

養殖ノリの疾病に関する研究 III

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	加藤, 盛 渡辺, 競
巻/号	37巻5号
掲載ページ	p. 380-386
発行年月	1971年5月

養殖ノリの疾病に関する研究—Ⅲ.

白クサレ症状発現葉における燐酸代謝について

加藤 盛・渡辺 競

(1970年11月18日受理)

Studies on the Diseases of Cultured *Porphyra*—III. Phosphorus Metabolism in *Porphyra*, Manifesting the White Wasting Like Symptom

Sakari KATO* and Tsuyoshi WATANABE**

This paper describes the results of studies on the Phosphorus metabolism in *Porphyra tenera* and the manifestation of the white wasting disease symptom.

1) The infection leads to a remarkable change in phosphorus metabolism in the tissue. Total-P content decreases, that is, inorganic-P increases and acid soluble-P and phospholipid-P decrease. Nucleic acid-P and phosphoprotein-P show no significant change. The major changes in phosphorus intermediates are degraded irreversibly to inorganic-P.

2) In cells growing in sea-water containing high phosphorus compounds, total-P content, inorganic-P, acid soluble-P and phospholipid-P increase. Nucleic acid-P and phosphoprotein-P do not increase. As the concentration of phosphorus increases in the cells, the oxidation-reduction potential becomes more reductive. Polyphosphoric acids are also found in these cells. It is considered that polyphosphoric acids are one form of energy storage. The white wasting disease like symptom does not develop on the frond.

3) It is a well-known fact that total-P content decreases in the tissue growing in low nutrient sea-water. However, the effects of infection on phosphorus metabolism are entirely different from those of malnutrition in nature. In case of malnutrition, the decrease in tissue phosphorus is due to decreased uptake of phosphorus by the tissue. There is no evidence which indicates that the degradation of organic-P to inorganic compounds increases.

4) From the statistical analysis of data obtained for the past ten years in Matsushima bay, it is difficult to find a specific relationship between N and P concentrations in sea-water and the occurrence of the disease. A good correlation exists, however, between the occurrence of the disease and the neap tide.

ノリ養殖上、白クサレ病はその豊凶を左右する重要な病害である。本病の発生原因については長年の研究にもかかわらず、未だ不明の点が多い。また防除法においても有力なものは皆無に近い現状であり、作柄安定化のため適格な防除法の確立が望まれている。我々は本病について、主として発生要因および病態生理の面から研究を行ない、ノリひび内に形成される特異な微環境の変化と、干出時間の長短など人為的操作により誘発されるノリの生理的な変化が、本病発生の重要な要因であることを報告した¹⁾。本報では白クサレ症

* 東北大学農学部植物病理学研究室(Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai, Japan)

** 宮城県水産試験場(Miyagi Prefectural Fisheries Experimental Station, Ishinomaki, Japan)

状発現藻体の磷酸化合物の動態を中心とし、さらに海水中の栄養塩濃度、特に窒素、磷酸と本病発生との関係について行なつた実験の結果を報告する。

実験方法

供試アサクサノリはすべて宮城県松島湾で養殖したものであり、白クサレ症状発現時に試料を採取、直ちに次の各分析に供した。試料の罹病程度は Table 1 に示す。

Table 1. Condition of infected *Porphyra* fronds used for analysis.

Severity of disease	Average length of frond (cm)	Symptoms
Slight	6~8	Localized reddish areas, a small amount of dead cells; lusterless as a whole
Severe	6~8	The one-third area from the frond tip is discolored, a large amount of dead cells

Sampling date: November 15, 1969. Date of disease occurrence: November 13, 1969.

磷酸の定量 磷酸の定量はすべて FISKE-SUBBAROW 法²⁾によつた。磷酸化合物の分画は SCHNEIDER 法³⁾により、ポリ磷酸の分析は SALL ら⁴⁾の方法を用いた。

炭素・水素・窒素の定量 乾燥試料 800 μg について CHN 分析計 (日立製) で分析した。燃焼率 (CQ) の計算は田宮⁵⁾の式により行なつた。

窒素化合物の定量 窒素化合物の分析には乾燥粉末試料を用いた。全窒素は micro-KJELDAHL 法により、水溶性蛋白質は試料より熱水で抽出、抽出液から透析によつてアミノ酸その他を除去した内液について LOWRY ら⁶⁾の方法によつて定量した。

クロロフィルの定量 アセトン抽出液について 663 $m\mu$ および 645 $m\mu$ の波長で optical density を測定、次式⁷⁾により全クロロフィル含量 (C) を測定した。

$$C = 0.0202D_{645} + 0.00802D_{663}$$

フィコエリスリンの定量 試料を蒸溜水と共に磨砕し、磨砕液について 105.000 $\times\text{g}$, 60 分間遠心分離し、得られた上清について 560 $m\mu$ の波長で optical density を測定、結果は optical density で表示した。

海水中の全窒素・全磷含量の測定 海洋観測指針⁸⁾に準じて行なつた。

実験結果

1. 罹病時の磷酸代謝 白クサレ症状発現藻体において磷酸代謝がどのように変化しているかを検討した結果が Table 2 である。病状の進展と共に全磷酸は低下する。罹病初期では健全より 15% 程度の低下を示すに過ぎないが、後期では 35% と大幅な減少を示している。各分画間では酸可溶性磷が大幅に低下し、逆に無機磷および磷蛋白磷が増加する。すなわち無機磷は健全葉では全磷の 15% 程度を占めているが、罹病葉では 30% 程度と顕著に増大している。また健全葉で 37% 前後を占めていた酸可溶性磷は 20% 程度まで低下し、磷脂質、核酸分画では変動が少ない、白クサレ病を磷酸代謝の面からみると、罹病葉では有機態磷が一方向的に無機化していることが特徴として認められ、さらに酸可溶性分画の減少から、呼吸機能の低下を含めて著しい代謝活性の低下が推定される。また病徴の発現は代謝変動の表現であるとの観点から、白クサレ症状がこのような代謝変動によつて直接的に誘発されるならば、病因として代謝変動を導くものが第一に考えられるべきであろう。生理障害と考えられる本病の病因としては先ず環境因子が上げられるが、ここでは環境因子のうち特に海水中の栄養塩濃度を中心として以下の実験を行なつた。

Table 2. Phosphorus content of healthy and infected *Porphyra* fronds.

Fraction	Healthy (%)	Severity of disease	
		Slight (%)	Severe (%)
Total-P	0.60	0.51	0.39
Inorganic-P	0.09	0.13	0.11
Acid soluble-P	0.22	0.12	0.08
Phospholipid-P	0.10	0.09	0.07
Nucleic acid-P	0.05	0.05	0.04
Phosphoprotein-P	0.18	0.19	0.12

45% と顕著に増大する。さらにこの無機磷分画について SALL⁴⁾の方法に従ってポリ磷酸の検出を行なったが、ポリ磷酸は高磷酸培養藻体でのみ検出され、対照では検出されなかつた (Table 3)。ポリ磷酸は一般的には高エネルギー無機磷としての貯蔵形態であり、非酸化的に ATP を形成することが報告⁹⁾されているが、ノリにおいても同様の機能をもつことが考えられる。またこのような磷の吸収増加に伴い窒素の吸収も増加し、全窒素で 16%、水溶性蛋白質で 22% と増加している。次に藻体の構成元素の分析結果が Table 4 である。対照区では窒素 6.2%、炭素 42.0%、水素 6.0%、酸素 39.0% となり、高磷酸培養区ではそれぞれ 6.8、44.0、6.5、36.0 と酸素を除き全般的に対照区を上回る傾向がみられた。各元素の割合から燃焼率 (CQ) を計算すると、高磷酸区で 0.88、対照区で 0.91 となり、高磷酸培地で培養することにより細胞全体として著しい還元的変化が起こることがわかる。

Table 3. Nitrogen and phosphorus contents of *Porphyra* fronds cultured in two media.

Fraction	Medium	
	Normal sea-water (%)	Normal sea-water added P* (%)
Total-N	6.7	7.4
Soluble-protein	0.54	0.66
Total-P	0.52	0.63
Inorganic-P	0.07	0.11
Acid soluble-P	0.10	0.16
Phospholipid-P	0.03	0.09
Nucleic acid-P	0.09	0.10
Phosphoprotein-P	0.30	0.28
Polyphosphoric acids	negative	positive

* P: KH_2PO_4 5 mg in 1 liter.

2. 高磷酸培地で培養した場合の磷酸代謝 松島湾内 10 定点の過去 10 年間に亘る 11 月の海水中無機磷濃度は平均 $39.2 \pm 15.9 \mu\text{g/l}$ 、有機磷も含めると $98.0 \pm 16.3 \mu\text{g/l}$ と推定される。これを根拠として、高磷酸培地 (P 1130 $\mu\text{g/l}$ ・戸過海水に H_2PO_4 5 mg/l を添加) を作製、通気、1 日 12 時間照明で 3 日間培養し、磷酸代謝および発病の有無を検討した。全磷酸は高磷酸培養区葉で対照に比べ 21% 前後増加し、各分画間では、酸可溶、磷脂質の各分画で大幅に増大し、逆に磷蛋白分画で低下する。核酸分画ではほとんど変動がない。無機磷は

これは前報¹⁰⁾で報告したように窒素代謝の指標であるグルタミン酸脱水素酵素の平衡が還元的な条件で成立することや、罹病細胞では還元力が低下することから、磷酸吸収に伴い窒素の代謝系も活性化することが推察出来る。しかし高磷酸培養 3 日間では、細胞に形態異常がみられず、かつ白クサレ様の症状も全く発現しなかつた。

3. 低栄養海水で生育した場合の磷酸代謝 白クサレ症状発現時と同様細胞中の全磷酸の低下は、低栄養海水で生育したノリにおいても一般的にみられる現象である。松島湾では 1 月以降海水中の窒素濃度は 30~20 $\mu\text{g/l}$ 、磷濃度は 10 μg ~trace/l と激減し、11 月に比べ窒素、磷共 1/10 以下まで低下する。このような条件下に冷蔵網を張り込み、1 月 24 日分析試料を採取した。採取時の葉長平均は 8~10 cm である。試料としては特に褪色、黄化したもの

Table 4. Combustion quotient of *Porphyra* fronds.

Culture Medium	N (%)	C (%)	H (%)	O (%)	CQ
Normal sea-water	6.2	42.0	6.0	39.0	0.91
Normal sea-water added P	6.8	44.0	6.5	36.3	0.88

Table 5. Nitrogen and phosphorus contents of faded *Porphyra* fronds.

Fraction	Healthy frond (%)	Faded frond (%)
Total-N	8.5	3.9
Soluble-protein	0.77	0.5
Total-P	0.81	0.40
Inorganic-P	0.13	0.12
Acid soluble-P	0.22	0.20
Phospholipid-P	0.07	0.05
Nucleic acid-P	0.15	0.11
Phosphoprotein-P	0.24	0.08
Frond color	10Y 3.5/2*	10Y 6.5/6*

* Expressed according to the standard color table (JIS).

Table 6. Pigment contents of faded *Porphyra* fronds.

	Healthy frond	Faded frond
Chlorophyll	1.3627 mg*	0.1561 mg*
Phycocerythrin	0.97**	0.083**

* mg/g dry weight. ** $OD_{560\text{ m}\mu}$.

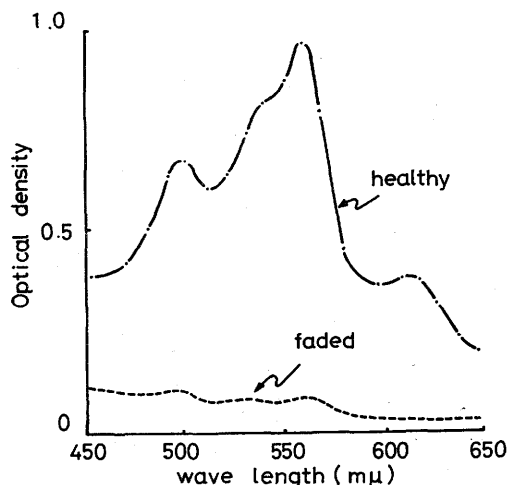


Fig. 1. Phycoerythrin content in healthy and faded *Porphyra* fronds.

かつこの条件下で生育したノリでは体内成分としての窒素、燐含量の間に 0.86 の高い相関がみられた (Fig. 4)。

以上、過去 10 年間の海水中の窒素、燐含量の測定結果から、松島湾においては窒素、燐含量の変動と白

を選び、対照としては 11 月採取の試料中、葉長 8~10 cm のものを用い、燐化合物を中心に窒素・色素の分析を行なった。なお、使用した試料の色調は標準色票 (日本色彩研究所) に準拠し、各分析結果は Table 5 に示した。低栄養海水で生育した場合、全燐酸は 1/2 と大幅に低下しているが、内容的に著しい特色は、無機燐がほとんど減少せず対照葉との差がみられないことである。減少するのは有機態燐であり、特に燐蛋白分画で著しい低下を示している。酸可溶性、燐脂質、核酸各分画では大きな変化がみられず、呼吸を含めて細胞機能はある程度正常に近い状態を維持していることがうかがわれる。窒素では全窒素で 1/3、水溶性蛋白質では 1/2 前後低下しているが、色素では対照に比べクロロフィルで 89%、フィコエリスリンで 80% と顕著に減少している (Table 6, Fig. 1)。このような色素含量の急激な低下は主として色素蛋白の合成低下または分解に起因するものと考えられる。低栄養海水でノリが生育した場合、褪色、黄化の現象はみられるが、白クサレ病特有の徴候である赤変—白化の過程は全くみられない。

4. 白クサレ病多発海域における窒素、燐含量の消長

前項までの実験から罹病や、栄養源の過不足によつて代謝が大きく変動することがみられた。本項では松島湾ノリ養殖場の白クサレ病多発海域および無発生海域各 6 ヶ所を選定、病害発生時期を中心とした 10 年間に亘る経日的な窒素、燐含量の測定結果と本病発生との関係を検討した。結果は Table 7, 8 に示したが、10 年間同傾向の結果が得られたので、例として 3 ヶ年のみを表示した。湾内の窒素、燐含量は Fig. 2 に示す通り、対数正規分布をなし、従つて推計学的見地から、窒素、燐の含量は測定日によつて大きく異なるが、多発海域、無発生海域など場所による変異は認められない。また年毎の間でも差がないと推定出来る。一般的にみて海水中の窒素、燐含量は共に小潮時期に低下するが、その傾向は多発海域、無発生海域共に全く同様であり、含量の多少と発生の有無にも一定の関係は認められなかつた。また Fig. 3 に示す通り、海水中の窒素と燐含量の間には 0.65 程度の相関がみられ、

Table 7. Relation between nutrient concentration (PO₄-P) in sea-water and disease occurrence.

1964			1965			1966		
Date	A* ($\mu\text{g/l}$)	B** ($\mu\text{g/l}$)	Date	A ($\mu\text{g/l}$)	B ($\mu\text{g/l}$)	Date	A ($\mu\text{g/l}$)	B ($\mu\text{g/l}$)
10/ 7	57	50	10/13	41	45	9/29	25	39
10/19	34	37	10/19	34	44	10/28	19	19
<u>10/30</u>	48	28	10/30	54	28	11/26	18	7
<u>11/ 9</u>	34	54	<u>11/ 5</u>	29	44	12/ 5	39	88
11/26	36	34	11/26	36	34	12/23	61	60
12/17	90	90						

* A: A region, disease occurs more frequently.

** B: B region, disease occurs rarely.

Note: Table gives the resulting data for past three years as an example.

The periods of 27~29 Oct. 1964, 30 Oct.~1 Nov. 1965 and 4~6 Nov. 1966 corresponds to the neap tide.

Underline: date of disease occurrence.

Table 8. Relation between nutrient concentration (Total-N) in sea-water and disease occurrence.

1964			1965			1966		
Date	A* ($\mu\text{g/l}$)	B** ($\mu\text{g/l}$)	Date	A ($\mu\text{g/l}$)	B ($\mu\text{g/l}$)	Date	A ($\mu\text{g/l}$)	B ($\mu\text{g/l}$)
10/ 7	156	123	10/13	142	310	9/29	55	55
10/19	234	258	10/19	234	272	10/28	105	122
<u>10/30</u>	90	119	10/30	90	119	11/26	48	64
<u>11/ 9</u>	159	141	<u>11/ 5</u>	180	525	12/ 5	—	—
11/26	165	226	11/26	176	226	12/23	186	254
12/17	—	—						

* A: A region, disease occurs more frequently.

** B: B region, disease occurs rarely.

Note: Table gives the resulting data for past three years as an example.

The periods of 27~29 Oct. 1964, 30 Oct.~1 Nov. 1965 and 4~6 Nov. 1966 corresponds to the neap tide.

Underline: date of disease occurrence.

クサレ病の発生との間には定傾向がみられず、従つてこれらの成分の増減は本病の直接的な発生要因とは考え難い。しかし、小潮時期と発生頻度の間には高い相関 ($r = 0.72$) がみられ、本病は小潮時期に発生、蔓延する可能性が高い。

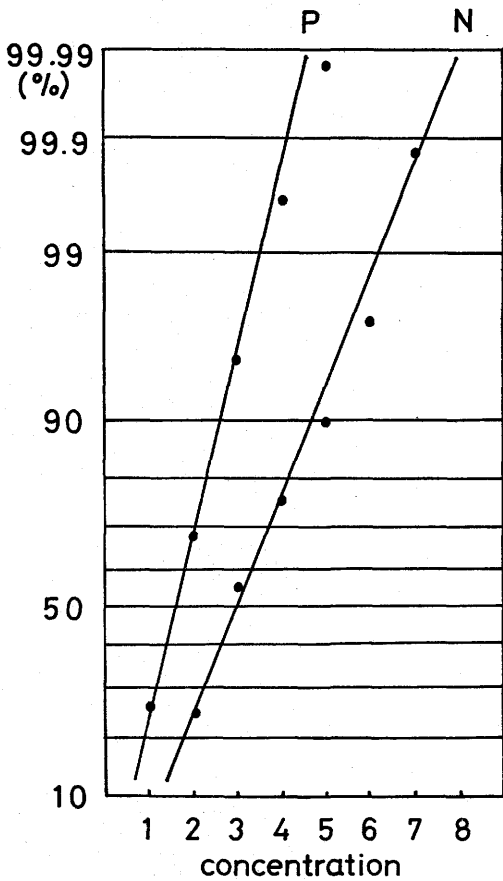


Fig. 2. Test on the frequency distribution of nitrogen and phosphorus concentration in sea-water (plotted on the probability paper).

考 察

白クサレ病を磷酸代謝の面からみた場合、罹病葉では全磷酸の減少が著しく、内容的には有機態磷酸の一方的な無機化をその特色として上げることが出来る。さらに ATP, ADP, グルコース-6-磷酸など代謝機能上重要な磷酸化合物を含む酸可

溶性分画の大幅な低下から、呼吸も含めて代謝活性の著しい低下が推定される。このような代謝変動を一つの根拠として、白クサレ病特有の病徴が代謝変動の総合的な表現であるという見地から、栄養源供給の過不足によって上記のような代謝変動または病徴の一部が再現出来るかどうかを検討した。その結果確かに磷酸の過不足によって代謝の変動は誘起されるが、変動の内容は全く罹病時と異なり、罹病時特有の有機態の無機化はみられない。また酸可溶性分画での変化が少ないことから、磷過不足の場合も磷吸収量に応じて代謝の調節機構がはたらいており、病変のような急速な代謝機能の低下までには発展せずすむものと思われる。すなわち栄養源の過不足のみでは本病を誘発させることは困難であり、本病発生の要因としては他の因子を

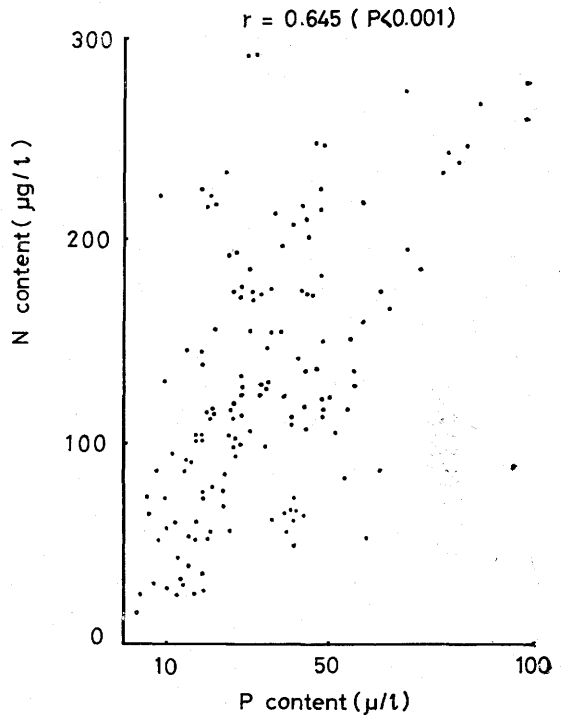


Fig. 3. Nitrogen and phosphorus concentration in sea-water (in Matsushima bay).

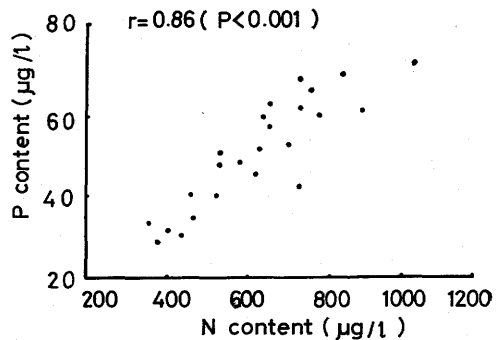


Fig. 4. Nitrogen and phosphorus contents of *Porphyra* fronds growing in Matsushima bay.

充分考慮する必要があろう。

近年、白クサレ病の発生原因として磷の過剰吸収が報告されている¹¹⁾。もし栄養源の特定のもののみを過剰に吸収することが本病の原因とすれば、つまりもし栄養源のみの過剰吸収が起こるとすれば、それは最早病的状態—栄養吸収の調節機構の破壊など—であり、過剰吸収によつて病的状態に移行すると考えるより、病的状態になつて始めて過剰吸収が起こると考えた方が可能性が高い。ある要因によつて一旦病的状態に移した細胞が、特定栄養源のみを過剰に吸収し、それがまた病勢をさらに進展させることは十分に考えられる。

海水中の栄養塩濃度の高低が本病発生の直接的な要因となりにくいことは、また松島湾ノリ養殖場での10年間の観測結果からも支持出来る。本病発生の時期的な面では、発生と小潮時期の間には高い相関がみられ、発生時期としては小潮時を充分注意する必要があり、さらに小潮時にノリひび内に形成される特異な微環境が本病発生の大きな誘因となる可能性も強い。

本研究を行なうに当り、種々御協力を頂いた宮城県水産試験場、佐藤孝三氏、阿部和夫氏に深謝する。なお、本研究の一部は水産庁昭和44年度指定調査研究総合助成事業費によつたことを附記する。

文 献

- 1) 渡辺 競・加藤 盛・阿部和夫・成沢正二・鈴木健三： 宮城県水試研報，4，54~64 (1968).
- 2) C. H. FISKE and Y. SUBBAROW: *J. Biol. Chem.*, 81, 629 (1929).
- 3) W. C. SCHNEIDER: *ibid.*, 161, 293 (1945).
- 4) T. SALL, S. MUDD, and A. TAKAGI: *J. Bact.*, 76, 640 (1958).
- 5) H. TAMIYA: *Acta Phytochem.*, 6, 227, 265 (1932).
- 6) O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR, and R. J. RANDALL: *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951).
- 7) G. MACKINNEY: *ibid.*, 140, 315 (1941).
- 8) 中央气象台： 海洋観測指針，164~177 (1955).
- 9) S. R. KORNBERG: *Biochim. Biophys. Acta*, 26, 294 (1957).
- 10) 宮城県水産試験場： 昭和43年度指定調査研究総合助成事業報告 (1969).
- 11) 山下輝昌： 福岡県有明水試研報，1，1~19 (1969).