことから、感染細胞数を正確に計数するためには、感染48時間後に測定することが適切であると考えられた。そこで、感染48時間後の感染細胞数を感染濃度別に比較すると、感染濃度100個/mlのノリ葉体では、1視野あたり数個~30個程度であった。感染濃度1000個/mlでは、1視野あたり30~100個程度であり、感染濃度10000個/mlでは感染細胞数が多く計数困難であった。このことから、1視野あたりの感染細胞数が多いと測定に多大な労力と時間を要するため、本病の耐病性評価する目的から、感染試験における遊走子の感染濃度は100個/mlが適切であると考えられた。

最後に、感染濃度100個/ml、感染48時間後の感染細胞

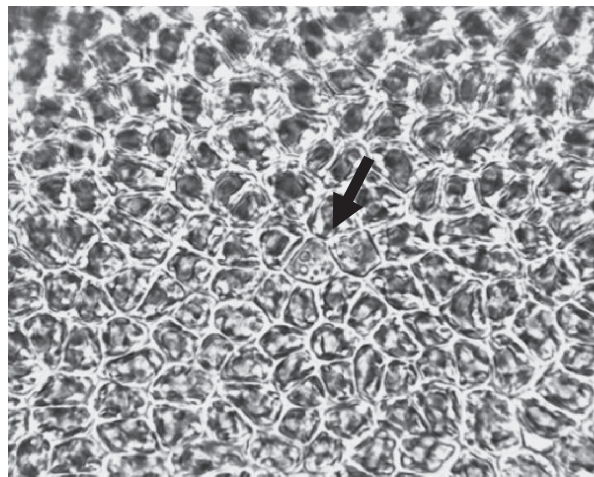


写真1 24時間後の感染細胞

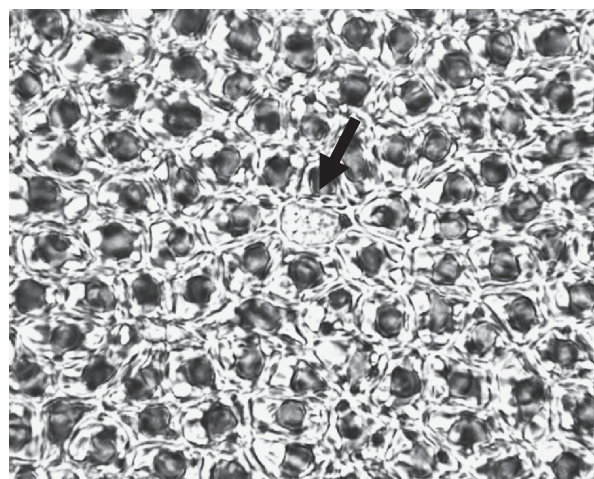


写真2 48時間後の感染細胞

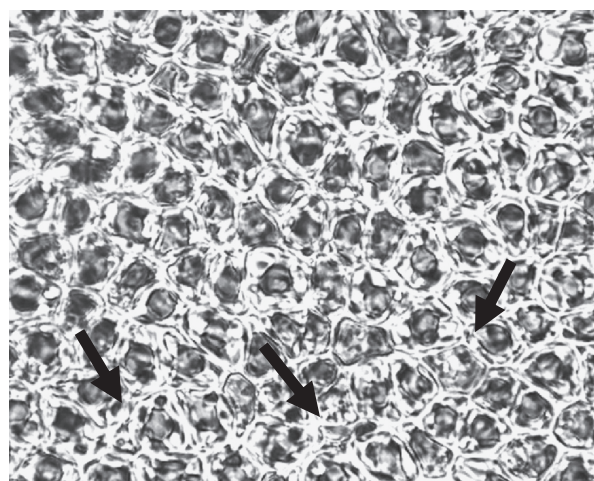


写真3 72時間後の感染細胞

胞数を測定する手法で、3品種に対する壺状菌病の感染細胞数を調べた結果は図1のとおりであった。感染48時間後の1視野あたりの感染細胞数は、佐賀5号では

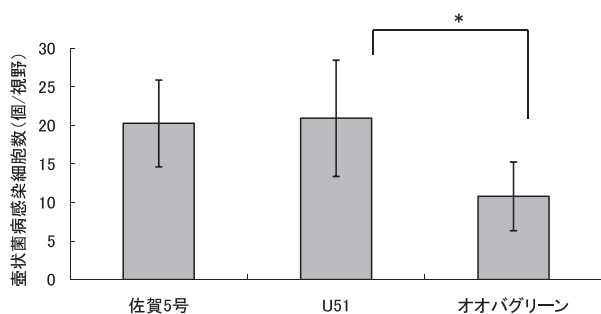


図1 品種間における壺状菌感染細胞数の比較
縦棒は標準誤差。星印はU-51と比較して有意差 (t -test, $P < 0.05$)
があることを示す

20.3個であり、U-51の20.9個と同程度であった。一方、オオバグリーンでは10.8個とU-51の20.9個よりも有意に少なかった (t -test, $P < 0.05$)。このことから、壺状菌病耐性は、佐賀5号ではU-51と同程度であり、オオバグリーンではU-51よりも強いことが推察された。

以上の結果から、本試験で用いた感染試験により、品種の壺状菌病耐性を評価することが可能であると考えられた。今後、本手法を用いて、壺状菌病耐性品種の開発が進むことが期待される。

文 献

- 1) S. Sekimoto, K. Yokoo, Y. Kawamura, and D. Honda. (2008): Taxonomy, molecular phylogeny, and ultrastructural morphology of *Olpidiopsis porphyrae* sp. nov. (Oomycetes, straminipiles), a unicellular obligate endoparasite of *Bangia* and *Porphyra* spp. (Bangiales, Rhodophyta). *Mycological Research*, (112), 361-374.
- 2) 藤武史行・久野勝利 (2009): 有明海 (佐賀県) における養殖ノリの病害の発生. *海洋と生物*, (185), 637-638.
- 3) 日本水産資源保護協会 (1980): 昭和55年度種苗特性分類調査報告書, 39-44.