

II. 壺状菌の生理・生態に関する室内実験

1. 温度変化が壺状菌の生長・成熟に及ぼす影響

前報¹⁾で壺状菌の生長・成熟と温度条件との関係について検討し、水温 15, 20°C が最適温度であることを明らかにした。本実験では、実験条件として異なった 2 種類の塩分条件下で培養中の壺状菌に温度の周期的な変化を与えた場合、一定温度で培養したときに比べ、壺状菌の生長・成熟にいかなる影響が現われるかを検討した。

方法

○実験区分

塩分、水温条件を組合せ、表-2 の 2 実験群と 12 実験区を設定した。各区分における温度変化の与え方については、図-20 に示した。なお、実験は室温をそれぞれ 10°C, 15°C にセットした 2 棟の恒温室を用いて行なった。

○遊走子の作成

使用した病葉は、六角川地先漁場で採取した寄生率の高い葉体を採取後直ちに試験場に持ち帰り、乾燥後冷凍保存した葉体である。この葉体 (5~10 枚) を適宜解凍して恒温室 (室温 15°C) で、Cl 16.5% 前後の殺菌海水に 2~24 時間浸漬して遊走子を放出させた後、ガーゼでろ過し、その上澄液を遊走子液とした。室内実験に使用した遊走子液は全てこの方法によった。壺状菌感染葉体は、この上澄液に供試ノリを 2 時間浸漬して得た (以下感染初期菌体とする)。

○供試ノリ

六角川地先漁場で養殖した壺状菌未寄生の葉長 5~10 cm、品種はナラワササビノリで、53 年 10 月 26 日に冷凍保存した葉体を用いた。

○壺状菌の観察及び測定

遊走子液で感染させた所定枚数のノリ葉体を適宜切断し (約 1 cm²)、100 ml の殺菌海水を入れた滅菌シャーレに投入し、12 時間後から各経過時間ごとに 1 枚ずつノリ葉体を取りあげ WITTMANN の核染色法を用いて染色、検鏡した。菌体の生長については、ノリ葉体に寄生した壺状菌菌体のうち、30 個体について各長径 (μm) を測定し、成熟については、遊走子を放出した細胞数の全菌体数に対する割合 (以下放出細胞率とする) で示した。

表-2 実験区分

実験群	高塩分群 (Cl 16.0%)	低塩分群 (Cl 10.0%)
実験区	1, 2, 3, 4, 5, 6	7, 8, 9, 10, 11, 12

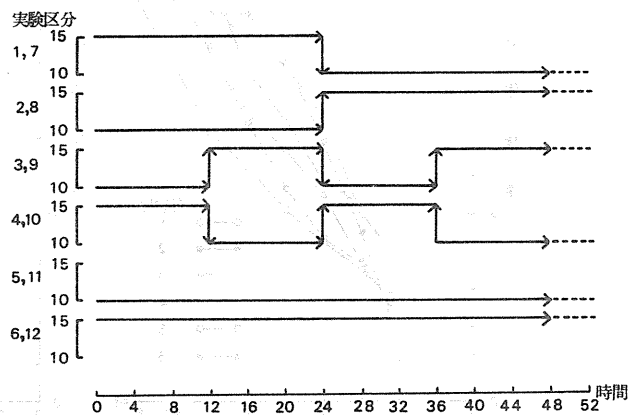


図-20 実験区別水温変化法

結果および考察

壺状菌の生長曲線は通常、感染初期から菌体の直径が3~4 μm になるまでは比較的穏やかに経過し（潜伏期）、それ以後10~10.5 μm までの生長は急激である（対数期）。この大きさに達すると、遊走子のうが成熟し、一部では遊走子の放出が始まるため、以後の生長は再びゆるやかになり11~12 μm ではほぼ横這いとなり、生長が停止する（生長安定期）。このような経過から、菌体の大きさが10 μm に到達するまでの時間をもって各実験群の生長を比較すると、図-21に示したように、壺状菌の生長差は高塩分群（Cl 16.0%）と低塩分群の間ではほとんど認められず、水温条件による差が大きい。

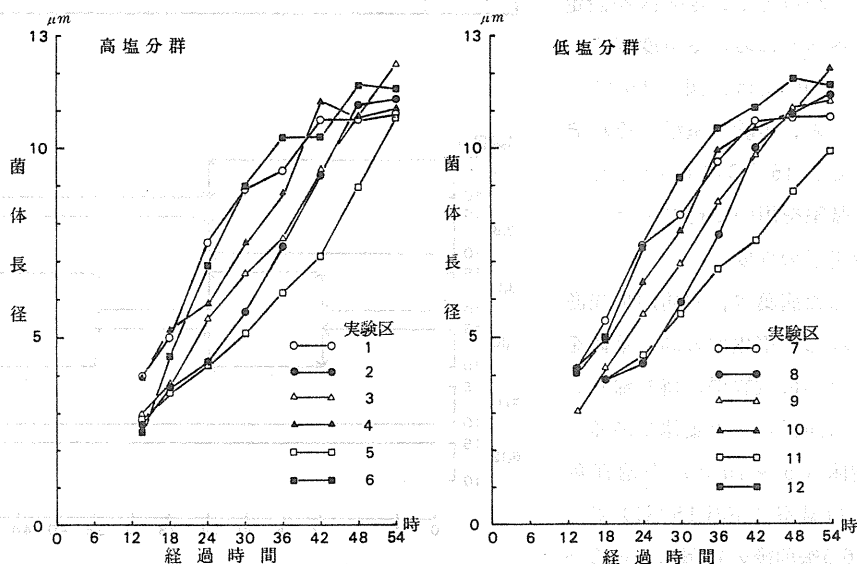


図-21 温度変化が壺状菌の生長に及ぼす影響

生長良好な実験区は6, 12, 即ち, 15°C Const.で培養したもの, 最も悪かったのは, 実験区5, 11, 即ち, 10°C Const.で培養したものであった。また, 温度の周期的な変化を与えた実験区における壺状菌の生長曲線は前記10, 15°Cの中間的な値を示しながら, 温度条件の変化に対して相当敏感に反応し, 高温時(15°C)には生長曲線の傾斜が急になり, 低温時(10°C)には緩やかになる傾向が観察された。

しかし, 全般的な生長の傾向としては感染初期のいわゆる潜伏期における水温条件が高温(15°C)で経過した実験区1, 4, 6, 7, 10, 12では, 低温(10°C)で経過した実験区2, 3, 5, 8, 9, 11に比べ, その後対数期に低温条件を与えられても, かなり良好な生長傾向を示した。

次に表-3に実験開始54時間後における放出細胞率を示した。

放出細胞率から, 壺状菌の成熟度を判断すると, 高塩分群と低塩分群の間で, 若干の差がみ

られ、前者において全般に放出細胞率が高く、成熟度が高いようであった。

表-3 実験群別壺状菌遊走子放出細胞率

実 験 群	高塩分群 (Cl 16 ‰)						低塩分群 (Cl 10 ‰)					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
壺状菌遊走子放出細胞率(%)	37	16	10	61	0	81	15	13	2	24	0	70

次に、水温条件による成熟度の違いを実験区別にみると、前記、壺状菌菌体の生長で示されたと同じく、最も良好な実験区は6、12で、それぞれ放出細胞率81.7%、最も悪かったのは5、11で放出細胞率はいずれも0%であった。そのほかの実験区についても、前2者の中間的な値を示しており、感染初期における水温条件が高いと成熟が早まり、低いと遅くなる傾向は、菌体の生長の場合と同様である。

以上の結果から、壺状菌の生長・成熟に与える影響としては、塩分条件より水温条件によるものがはるかに大きく、特に、感染初期における水温条件は、その後の生長・成熟に大きな影響を与えるものと考えられる。

2. 壺状菌の生長・成熟に及ぼす水温、塩素量、干出、にごりの影響

これまでの実験は壺状菌の生長・成熟に及ぼす要因について“菌体の大きさ”“放出細胞率”という特性で標示して、実験の都度因子を変え単一因子の効果について検討してきた。この特性値に影響を及ぼす要因は数多く考えられ、これらを一つずつ解明するには非常に長い期間を要する。そこで今回は複数の要因を組合せて実験し、分散分析法を用いて、各種要因の効果を判定した。

本実験では要因としては最も基本的な“水温”“塩素量”養殖管理上の“干出”有明海特有の“にごり”の4種類をとりあげ、これらを後述の方法で組合せて、壺状菌の生長を調べた。

実験方法

実験器材としては、海水300 ml入り丸型培養フラスコを使用し、この中に常法により得た感染初期菌体(20枚)を入れ通気した。

表-4 因子と水準

水準 \ 因子	水温℃	塩素量 %	干出(時間)	にごり
1	15	16.0	4回(16時間)	浮泥量 1500 ppm
2	10	10.0	0回(無干出)	O
記号	K	L	M	N

表-4に4種類の因子とその水準を示す。水温は2棟の恒温室を利用して、それぞれ15℃、10℃にセットした。塩素量は16.0%の自浄海水と調整した10.0%の2水準、干出は水準1では実験開始後から48時間後の終了時まで12時間ごとに、1回につき4時間の割合で4回(合計16時間)の干出を与えた。水準2は0回(無干出)。“にごり”は水準1では海水300 ml入った丸型フラスコに0.5gの浮泥を投入して“にごり”を与えた。

4 因子 2 水準の組合せ数は $2^4 = 16$ 通りあるが、L 8 の直交表を利用して 4 因子を無作為に 4 列にわりつけ、表-5 に示す 8 つの実験区を作った。

即ち、実験区 1 のフラスコ内の壺状菌は、記号で表わすと K_1, L_1, M_1, N_1 、即ち水温 15°C 、塩素量 16.0%，干出 4 回（通算 16 時間），“にがり有”の環境下で生長することになる。 $\#2$ では記号で表わすと K_1, L_1, M_2, N_2 、即ち水温 15°C 、塩素量 16.0%，干出 0 回、にがり無となる。以下同様にして表-6 に 8 つの実験区を示す。

これからわかるように、8 つの実験区は、水温、塩素量、干出、にがりの組合せについて、すべて異なる条件が与えられているが、各因子の 2 つの水準はいずれも 4 回ずつ反復され、また各因子の 1 水準（または 2 水準）をもつ、4 つの実験区には他の因子の 1 水準と 2 水準が 2 回ずつ現われている。即ち「直交」の性質が満足されている。

このような環境下で実験された壺状菌入り葉片は 48 時間後にとりあげ、常法により染色して 1 実験区当り菌体 30 個の長径を調べ平均値を用いて統計処理を行った。

表-5

因子わりつけ表

実験区 \ 列	(1)	(2)	(4)	(7)
1	1	1	1	1
2	1	1	2	2
3	1	2	1	2
4	1	2	2	1
5	2	1	1	2
6	2	1	2	1
7	2	2	1	1
8	2	2	2	2
因 子	K	L	M	N

表-6 実験区と因子の組合せ

No.	K	L	M	N	水温	塩素量	干出	にがり
$\#1$	K_1	L_1	M_1	N_1	15°C	16%	4 回	有
$\#2$	K_1	L_1	M_2	N_2	" 15	" 16	0	無
$\#3$	K_1	L_2	M_1	N_2	" 15	" 10	4	無
$\#4$	K_1	L_2	M_2	N_1	" 15	" 10	0	有
$\#5$	K_2	L_1	M_1	N_2	" 10	" 16	4	無
$\#6$	K_2	L_1	M_2	N_1	" 10	" 16	0	有
$\#7$	K_2	L_2	M_1	N_1	" 10	" 10	4	有
$\#8$	K_2	L_2	M_2	N_2	" 10	" 10	0	無

結果および考察

各実験区における結果を表-7 に示す。各因子の効果を推定するためには、各列の水準 1 で得られたデータの 4 つの和と、水準 2 で得られた 4 つの和を求め、次にその両者の差を 4 で割ればこの値が効果となる。例えば、(1)列にわりつけた温度の効果は、水準 1 は $\#1 \sim \#4$ の実験であるから、その和は $9.6 + 11.6 + 9.6 + 11.3 = 42.1$ となり水準 2 の $\#5 \sim \#8$ は $5.7 + 8.3 + 5.1 + 8.5 = 27.6$ となる。この両者の和 $42.1 + 27.6 = 69.7$ は 8 つのデータの計となる。ま

表-7 実験別と菌体の生長

(単位: μm)

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
	9.9	12.4	7.9	10.8	6.2	7.9	5.0	10.4
	8.3	10.8	9.9	10.4	6.2	10.4	6.2	6.6
	9.9	10.4	6.2	11.6	6.6	6.2	5.0	9.5
	9.9	11.6	9.9	11.6	5.0	9.9	4.6	10.4
	9.9	10.8	12.0	12.8	5.8	8.3	5.8	10.4
	10.4	10.8	9.9	10.8	6.2	10.4	5.0	6.6
	9.5	12.4	8.7	10.8	5.8	7.9	4.1	9.9
	10.4	12.8	9.5	12.4	4.6	8.3	4.6	8.7
	10.4	12.4	10.4	11.6	4.1	7.9	4.6	8.3
	10.8	12.8	9.9	10.8	6.2	8.3	5.8	8.3
	9.9	12.0	10.4	12.0	6.2	6.6	5.8	9.9
	10.4	10.8	10.4	12.0	6.2	6.2	5.4	9.5
	8.7	12.0	7.9	10.8	5.8	7.9	4.6	7.9
	10.8	10.8	8.3	12.4	5.0	8.3	5.4	6.2
	10.4	12.4	10.4	10.4	5.8	9.9	5.0	7.9
	8.3	11.2	7.9	9.9	6.2	8.3	4.1	9.5
	10.4	10.4	9.5	10.4	5.0	9.9	4.6	10.4
	11.2	10.4	10.4	12.8	6.2	8.7	4.1	8.7
	10.4	12.0	9.9	10.4	6.2	8.3	5.8	10.4
	6.2	11.2	10.4	12.0	4.1	8.3	5.8	8.7
	9.9	11.6	8.7	10.4	4.6	8.7	5.4	9.9
	7.9	13.7	9.9	10.8	6.2	10.4	4.1	6.2
	9.9	10.4	10.8	10.4	4.1	6.6	5.0	8.3
	7.9	11.6	10.8	10.8	6.2	8.7	5.8	8.3
	10.4	12.0	10.8	12.4	6.2	8.3	4.1	7.0
	8.3	11.2	7.5	12.0	5.4	8.7	5.4	7.0
	10.4	10.4	7.9	10.8	6.2	8.3	5.0	8.3
	9.9	12.4	10.4	10.4	6.2	6.2	5.8	6.2
	10.4	12.8	10.4	10.4	6.2	7.9	4.1	8.3
	7.9	12.0	10.8	14.1	5.8	8.3	5.8	8.3
計	289.0	348.5	287.8	339.2	170.5	250.0	151.8	256.0
平均	9.63	11.62	9.59	11.31	5.68	8.33	5.06	8.53

た両者の差 $42.1 - 27.6 = 14.5$ を 4 で割れば $14.5/4 = 3.63$ となり、この値が温度の効果の推定値となる。以下同様にして求めた値が表-8 左側下端に示している。この表の中央部にはこのような計算をイエーツの算法で求めたものである。

即ち、1°列の上半分は左のデータの数字を2つずつ加えた値であり、下半分は相続く2つの数字の上から下を引いた値である。2°列は1°列に同じ操作を繰り返す。データの数が $8 = 2^3$ であるのでこの操作を3回繰り返し3°列を得る。この3°列に得られた数字(但し一番上は合

表 一 八 実 験 の 解 析

No. 1	列							長 綫 の平均	イ エ ー ツ の 算 法			効 果 $3^{\circ}/4$	分 散 $(3^{\circ})^2/8$	要 因 (CF)
	1	2	3	4	5	6	7		1°	2°	3°			
1	1	1	1	1	1	1	1	9.6	21.2	4.21	6.97	8.71	607.26	(CF)
2	1	1	1	2	2	2	2	11.6	20.9	27.6	-9.7	-2.43	11.76	C M
3	1	2	2	1	1	2	2	9.6	14.0	-3.7	0.7	0.18	0.06	B L
4	1	2	2	2	2	1	1	11.3	13.6	-6.0	0.5	0.13	0.03	BC e
5	2	1	2	1	2	1	2	5.7	-2.0	0.3	1.45	3.63	2.628	A K
6	2	1	2	2	1	2	1	8.3	-1.7	0.4	2.3	0.56	0.66	AC e
7	2	2	1	1	2	2	1	5.1	-2.6	-0.3	-0.1	0.03	0.00	AB e
8	2	2	1	2	1	1	2	8.5	-3.4	0.8	-1.1	0.28	0.15	ABC N
成 分 記 号	A	B	A B	C	A C	B C	A B C	6.97	$9.6 \times 2^3 \leftrightarrow 7.6.8$			6.4620		
因 子	K	L	M	M	N	N	N							
1 の 和	42.1	35.2	34.8	30.0	36.0	35.1	34.3							
2 の 和	27.6	34.5	34.9	39.7	33.7	34.6	35.4							
和 1+2	69.7	69.7	69.7	69.7	69.7	69.7	69.7							
差 1-2	14.5	0.7	-0.1	-9.7	2.3	0.5	-1.1							

注 1) 平均: $6.97/8 = 8.71$ (こ っ だ け 8 で 割 る)

2) 補正項: $CF = (6.97)^2/8 = 607.26$

計値となるため除く)は表の下に差 1-2 として求めたものと順序は違うが、全体としては一致する。各行が成分記号のどれに対応しているか、これから読みとれる。それ以外は誤差を表わすと考えられる。

分散分析

3°列の数字から対応する分散が、その数字を2乗して8で割ることによって求められる。このうち3列の分散は加え、合せて表-9の分散分析表に記入した。この実験では各実験区ごとに30個のデータが得られているから、合計240個のデータについて8実験区を群とした一元分類と考えると、表-10に示すように誤差分散77.5、自由度8(30-1)=232が得られる。この誤差は各実験区の壺状菌30個の分散として現われ、その個体差は $77.5 \div 30 = 2.58$ として表わされるのでこの値を記入した。個体差の分散がL8実験での誤差のそれより大きいので、4因子に対するF検定は「個体差」に対して行なった。

表-9 分散分析表

変動因	自由度	平方和	平均平方	F _o
全体	7	38.94		
水温 K	1	26.28		10.1
塩素量 L	1	0.06		-
干出 M	1	11.76		4.5
濁度 N	1	0.15		-
誤差 e	3	0.69	0.29	
個体差	(232)		2.58	

表-10 一元分類による分散分析表

変動因	自由度 f	平方和 s	平均平方 v	F _o
全体 T	240-1 = 239	ST = 1449.3		
実験の種類 A	8-1 = 7	SA = 19433.6	VA 2776.2	35.8 > 2.64
誤差 e	8(30-1) = 232	Se = 17984.3	Ve 77.5	

$$F_o = \frac{V_A}{V_e} \quad \text{F表・自由度 (7.232)}$$

その結果、F分布表から水温は1%、干出は5%の危険率で有意となった。温度の効果は表-8から $3.63 \mu m$ であることが知られるから、この95%の信頼区間をつくと、

$3.63 \mu m \pm t(232, 0.05) \sqrt{2.58/4} \div 3.63 \mu m \pm 1.58 \mu m$ となり、水温の水準1(15°C)は水準2(10°C)より少なくとも $2.05 \mu m$ 、多ければ $5.21 \mu m$ も壺状菌の生長を増加させるといえる。同様に干出の効果は-2.43で、その95%信頼区間は、 $-2.43 \mu m \pm t(232, 0.05) \sqrt{2.58/4} \div -2.43 \mu m \pm 1.58 \mu m$ となる。この数字の係数はマイナスであるから、壺状菌の生長には逆効果となって作用すると解釈でき、抑制効果と考えられる。即ち干出の水準1(4回16時間)は水準2(無干出)より少なくとも $0.85 \mu m$ 、多ければ $4.01 \mu m$ も壺状菌の生長を抑制させるといえる。

塩素量効果と“にごり”の効果については誤差範囲におさまり有意差は認められなかった。

以上のようにこの実験は壺状菌の生長・成熟に及ぼすと思われる複数の因子を組合せて、その結果を統計的に処理して要因効果の割り出しを試みたものである。その結果、水温と干出の要因が高い有意性を示し、塩素量、“にごり”の効果は現われなかった。水温・塩素量については前報でくわしく検討しており、本実験結果と一致するようである。干出、にごりに関する実験は今回が初めてであるが、今後の実験でこの結果が正しいと判断されたら、前述の統計的手法を取り入れて多くの情報を得るようにしたい。

3. “流れ”が壺状菌の感染に与える影響

壺状菌の感染が“流れ”によって大きく支配されることを前報で報告したが、本実験では壺状菌の感染と流速との関係、また、各種の流速条件下におけるノリの葉長や芽付数と感染との関係等について検討した。

方法

図-22に示す水槽に海水80ℓを充たし同じくAに壺状菌の寄生がみられる病葉を吊して、遊走子を放出させ、Bに芽付の異なる供試網糸5本を10cm間隔で取りつけ水車の回転数を変えて、0、10、15、20、25cm/秒の5段階の流速を与えた。供試網糸はそれぞれの流速区分ごとに48時間培養後に取り上げ、網糸1本から20枚のノリ葉体を取りはずし、葉体ごとに、単位面積当りの壺状菌感染細胞数および感染部位について調べた。感染部位については葉体を根元部、葉体中央部、葉先部に3等分し、部位別に寄生数を求めた。

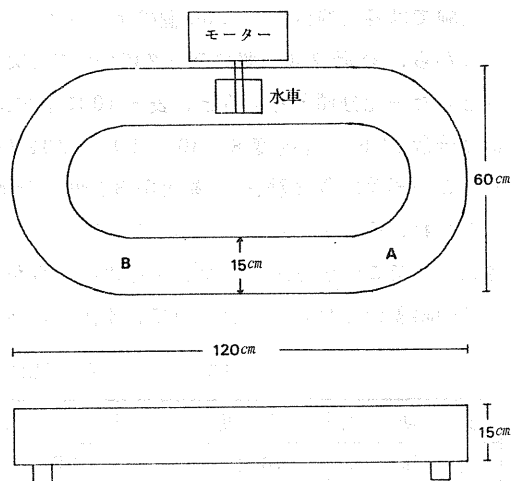


図-22 流速実験用水槽

なお、各流速区分の実験日は異なり、しかも水槽内の一定濃度の遊走子液を調整できなかったため、それぞれの区分について、実験開始時と終了時に1ℓの海水を汲んで、壺状菌未感染ノリ10枚を入れて15℃で48時間培養後、壺状菌の寄生密度を調べ、各区分間の遊走子液濃度を一定になるよう補正した。

結果および考察

流速と壺状菌寄生数の関係については図-23に示した。なお、この実験は葉長3cm以上の成葉について行なった。壺状菌寄生数は流速0cm/秒の静止水で最も多く、148.9個/cm²に達した。以下、流速が大きくなるにしたがい寄生数は減少し、流速10cmでは流速0cm/秒（静止水）の24.8%、同じく15cmでは12.6%、20cmでは4.6%となり、25cmでは0.1%以下と極端に減少し、前報¹⁾における漁場実験の結果と類似の傾向が得られている。

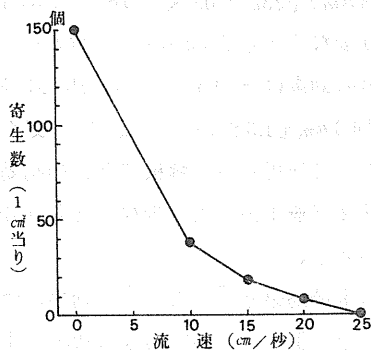


図-23 流速と寄生数の関係

続いて図-24に示したノリ芽付数と壺状菌寄生数との関係についてみると、幼葉（葉長1~3cm）、成葉（葉長3cm以上）ともに流速が早くなるにしたがって、寄生数が減少するのは前記の結果と同じであるが、同じ流速条件下でも芽付は厚くなるにしたがって寄生数が増加する。しかし流速25cmになると、厚付きでも寄生数の

増加はわずかである。

また、流速 10 cm の低流速条件下において、成葉ではわずかの芽付増で、壺状菌寄生数が急激に増加する現象がみられているが、この原因は明らかでない。これ以外の条件下では成葉と幼葉の間で寄生数に大きな差はみられない。

壺状菌のノリ葉体における寄生状況を漁場で観察すると、特定の部位に集中している場合が多い。その原因については明らかでないが、今回各流速条件下における、壺状菌の寄生部位の特徴について観察を行なったので、その結果を図-25 に示した。

図-25 より、壺状菌の寄生は、流速条件によっては特定の部位に集中してくるのが観測され、流速 0 cm (静止水) では葉先部 32 %、葉体中央部 40 %、根元部 28 % とほぼ均等な分布がみられたが、流速 10 cm では、葉先部への集中が特徴的であった。

これに対して 15 cm 以上の流速条件下では、逆に、根元部への集中がみられ、例えば、流速 20 cm では葉先部 6 %、葉体中央部 17 %、根元部 78 % となる。

即ち、漁場における養殖ノリで壺状菌が特定部位 (主として葉先) に集中する原因としては、流速がかなり関与していることが考えられる。

4. ノリの感受性に関する実験

品種・産地・及び冷凍入庫年度の異なるノリを用いて壺状菌に対する感受性について検討した。

方 法

○供試ノリ

記号	品 種	養 殖 経 過
A. 52	ナラワスサビノリ	有明海で養殖 52年 10月 26日入庫
A. 53	"	" 53年 10月 26日入庫

A-53と同種の網を10月31日まで有明海漁場で養殖、11月1日に唐津湾に移殖、浮流し養殖

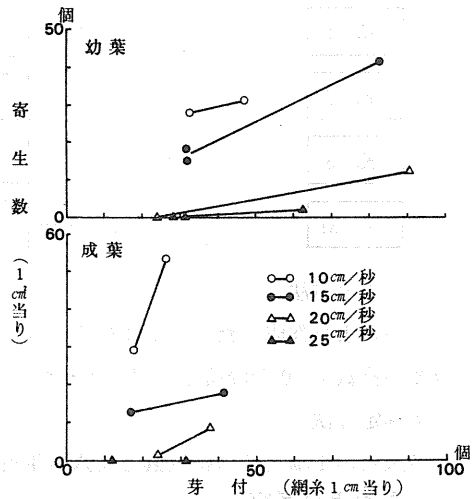


図-24 各種流速条件下におけるノリ芽付と寄生数との関係

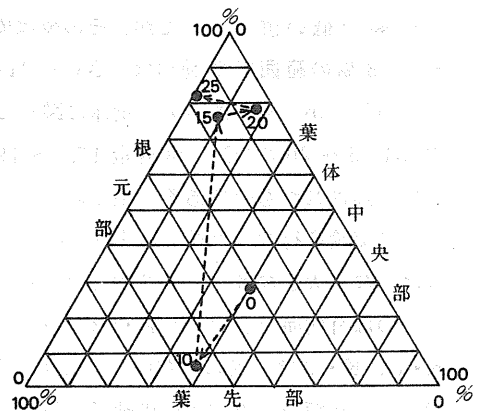


図-25 流速とノリ葉体における寄生部位との関係

K. 1	ナラワスサビノリ	唐津湾で養殖	11月8日	資料採取
K. 2	"	"	11月15日	"
K. 3	"	"	12月1日	"
A. M	" ミドリ芽	有明海で養殖	53年10月26日	入庫

◦感染の方法

常法により作成した遊走子液を5ℓ容ガラスバットに入れ、上記の試料を約1cm²に切断し所要の枚数を30分浸漬して感染させた。

◦判定方法

各試料の1cm²当りの寄生数と菌体の生長、成熟を調べ、感受性について検討した。

結果および考察

有明海における採苗から冷凍入庫までの水温は19.5～24.0℃で推移した。塩素量は採苗時の降雨のため一時14.7%と低い値を示したが、その後は安定して16.4～16.8%の範囲で変動中は小さい。11月1日に唐津湾に移植したが、移植後のノリ葉体は図-26に示すとおり水温16.5～20.6℃、塩素量17.7～19.0%の環境下で養殖されたものである。上記の6種類の試料を用いて感染実験を行なった結果、表-11に示すように、寄生数はかなり大きなばらつきを示した。特に寄生数の多かったのは有明海で養殖したA・52、A・53と唐津湾のK・1、K・2で、逆に少ないのはミドリ芽(M)とK・3である。両海域の寄生数を単純に比較すると有明海の53年度養殖ノリ(A・53)はK・1に対して約1/2、同じくK・2の約1/3、同じくK・3は逆に約60倍の割合である。唐津湾内でも、採取月日によって大きな差が現われた。また、品種間の差をみるとA・53はミドリ芽の約13倍、冷凍期間の差は52年度ノリに対し約2倍の寄生数である。次に、菌体の生長・成熟を図-27～30に示す。

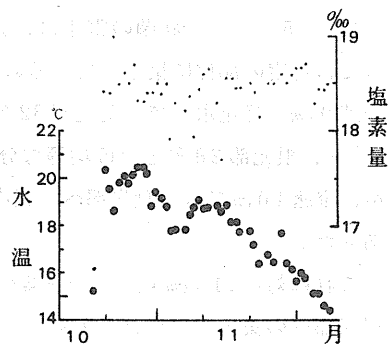


図-26 唐津湾における水温・塩素量変動

表-11 前歴別の壺状菌寄生数

有明海			唐津湾		
A・52	A・53	A・M	K・1	K・2	K・3
577	1,297	96	2,560	3,700	22

す。有明海の53年度ノリは24時間後5.9μm、36時間後9.7μm、42時間後には10.8μmの遊走子放出サイズに達し、48時間後には遊走子を放出し、60時間後には遊走子放出細胞率は90%以上になった。一方唐津で養殖されたノリをみるとK・1は24時間後5.2μm、36時間後7.2μm、48時間後9.2μmと生長し、遊走子放出開始も54時間後に始めて66時間後には遊走子放出細胞の割合は84%になったが、A・53に比べると生長・成熟ともやや遅れた。K・2をみると36時間後まではK・1とはほぼ同等の生長で、42時間後に9.5μm、遊走子放出は48時間

後にみられ、60時間後には放出細胞率は80%に達した。これはA・53とほとんど差はない。

K・3をみると、寄生数が非常に少なく、各観察時間ごとの試料数が30個体に満たないものがかなりあったので確かなことは明らかでないが、A・53に比べると生長・成熟とも非常に遅れるようである。即ち、菌体の生長は24時間後には遊走子の放出が認められ、その割合は14%、以後84時間後に38%、96時間後に46%、120時間後によく90%に達した。

次に、品種との関係を見るとミドリ芽(M)に感染した壺状菌菌体の生長はA・53に比べると、約6時間遅れて生長し54時間後に遊走子の放出がみられた。成熟も時間的にみると12~18時間遅れて75時間後に放出細胞率が90%台になった。

また、冷凍期間との関係をA・52でみるとA・53とは生長・成熟はほぼ同等で差異はみられない。

以上のように同一品種を用いて環境の異なる両海域で養殖し、そのノリを使って感染実験をした結果、寄生数においても、生長・成熟においても大巾な差違がみられた。また、同一海域においても試料の採取月日によって結果が異った。寄生数とその後の生長・成熟の関係をみると、寄生数が多くみられた葉体、換言すれば寄生しやすい葉体内の菌体の生長・成熟は早くすすみ、逆に寄生が困難な葉体内の菌体は生長・成熟も遅れるようである。また、品種の違いによっても寄生数・菌体の生長・成熟に差があり、有明海で養殖したナラワスサビノリ

とミドリ芽と比べるとナラワスサビノリは寄生数が多く、その後の成長・成熟は比較的早く、逆にミドリ芽は寄生数が少なく、その後の生長・成熟はやや遅れた。冷凍期間の差による違いは本実験の期間内では大差なく、52年度ノリの寄生数は53年度ノリの寄生数より、約1/2と少ないが生長・成熟もまったく同じ傾向を示す。

このように、同一品種であっても養殖期の違いによって異った結果を得たが、これが両海域の環境的な違いによるものか、それとも使用した葉体の老若によるものか、今後詳細に検討し

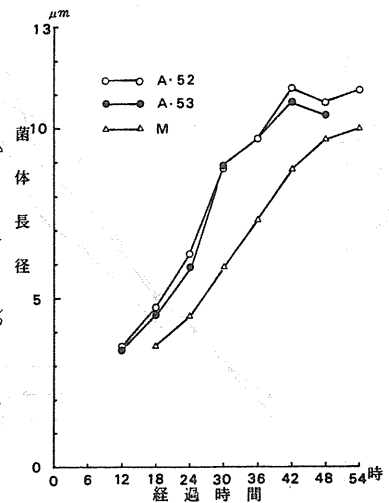


図-27 壺状菌の生長 - 有明海産ノリ

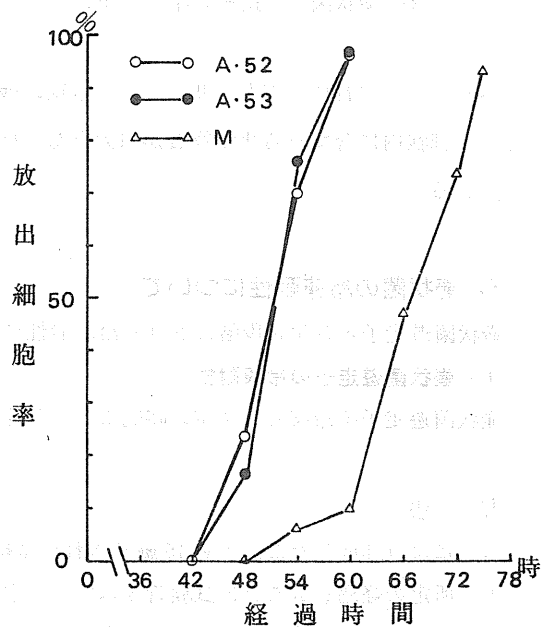


図-28 壺状菌の成熟 - 有明海産ノリ

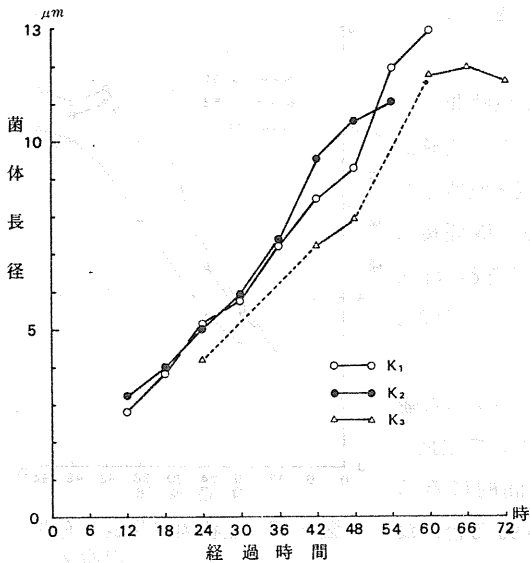


図-29 壺状菌の生長—唐津湾移殖ノリ

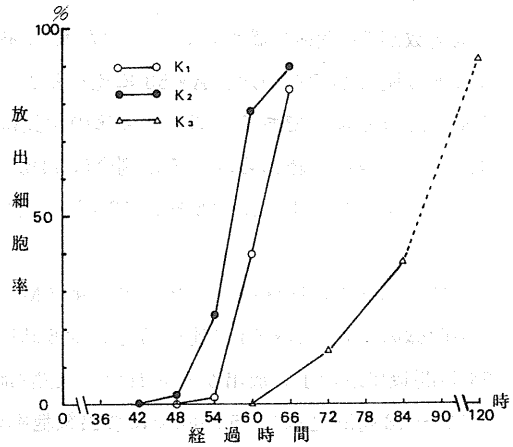


図-30 壺状菌の成熟—唐津湾移殖ノリ

てみたい。いずれにしてもノリには、細胞壁の機械的な強さである侵入抵抗性（寄生数の相違）と細胞内に含まれる化学物質が原因となる拡大抵抗性（生長・成熟の相違）があるように思われる。

5. 壺状菌の冷凍耐性について

壺状菌遊走子と各生長段階における冷凍耐性について検討した。

1) 壺状菌遊走子の冷凍耐性

壺状菌遊走子を冷凍し、所定の時間ごとに解凍し、感染能力の変化について調べた。

方 法

常法により作成した遊走子液 15 ml を入れた試験管 30 本を直ちに冷凍保存（-20℃）し、その後、所定の経過日数ごとに試験管 3 本ずつを取り出し、恒温室（15℃）で解凍後、それぞれの試験管にノリ葉体（約 1 cm²）1 枚合計 3 枚を投入し、42 時間後に染色検鏡し、単位面積当りの壺状菌寄生数をもって感染能力を表示した。

結果および考察

経過日数による寄生数の変化を表-12 に示す。

試験開始時の壺状菌寄生数を 100% として経過日数ごとの生存率をみると、1 日後には 1.3% に急減するが、その後 10 日目までは横這い状態となり、25 日目に 0.0% に減少し、30 日目には寄生は認められなかった。

表-12 冷凍遊走子の経過日数による寄生数の変化

経過日数(日)	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25	30
寄生数(個/cm ²)	63,200	810	263	30	264	124	156	29	0	2	0
生存率(%)	100	1.3	0.4	0.0	0.4	0.2	0.2	0.0	0	0.0	0

以上のように、冷凍に対する壺状菌遊走子の生存率は低いが、25日目までは認められた。

一方、非冷凍遊走子の感染能力は前報¹⁾によると、5～20℃の範囲では水温が低くなるほど長時間保持できるという結果が得られ、5℃では9日間、15℃では4日間まで感染能力が認められている。

今回の試験では後の項で述べるとおり、5℃では10日、15℃では6日まで認められ、52年度に比べて5℃では1日、15℃では2日間長い感染能力を維持するという結果が得られた。このことは年度により壺状菌遊走子の感染能力に違いがあるものか、また寄生するノリ葉体の感受性の違いによるものかは明らかでない。

いずれにしても冷凍遊走子は非冷凍の遊走子に比べ、感染能力は長く保持できるようである。ただし、後述するように、顆粒状菌体やノリ細胞内に感染した直後の菌体が、強い冷凍耐性を有することに比べると、放出後の遊走子の冷凍耐性は比較的弱いと言える。

2) 壺状菌の各生長段階における冷凍耐性

壺状菌の各生長段階における冷凍耐性について冷凍保存2ヶ月後、1年2ヶ月後、2年2ヶ月後における状況について観察した。

方 法

54年2月に常法により作成した遊走子液にノリ葉体(約1cm²)45枚を約2時間浸漬して感染させ、直ちに菌体に生長差をつけるために15枚宛、3区分し、対照を除く各区分について下記の処理を行ない冷凍入庫(-20℃)した。

A: 感染初期(平均菌体径3.3μm)

B: 生長期(15℃で24時間培養, 平均菌体径5.8μm)

C: 成熟期(15℃で48時間培養, 平均菌体径10.9μm)

このほか対照をおき各実験ごとに上記と同様の方法で感染させた菌体の生長・成熟について観察した。

A～C区の菌体は入庫して2ヶ月後の54年4月中旬、1年2ヶ月後の55年4月中旬、2年2ヶ月後の56年4月中旬に冷凍庫から取り出し、解凍後直ちに恒温室内に移し、15℃、16.5‰の海水で培養し、各区分について生長・成熟の状況を観察した。

結果および考察

(1) 2ヶ月間冷凍後の耐性

2ヶ月間冷凍後の壺状菌菌体の生長については図-31に、成熟については図-32に示す。

まず、感染初期に冷凍した壺状菌の生長を対照と比較すると、ほぼ類似の生長曲線が得られた。つぎに生長期に冷凍した壺状菌菌体の生長をみると、解凍してしばらくは、生長が停止した状態で経過し、解凍後 12 時間目から生長しはじめた。成熟期に冷凍した菌体はすでに遊走子のうが形成された菌体であり、解凍後わずかな生長が認められた。

成熟についてみると、感染初期に冷凍した菌体が遊走子を放出したが、対照と比較すると、遊走子放出細胞の増加は 6 時間のずれで類似の傾向が認められる。生長期に冷凍した菌体は、遊走子の放出も対照と比較して 12 時間遅れて始まった。成熟期に冷凍した菌体は、解凍直後から順調に成熟は進み 60 時間後には 80% に達した。

以上の結果から、壺状菌の生育段階別の冷凍耐性をみると、冷凍した菌体は、非冷凍の対照に比べ、生長・成熟とも若干の遅れがみられ、特にノリ細胞内に侵入直後の菌体や成熟した菌体に比べ生長期に冷凍入庫したものが、冷凍の影響をやや強く受けるようである。

(2) 1 年 2 ヶ月間冷凍後の耐性

1 年 2 ヶ月間冷凍後の壺状菌菌体の生長については図-33、成熟については図-34 に示す。菌体の生長についてみると感染初期菌体は対照とはほぼ類似した生長を示している。つぎに生長期に冷凍した菌体は解凍培養開始後 6 時間後まで生長を停止し、12 時間後から生長をはじめた。その後の生長曲線はほぼ対照と類似した傾向を示している。成熟期に冷凍した菌体は多数の顆粒を有する遊走子嚢に発育しているが、解凍後、わずかに生長を示している。

成熟についてみると、感染初期の菌体は対照と比較して 6 時間遅れて遊走子の放出がはじまったが、66 時間後には放出細胞率は対照とほぼ同じ 88% であった。

生長期に冷凍した菌体は対照と比較して 12 時間遅れて放出がはじまり、66 時間後でも放出細胞率は 63% であった。成熟期に冷凍した菌体はすでに放出がはじまっており 66 時間後には 78% に達した。

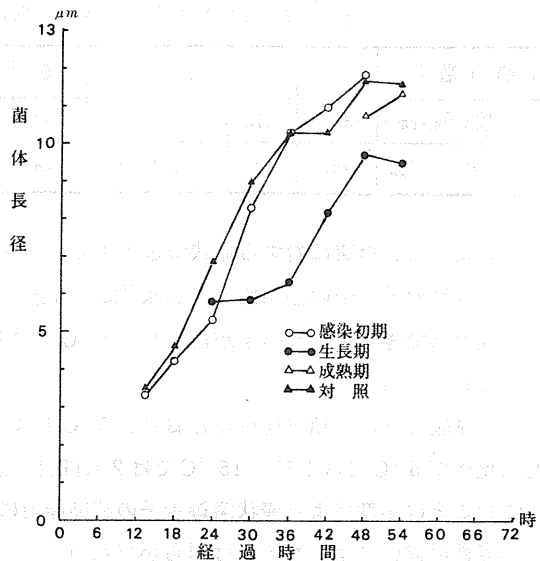


図-31 2 ヶ月間の冷凍保存が壺状菌の生長に及ぼす影響

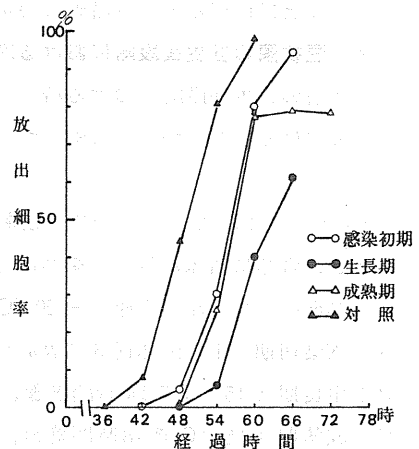


図-32 2 ヶ月間の冷凍保存が壺状菌の成熟に及ぼす影響

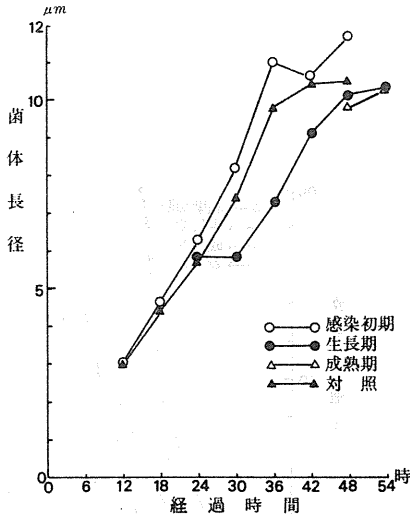


図-33 1年2ヶ月間の冷凍保存が壺状菌の生長に及ぼす影響

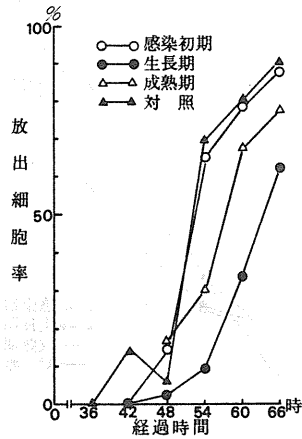


図-34 1年2ヶ月間の冷凍保存が壺状菌の成熟に及ぼす影響

以上の結果から、感染初期の菌体は生長については対照と類似した傾向がみられた。しかし成熟については遊走子放出開始時は対照に比べて6時間の遅れがみられた。しかしその後、放出細胞率は対照と類似した傾向が認められ、2ヶ月間冷凍後の菌体の生長とは必ずしも一致していないが、この理由については明らかでない。また生長期菌体は冷凍の影響を強く受けるようである。

(3) 2年2ヶ月間冷凍後の耐性

2年2ヶ月間冷凍後の壺状菌菌体の生長については、図-35、成熟については図-36に示す。菌体の生長についてみると、対照に比べ、冷凍菌体の生長はいずれも悪く、感染初期菌体は遊走子を放出するまでに約6時間の遅れがみられた。

つぎに生長期菌体は解凍後6時間後までの生長は遅いが、その後は対照とほぼ類似した生長傾向を示した。成熟期までは約12時間の遅れがみられている。成熟期菌体は多数の顆粒を有する遊走子嚢に発育しており、解凍後わずかに生長が認められた。

成熟についてみると、感染初期菌体と比べて6時間遅れて54時間後から放出がはじまったが60時間後には放出細胞率は対照と同様に100%に達した。生長期では対照と比べて12時間遅れて60時間後から放出がはじまり72時間後にはほぼ90%に達した。成熟期では54時間後から放出がはじまったが66時間後で55%、72時間後で66%とその後の放出細胞率は低くなっている。

以上の結果から、1年2ヶ月、2年2ヶ月間冷凍入庫した壺状菌菌体の各生長段階別における冷凍耐性についてみると、感染初期菌体の生長は対照とほぼ同様な成長曲線を示している。また成熟も対照に比べ6時間遅れて遊走子の放出がはじまるが、その後の放出細胞率は対照と類似した傾向が認められ、冷凍の影響は少なかった。

これに対して、生長・成熟期に冷凍した菌体については冷凍の影響が強くあらわれており、特に生長期に冷凍した菌体は解凍後6時間目までは生長が停止する特異な傾向を示した。

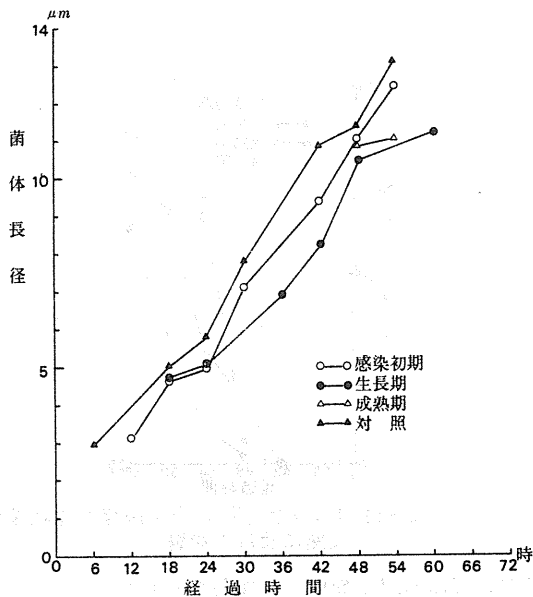


図-35 2年2ヶ月間の冷凍保存が壺状菌の生長に及ぼす影響

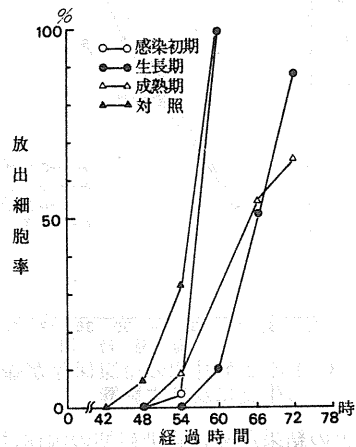


図-36 2年2ヶ月間の冷凍保存が壺状菌の成熟に及ぼす影響

成熟期に冷凍した菌体は解凍後直ちに遊走子を放出するが、2年2ヶ月も長期冷凍すると、その後の放出細胞率は対照に比べかなり低くなっている。このことは成熟期に冷凍した菌体は遊走子嚢に発育しており、長期間の冷凍により遊走子が障害をうけたとも考えられる。いずれにしても各成長段階における菌体は2年2ヶ月間冷凍後にも感染能力を維持しており、その耐凍性は強く、宿主細胞が枯死しない限り、壺状菌は死滅しないものと思われる。

6. 壺状菌の乾燥耐性

乾燥方法の違いによる遊走子と感染初期菌体の乾燥耐性について検討した。

1) 遊走子の乾燥耐性

方法

○乾燥区分

陰干

太陽直射

間接照射：室外で近紫外線除去フィルム^{*}（ハイエスビニール、日本カーバイト工業KK）で被覆する。

^{*}間接照射における紫外線照度は太陽直射に比べて約13%減少する。

なお、実験温度は、陰干 17℃、太陽直射 19℃、間接照射 22℃であった。

○遊走子の乾燥方法

常法により作成した遊走子液を、真空ポンプを使用してメンブランフィルターで濾過し、遊走子付着面を表にして各乾燥区分ごとに1, 2, 3, 4, 5, 6時間乾燥させた。

$$\text{乾燥度 (\%)} = \frac{\text{乾燥前湿重量} - \text{乾燥後湿重量}}{\text{乾燥前湿重量}} \times 100$$

○遊走子の確認

所定の時間乾燥させたメンブランフィルターの遊走子付着面に、ノリ葉体（約1cm²）を10枚張り付け42時間後に葉面に寄生する壺状菌の有無を確認した。なお、ノリ葉体に寄生する壺状菌を確認するまでの間は、テルモシャーレ（90φ×20mm）上蓋の内側に、メンブランフィルターの裏面を張りつけ、ノリ葉体が乾燥しないようにシャーレに少量の海水を入れ、テープで密封した。

結 果

乾燥方法の違いによる遊走子の乾燥耐性については表-13に示す。陰干は太陽直射・間接照射に比べて多数の壺状菌が検出された。

表-13 乾燥方法別遊走子の乾燥耐性

乾燥時間	乾燥方法	陰 干		太 陽 直 射		間 接 照 射	
	項目	乾燥度	遊走子の感染	乾燥度	遊走子の感染	乾燥度	遊走子の感染
1		65.8%	+++	67.9	+	65.4	+
2		66.2	+++	66.1	+	66.4	+
3		66.0	+++	67.1	+	66.9	+
4		65.2	+++	65.9	-	67.7	+
5		66.0	+++	66.2	-	67.1	+
6		67.7	+++	66.8	-	67.0	+

感染数：-全く認められない，+1～100個/cm²，++101～500個/cm²，+++501個/cm²以上
 太陽直射は乾燥時間が1～3時間までは壺状菌の寄生が認められたが、それ以上の時間になると検出されなくなった。これに対して、間接照射は1～6時間までは壺状菌の寄生が認められ、その間の寄生数の変化はほとんどみられなかった。このように太陽直射と間接照射で遊走子の生残に違いがみられるのは、ハイエスピニールの使用によって、近紫外線をさえぎられ、殺菌効果が減少するものと思われる。

なお、紫外線の壺状菌に及ぼす影響については後述する防除対策試験で検討した。

2) 感染初期菌体の乾燥耐性

方 法

常法により作製した遊走子液に1時間と2時間浸漬させたノリ葉体（葉長約10cm）を、室内で1～6時間扇風機により乾燥させ、それぞれ1時間ごとにノリ葉体を1枚ずつ海水に戻し、恒温室（15℃）で42時間培養後、壺状菌の有無を確認した。なお、実験中の室温は15℃、

湿度は 58 %であった。

結 果

感染初期菌体の乾燥耐性については表 14 に示す。1 時間浸漬のものは、乾燥時間が 1 ~ 6 時間の範囲では、壺状菌の乾燥耐性には顕著な違いは認められなかった。また、2 時間浸漬のものも同様な傾向がみられた。乾燥時間が 24 時間になると、1 時間浸漬のもの、2 時間浸漬のものも、壺状菌の寄生は認められず、死滅したものと思われる。

表-14 感染初期菌体の乾燥耐性

乾燥方法 項目	1 時間感染		2 時間感染	
	乾燥度	菌体の寄生	乾燥度	菌体の寄生
1	61.5%	+	73.1%	+
2	73.9	+	81.5	+
3	79.7	+		
4	80.0	+	84.6	+
6	84.0	+	79.1	+
24	85.2	-	79.5	-

7. 産地の異なる壺状菌の生態

佐賀県有明海と宮城県松島湾の養殖ノリに寄生する壺状菌の生態について比較検討した。

1) 壺状菌遊走子の感染能

方 法

◦ 供試壺状菌

佐賀県有明海産：55 年 11 月中旬六角川尻漁場で採取。

宮城県松島湾産：55 年 11 月上旬に矢板漁場で採取。

なお、供試病葉は少量であり、多量に遊走子液を作成することが困難であったので、有明海産ノリ葉体に再感染させたものを母藻として使用した。

◦ 温度区分

5, 15 °C の 2 区分

◦ 供試ノリ

壺状菌非感染の葉長 3 ~ 5 cm のナラワスサビノリ。

◦ 感染能の確認

常法により作成した両産地の遊走子液 15 ml を入れた試験管 33 本ずつを、5, 15 °C に設定した恒温室に入れ、実験開始直後から 1 日ごとに 11 日間にわたり試験管 3 本ずつにノリ葉体各 1 枚を投入し、5 °C では 48 時間、15 °C では 24 時間後に染色検鏡し、単位面積当りの壺状菌数を表示した。

結果および考察

両産地の試験開始時の壺状寄生数を 100 % として、経過日数による寄生数の変化を図-37 に示した。

水温 5 °C 区では有明海産壺状菌遊走子は 1 日目に 50 % の値を示すが、3 日目には 1.7 % に急減し、その後 8 日目までは横這い状態となり、11 日目には認められなかった。

これに対して、松島湾産遊走子は 1 日目から開始時の 0.6 % に急減し、7 日目には認められなかった。

つぎに水温 15 °C 区では有明海産は 1 日目
に 13.6 %，2 日目に 13.7 % に減少し，3 日目
には 0.2 % となり，7 日目には認められな
かった。松島湾産は 1 日目に 0.3 % に急減し，
4 日目には認められなかった。

以上のように水温 5 °C，15 °C の両区とも
に壺状菌遊走子の感染能力は有明海産が松島
湾産に比べて長く，5 °C 区では 4 日，15 °C
区では 3 日間長く保持できるという結果が得
られた。

2) 壺状菌の生長・成熟

方 法

◦ 供試壺状菌

前項と同じ

◦ 温度区分

前項と同じ

◦ 供試ノリ

前項と同じ

◦ 壺状菌の観察

常法により作成した両産地の遊走子液にノリ葉体（約 1 cm²）各 80 枚を約 1 時間浸漬して感染
させ、直ちに 5，15 °C の恒温室内の殺菌海水を入れたシャーレに投入し，5 °C では 24 時間，
15 °C では 6 時間後からノリ葉体を 3 枚ずつとりあげ常法により染色検鏡した。

結果および考察

壺状菌菌体の生長については図-38，成熟については図-39 に示す。

菌体の生長についてみると，15 °C では有明海産壺状菌は 24 時間目に 5.8 μm，松島湾産は
5.5 μm，48 時間目にはそれぞれ 11.4 μm，10.8 μm と若干の差はみられるもののほぼ類似した生長曲
線を示した。また，5 °C 区でも有明海産壺状菌は 72 時間目に 9.0 μm，松島湾産は 7.8 μm，
96 時間目にはそれぞれ 11.9 μm，11.0 μm と有明海産壺状菌が松島湾産に比べて生長がやや
速い傾向がみられている。

つぎに成熟についてみると 15 °C 区では有明海産は 48 時間目から遊走子の放出がはじまり，
60 時間で放出細胞率は 100 % に達した。これに対して，松島湾産も遊走子の放出は 48 時間目
からはじまったが，66 時間で放出細胞率は 100 % となり，有明海産と比較して 6 時間の遅れ
がみられた。

5 °C 区では両産地の壺状菌ともに 120 時間目から遊走子の放出がはじまり，有明海産は 168

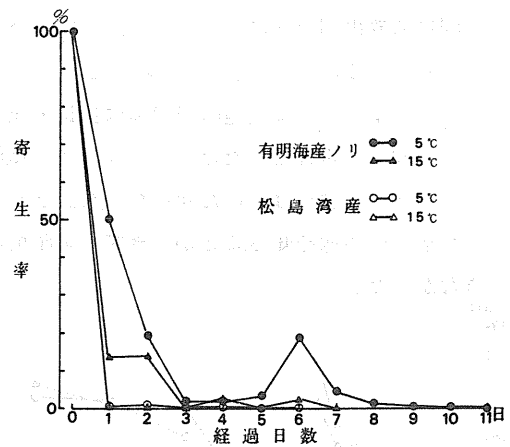


図-37 産地の異なる遊走子の感染能
と水温との関係

時間目に放出細胞率は100%に達したが、松島湾産は192時間目で100%となり、有明海産に比較して24時間の遅れがみられた。

以上のように、両産地の壺状菌は生長・成熟ともに有明海産の壺状菌が松島湾に比べて若干速い傾向がみられた。ただ、両産地のノリ葉体に寄生した壺状菌を観察したところでは形態上注目すべき相違点はみだせなかった。また、現在、壺状菌の純粋分離が不可能なのでより詳細な形態や生態を知ることができず、両産地の壺状菌が同一種のものか否か検討することができなかつた。

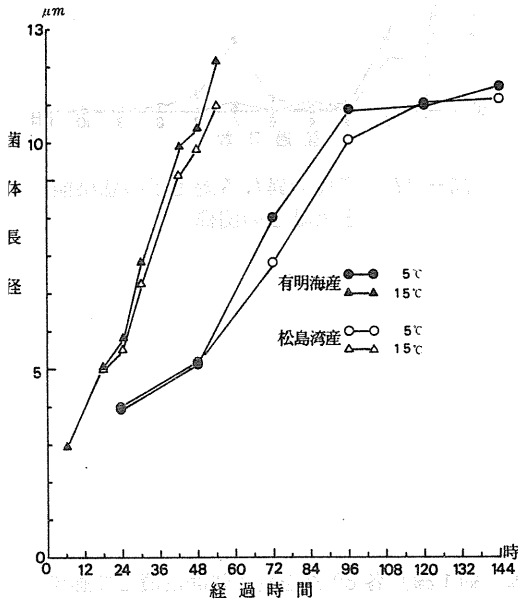


図-38 産地の異なる壺状菌の生長

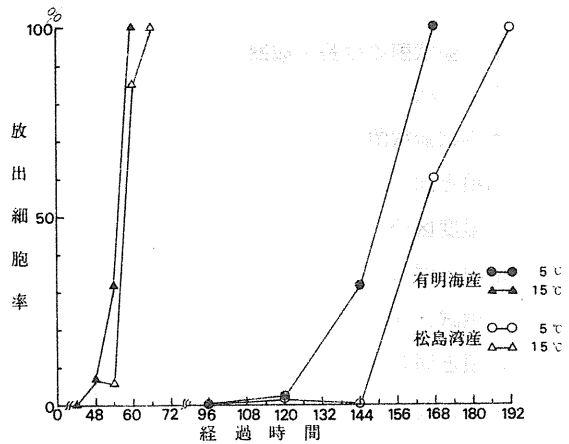


図-39 産地の異なる壺状菌の成熟

8. 壺状菌純粋分離のための基礎試験

現在、壺状菌については適当な人工培地がないために純粋培養を通じて菌の性質を明らかにすることができない。そこで本菌が活物寄生であるか否かを再確認するために、種々の条件下でノリ細胞を枯死させ、それぞれについて壺状菌感染の可否を調べた。また、壺状菌の越冬場所を海底と仮定し、底泥内でしばしば形成される嫌気状態が壺状菌に与える影響について検討した。さらに、各種培地を使って壺状菌の分離を行なった。

1) 壺状菌の寄生に関する基礎試験

方法

ノリ葉体を浸透圧の変化、乾燥、薬品、pH、高温により枯死させ、死細胞を作成した。ノリ細胞の生死の判定は0.2%エリスロシン染色により行なった。供試ノリ葉体は処理後直ちに海水でよく洗い、常法により作成した壺状菌遊走子液に投入し、そのまま15°Cの恒温室内に静置してとりあげ約42時間後にWITTMANの核染色法で染色し検鏡した。

結果および考察

異なった条件下で枯死させたノリ細胞に対する壺状菌の感染の可否については、表-15に

表-15 死細胞の種類に対する壺状菌の感染の有無

死細胞を作成した条件	作成方法	エリスロシン染色率	壺状菌感染の有無
浸透圧	ノリ葉体を3日間真水に浸漬	90%	+
	“ 7日間半海水に浸漬	50%	+
乾燥	“ 3日間室内乾燥	20%	+
	“ 7日間 “	生細胞有り	+
葉品	ホルマリン10%液に1日間浸漬	100%	-
	酢酸アルコールに1日間浸漬	100%	-
pH	pH3の海水に1日間浸漬	100%	-
	pH10.3 “	生細胞有り	+
高温水	40~50℃の海水に1時間浸漬	100%	-

示す。ホルマリン、酢酸アルコール、pH3、高温水を用いて作成した100%死細胞には壺状菌の感染はみられなかった。ところが、真水、半海水、乾燥、pH10.3で処理した葉体中には死細胞に混じって生細胞がみられ、それには壺状菌の感染がみられた。

以上の結果から、壺状菌は死細胞には寄生せず、生きた細胞のみに寄生するようで、人工培地の作成にはかなりの困難をとまなうものと思われる。

2) 嫌気状態が壺状菌に与える影響

方法

○供試壺状菌

前項と同様に作成した感染初期菌体、生長期菌体、成熟期菌体を用いた。

○実験方法

各生長段階別の壺状菌感染葉体を15℃、12時間明暗周期の条件下で、24時間および48時間嫌気状態で静置培養し、取り出し後同条件の平常状態に戻し、24時間経過ごとにWITTMANの核染色法により固定後検鏡し、生長・成熟の状況を観察した。生長・成熟は、菌体長径、顆粒形成率(=顆粒状を呈する菌体数/全壺状菌感染数)、放出細胞率であらわした。

嫌気状態はアナエロボックス(テーハー式、AZ-95型式、N₂80%、CO₂、H₂10%)内に作った。

結果および考察

(1) 感染初期菌体に及ぼす影響

嫌気状態が感染初期菌体に及ぼす影響については、図-40に示した。24時間嫌気状態においたものでは、平常状態に移して24時間後に菌体は5.2μm、48時間後には11.9μmに生長し、顆粒形成率は87%となり、菌体の生長・成熟は対照と比べ24時間の遅れがみられた。

一方、48時間嫌気状態においたものについても、平常状態に移してからの菌体は生長・成熟の傾向は対照に比べ48時間の遅れはみられるものの、ほぼ同じような生長・成熟を示した。

(2) 生長期菌体に及ぼす影響

嫌気状態が生長期菌体に及ぼす影響については図-41に示した。24時間嫌気状態においたものでは、平常状態に移して24時間後に菌体は $11.3\ \mu m$ 、顆粒形成率96%、放出細胞率4%であった。48時間後に菌体は $12.9\ \mu m$ 、顆粒形成率37%、放出細胞率63%となり、菌体の生長・成熟は対照と比べ24時間の遅れがみられた。一方48時間嫌気状態においたものについては、平常状態に移してからの菌体の生長・成熟の傾向は対照と比べ48時間の遅れはみられるもののほぼ同じであった。

(3) 成熟期菌体に及ぼす影響

嫌気状態が成熟期菌体に及ぼす影響について図-42に示した。24時間嫌気状態においたものでは平常状態に移して24時間後に菌体は $10.6\ \mu m$ 、顆粒形成率47%、放出細胞率53%であった。48時間後に放出細胞率は100%となり、菌体の生長・成熟は対照と比べ24時間の遅れがみられた。一方、48時間嫌気状態においたものでは平常状態に移して24時間後では放出細胞率42%、48時間後では62%と対照に比べて低い値を示したが、その理由については明らかでない。

同様の方法で嫌気状態にノリ葉体をおいたときの影響については、24、48時間経過後平常状態に移して、その生長の傾向を対照と比べると嫌気状態においた時間だけの遅れがみられたが、ノリ葉体への障害はなかった。

以上のように感染初期、生長期の菌体を24、48時間嫌気状態においたもの、成熟期菌体を24時間嫌気状態においたもの、成熟期菌体を24時間嫌気状態においたものでは、嫌気状態においた時間だけ対照に比べ、生長・成熟が遅れるが、平常培養に移してからの生長・成熟の傾向に差は認められなかった。しかし長期間にわたり嫌気状態においた場合の壺状菌菌体及びノリ葉体の受ける影響についてみる

ため、壺状菌感染葉体を15日間アナエロボックス内で培養すると、開始時に比べ、壺状菌の感染能力は維持されているものの、量的には非常に低い値を示した。この原因としては、宿主であるノリ葉体の弱化、菌体の感染能力の劣え等が考えられるが明らかではない。

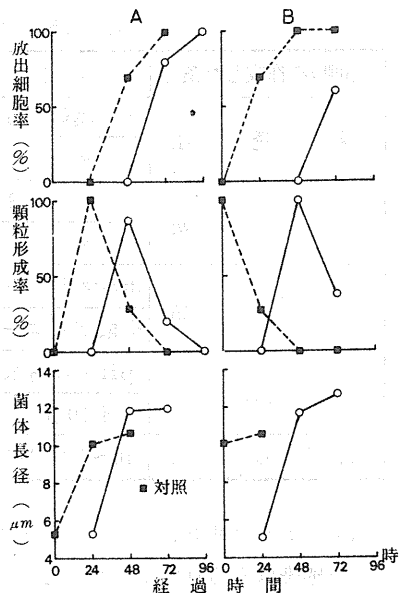


図-40 嫌気状態が感染初期菌体に及ぼす影響
(A: 24時間嫌気状態)
(B: 48時間嫌気状態)

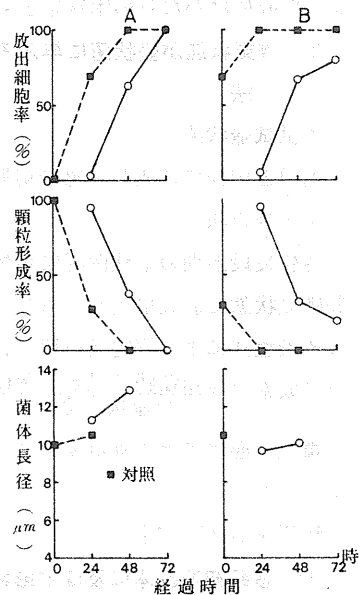


図-41 嫌気状態が生長期菌体に及ぼす影響
(A: 24時間嫌気状態)
(B: 48時間嫌気状態)

3) 各種培地による壺状菌の分離について

新崎B⁹⁾, V・B¹⁰⁾, 今野¹¹⁾の3培地を用いて壺状菌の分離を試みた。

方法

○壺状菌の分離

供試した壺状菌羅病葉はできるだけ付着細菌の少ないものを集め、病患部を小切片(3~5mm)として4~5回殺菌海水で除菌したものをを用いた。次にこの切片を新崎B, V・B, 今野の1.5%平板寒天培地にはりつけ、切片の端の培地上に遊走子を導くための小溝を白金耳を用いて作った。培養温度は15°Cとし、培養期間中は繰り返し顕微鏡観察を行ない、ノリ葉体内における壺状菌遊走子の放出を確認後、直ちに、ノリの小切片を培地から取り除いた。その後引き続き培地別にコロニー観察を行なった。

○発症試験方法

分離2~5日後に海水または半海水を注いだ培地と、コロニーから釣菌し移し入れたホールスライド上の仔牛血清中のそれぞれに除菌した壺状菌非感染ノリの小切片(5mm角)を入れ発症試験を行なった。なお仔牛血清は無菌的に作成した。

結果

各培地上に出現するコロニーは大部分白色粘性であった。ただし、V・B培地における顕微鏡観察(×100)では、特異なものとして淡緑色の方形状(6~8mm)の、いわゆる一般植物細胞に類似した形状を持つ小コロニーが認められ、これをさらに高倍率(×1000)で観察すると、多数の桿菌の間に淡緑色不定形の爽雜物様のものがみられた。しかしこれらを含め発症試験を行なったが、すべてマイナスであり、壺状菌によるコロニーの形成、遊走子の放出はなかったと考えられる。

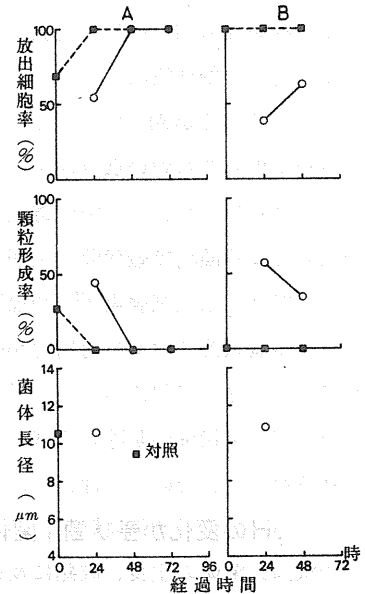


図-42 嫌気状態が成熟期菌体に及ぼす影響
(A: 24時間嫌気状態)
(B: 48時間嫌気状態)