

養殖アマノリの疾病に関する研究 VII

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	加藤, 盛 渡辺, 競 佐藤, 陽一
巻/号	39巻8号
掲載ページ	p. 859-865
発行年月	1973年8月

養殖アマノリの疾病に関する研究—VII

各地に発生する赤腐病病原菌の栄養生理と
病原性について

加藤 盛・渡辺 競・佐藤 陽一

(1973年4月7日受理)

Studies on the Diseases of Cultural *Porphyra*—VIIA Comparison of Physiological Properties among the Different
Isolates of the Causal Fungus of the Red Wasting Disease

Sakari KATO*, Tsuyoshi WATANABE** and Yoichi SATO**

Comparative studies were carried out on the cultural character and pathogenicity of isolates of the causal fungus of the red wasting disease, obtained from various culture grounds for *Porphyra* in Japan. The isolates can be separated into two types on the basis of their nutritional behavior and growth type: one type, named "Seinan type", requires specific factors for their growth and these isolates show conidium type growth in the synthetic liquid medium containing sucrose and xylan as the carbon source; and the other, named "Tohoku type", does not require any specific growth factors and grows vigorously with a mycelium type in the medium.

"Seinan type" isolates are much stronger in their pathogenicity than the "Tohoku type" isolates. However, whether these two types of isolates are recognized as a "Race" or not, is a subject for future study.

The growth of hyphae in the Nori tissue is more closely correlated with the metabolic activity (peroxidase activity) of frond tissue rather than nutritive conditions or age of the fronds. The growth speed of hyphae into the tissue of low metabolic activity decreases rapidly in the order of several days after inoculation, but in the tissue of high activity, the growth of hyphae continues vigorously over a long period of time.

ノリ赤腐病は本邦各地で発生し、それに関する報告も多いが^{1,2)}、発生生態や病徴について結果は必ずしも一致しているわけではない。その原因としては、主として発生環境や発生時期、品種¹⁾の相違などが考えられているが、病原菌までは論及されていなかった。1970年にわれわれは宮城県松島湾の発病ノリから分離した菌株と九州、有明海からの菌株を対比培養し、両者に培養上の諸性質や生育状態に著しい相違のあることを見出し、その結果を報告した³⁾。今回はさらに広く本邦各地に分布する赤腐病菌を対象とし、栄養要求や生育形態について比較検討した。その結果、赤腐病菌には栄養要求や生育型や病原性などの面で明らかに異なつた菌株群の存在することが認められたので、ここにその結果を報告する。

実験方法

供試菌株 供試菌株は10菌株である。各菌株は、次の各養殖場での発病ノリから分離されたものである。

* 東北大学農学部 (Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai, Japan)

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

宮古菌株 (I-M-1)・岩手県宮古湾
 気仙沼菌株 (M-K-1)・宮城県気仙沼湾
 松島菌株 (M-M-1)・宮城県松島湾
 松川菌株 (F-M-1)・福島県松川浦
 千葉菌株 (C-N-1)・千葉県奈良輪地先
 愛知菌株 (A-O-1)・愛知県尾張分場地先
 三重菌株 (Mi-S-1)・三重県鈴鹿市白子漁場
 岡山菌株 (O-G-1)・岡山県邑久郡牛窓町地先
 佐賀菌株 (S-A-1)・佐賀県有明海
 熊本菌株 (K-N-1)・熊本県宇土市長浜地先

上記菌株中、松島菌株は宮城水試で、気仙沼菌株は気仙沼水試、佐賀菌株は佐賀水試でそれぞれ分離されたものであり、他は東北水研で分離されたものである。

培地組成 供試培地組成は次の通りである。

グルタミン酸 2 g, K_2HPO_4 1 g, KCl 0.5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 g, 蔗糖 30 g, 蒸溜水 1 l, pH 7.0.

この培養液を 200 ml 容三角コルペンに 50 ml ずつ分注, 120°C で 15 分間滅菌し使用した。生育因子 (本実験では生育因子としてビタミン類のみ使用) を用いる場合は, 上記培地にビタミン類を単独または複合で添加した。使用ビタミンおよび濃度は次の通りである。

チアミン 1.5 mg/l, リボフラビン 100 μ g/l, ビリドキシシン 100 μ g/l, ニコチン酸 500 μ g/l, パントテン酸 500 μ g/l, ビオチン 5 μ g/l.

この場合の滅菌はビタミン類の熱分解を避けるため、汙過滅菌法によつた。接種源は, corn meal agar 平面培地で生育させた菌叢の周縁部から直径 5 mm の円盤を切り取り使用した。培養は 20°C で 15 日間行ない, 各菌株間の生育量の比較は乾燥菌体重で行なつた。以下に表示する菌体重はすべて 3 コルペンからの平均値である。

供試ノリ 病原性の比較のための寄主として用いたノリは, 葉齢の異なるもの 2 種 (幼葉・葉長 1-2 cm, 成葉・葉長 6-7 cm) と, 栄養状態の異なるもの 5 種である。ノリの栄養状態区分は, 同一生育期のノリについて色調および成分含量の多寡を基準として行なつた (Table 1)。使用品種はアサクサノリでさる。

Table 1. Concentration of protein and phycoerythrin in fronds used.

Sample	Frond length (cm)	Total Nitrogen*	Soluble protein	Phycoerythrin**
1	8-10	55.1	13.6	0.60
2	"	31.8	11.8	0.44
3	"	21.2	7.1	0.13
4	"	18.9	5.6	0.08
5	"	13.1	3.2	0.03
Young fronds	1-2	43.3	11.8	0.41
Old fronds	6-7	46.5	11.4	0.43

* Nitrogen and protein content: mg/100 mg dry weight

** Phycoerythrin: Optical density at 560 m μ

病原性の比較 上記の各ノリ葉からそれぞれ 10 枚の葉片 (1 cm×1 cm) を切り取り, 滅菌海水に浮遊せしめ, これに菌を接種した。接種源としては, 液体培地で生育した菌叢に一定量の海水を加え攪拌, 十分菌糸を分散せしめたものを用い, 接種はこれをノリ葉片浮遊液に一定量ずつ注加することによつて行なつた。培養は 7, 14, 21°C で行ない, 一定時期毎に葉片を取り出し, 顕微鏡下で菌の侵入細胞数を算定した。病原

性の強弱はこの侵入細胞数をもつて示したが、侵入細胞数が極めて多く病斑として認め得る場合は病斑直径をもつて示した。

ノリの成分含量および酵素活性の測定 成分として全窒素量、水溶性蛋白質量、フィコエリスリン量を、酵素はパーオキシターゼについて測定したが、方法はすべて既報⁴⁾の通りである。

結 果

合成液体培地における赤腐病菌の生育 国内 10 カ所のノリ養殖場の発病ノリから分離した赤腐病菌について、培地での生育程度を比較した。結果は Table 2 に示す通り、生育程度は菌株によつて著しく異なる。

Table 2. Comparison of growth of isolates on synthetic media.

Isolates	I-M-1	M-K-1	M-M-1	F-M-1	C-N-1
Dry weight of mycelium (mg)*	84.2	41.0	82.0	7.9	15.0

Isolates	A-O-1	Mi-S-1	O-G-1	S-A-1	K-A-1
Dry weight of mycelium (mg)*	11.0	6.9	10.2	8.9	7.5

* Each dry weight in the Table is the average of 3 cultures. Cultures incubated 15 days at 20°C.

り、明らかに生育良好のものと、不良のものとの 2 群に大別された。生育良好の菌株は宮城、岩手など主として東北地方北部に分布するものであり、不良のものは松川浦以南から九州地方にまで広く分布する菌株群である。しかし、この分布の場所的な関係はそれ程厳密なものではない。以下、便宜的に生育良好の菌株群を東北型、不良のものを西南型と略称する。

生育因子の要求 上記の結果は、西南型菌株はこの合成培地で生育するためには、他に何らかの栄養源または生育因子を必要とすることを示している。生育因子について必要の有無を検討するため、合成培地に生育因子としてビタミン類を添加、各菌株の生育量を比較した。東北型、西南型菌株群とも、それぞれについて同様の結果が得られたので、ここでは代表として東北型は松島菌株 (M-M-1)、西南型は佐賀菌株 (S-

Table 3. The effect of growth factors on growth of isolates.

Growth factors***	M		S	
	Dry weight of mycelium (mg)	Final pH*	Dry weight of mycelium (mg)	Final pH
B ₁	88.9	8.1	24.4	7.1
B ₂	91.4	8.1	10.4	7.1
B ₆	81.3	7.9	10.1	7.1
P	90.0	7.6	9.6	7.1
N	74.3	8.1	10.5	7.2
Bi	91.2	7.9	12.4	7.4
B ₁ +Bi	101.1	8.4	68.5	8.0
B ₁ +Bi+B ₂	100.0	8.1	54.2	7.5
B ₁ +Bi+B ₆	92.3	8.1	48.9	7.8
B ₁ +Bi+P	89.6	8.3	56.3	7.7
B ₁ +Bi+N	91.0	8.1	60.1	7.5
check**	98.2	7.4	8.9	7.0

* Initial pH: 7.0

** Check is growth factor free medium treated with active carbon.

*** B₁: Thiamine, B₂: Riboflavin, B₆: Pyridoxine, P: Pantothenic acid, N: Nicotinic acid, Bi: Biotin. M: M-M-1, S: S-A-1.

A-1) の例を Table 3 に示した。東北型菌株では生育因子の有無にかかわらず生育は良好であり、生育因子の効果は認められない。一方、西南型の菌株ではチアミン、ビオチンの添加で生育は著しく促進されたが、生育量は未だ東北型菌株の 1/2 程度に過ぎなかつた。他のビタミン類では全く効果はみられない。

また、培地における生育状況では両型菌株間で明らかな相違がみられ、東北型菌株では菌糸の発育が極めて旺盛であり、いわゆる *mycelial type* というべき生育をしている (Fig. 1)。西南型菌株では菌糸の発育よりも、むしろ Fig. 2 に示すように各種の繁殖器官の形成が旺盛であり、いわゆる *conidial type* の生育型を示している。栄養要求のみならず生育型でも両型菌株間に明らかな相違のあることが認められた。



Fig. 1. Mycelial type growth of Tohoku type isolate in liquid medium containing sucrose as carbon source.

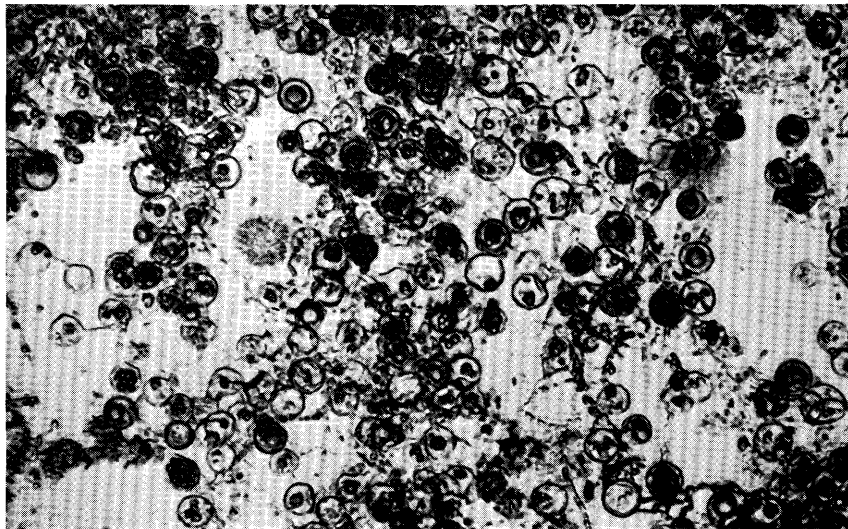


Fig. 2. Conidial type growth of Seinan type isolate in liquid medium containing sucrose as carbon source.

澱粉添加の影響 生育因子の添加により西南型菌株群の生育は明らかに助長されたが、生育量は未だ東北型菌株群の1/2程度に過ぎない。さらにその生育を促進するため、炭素源として澱粉を使用し、その効果を検討した。結果はTable 4に示す通り、澱粉の添加によつて生育は著しく促進され、生育量も東北型菌株群と同程度まで増大した。生育型もまた東北型菌株と同様の mycelial type に変わり、繁殖器官の形成量は著しく減少している。

Table 4. The effect of carbon sources and growth factors on growth of isolates.

Carbon sources	Isolates				
	M-M-1	I-M-1	C-N-1	O-G-1	S-A-1
Sucrose	61.0*	68.2	12.0	10.3	19.6
Starch	84.5	76.7	53.8	68.8	46.4
Starch+Biotin+Thiamine	88.9	80.9	79.4	74.5	71.8

* Milligrams of dry weight produced in 15 days.

Table 5. Relationship between pathogenicity of isolates and water temperature.

Days after inoculation	isolates**	Number of invaded cells***					
		7°C		14°C		21°C	
		Young	Old	Young	Old	Young	Old
1	M	3	2	2	2	0	3
	S	0	2	0	1	0	4
3	M	20	20	25	25	20	35
	S	30	50	5	40	30	50
6	M	50	(0.5)*	40	50	50	(0.8)
	S	40	(1.5)	30	45	80	(3.0)
9	M	50	(1.5)	60	(1.5)	50	(2.5)
	S	40	(2.0)	60	(2.0)	(1.0)	(6.0)

* (): Diameter of lesion, mm.

** M: M-M-1. S: S-A-1.

*** Young: Young frond, frond length, 1-2 cm.

Old: Old frond, frond length, 6-7 cm.

東北・西南型菌株群の病原性の比較 上述までの実験で、各地から分離された赤腐病菌は栄養要求性や生育型を基礎として2群に大別された。この2群の病原性を比較するため、東北型株として松島菌株(M-M-1)、西南型として佐賀菌株(S-A-1)を使用して、次の各実験を行なった。

1) **水温との関係** 7, 14, 21°Cの3段階の水温下で病原性を比較した。供試ノリは葉齢の異なる2種を用いた。結果はTable 5に示す通り、7, 14°Cの低水温下では両型の菌株間で有意な差は認められなかった。しかし、21°Cの高水温下では明らかに差が生じ、西南型菌で病原性が高くなり、接種6日目で成葉期のノリ片のほとんどの細胞に侵入が認められた。一方、東北型菌株では接種後9日目に至つてもなお50%程度の細胞が侵されるに過ぎなかつた。寄主の葉齢との関係では、本菌は常に葉齢の進んだ成葉を激しく侵入傾向がみられ、この結果は新崎の報告¹⁾と全く一致している。

2) **栄養状態との関係** 宿主の栄養状態と病原性との関係について検討した。実験水温は14°Cである。結果はTable 6の通り、両型菌とも侵入率や組織内における菌糸の蔓延程度でほとんど相違がみられなかつた。病状の進展は菌株の種類によらず、宿主の栄養状態によつて全く左右され、栄養状態良好なもの程、菌による侵害が激しく、病斑の形成、拡大も速やかであつた。栄養状態不良の黄変ノリでは菌の初期侵入率は同等であるが、以後は全く異なり、時日の経過と共に菌糸の蔓延は停滞傾向を示し、いわゆる“止り型”ともいふべき小病斑が形成された。

Table 6. Relationship between nutritive condition of fronds and pathogenicity of isolates.

Samples*	isolates	Days after inoculation					
		1	2	3	4	5	10
1	M	0	2**	19	24	30	(6.0)***
	S	0	0	2	12	23	(5.0)
2	M	2	2	16	15	53	(6.0)
	S	0	2	32	35	40	(3.0)
3	M	2	3	28	32	45	60
	S	3	2	42	45	70	(1.0)
4	M	1	3	15	32	(1.0)	(1.5)
	S	2	2	(1.0)	(1.5)	(2.0)	(2.5)
5	M	1	3	17	20	43	45
	S	0	2	20	25	33	85

* see Table 1.

** Number of invaded cells.

*** () Diameter of lesion, mm.

Water temperature: 14°C. M: M-M-1. S: S-A-1.

Table 7. Relationship between peroxidase activity of host and development of lesion.

Samples*	Peroxidase activity**	Diameter of lesion (mm) ***	
		M	S
1	0.252	6.0	6.0
2	0.257	6.0	4.0
3	0.194	3.0	2.5
4	0.066	1.5	1.0
5	0.041	0.5	0.5
Young frond	0.164	3.5	3.0
Old frond	0.314	6.0	6.0

* see Table 1.

** Peroxidase activity: Optical density at 550 m μ .

*** M: M-M-1. S: S-A-1.

3) 酵素活性との関係 宿主の代謝活性と病原性との関係を知るため、パーオキシダーゼを代謝活性の指標として検討した。赤腐病菌の宿主侵害程度は酵素活性の高低と全く平行的な関係にあり、栄養状態や葉齢如何を問わず、代謝活性の高いもの程本菌による侵害程度が高くなっている (Table 7)。この関係は東北・西南両型菌株間で相違なく、同様にみられた。

考 察

各地のノリ産地に発生する赤腐病菌 10 菌株について合成培地における生育、栄養要求について比較検討した。この結果を基にすると、本邦に分布する菌株群は 2 つの大きなグループに大別することができる。グループの一つは主に東北地方北部に発生、分布する菌株群 (東北型) で、蔗糖添加の合成培地でも旺盛に生育し、特殊な生育因子を必要とせず mycelial type の生育をする菌株群である。他は東南北部から九州地方まで広く分布している菌株群 (西南型) である。このグループは生育のために生育因子を必要とし、蔗糖添加培地での生育は不良であり、生育型は conidial type である。しかし、澱粉添加の培地では生育型も mycelial type に変わり、生育は旺盛となる。この両型の菌株群はまた病原性でも差が認められた。

今までにも培養試験に重点をおいて植物病原菌の生理的な分化現象を解析した例は多い⁵⁾。この見地から

上記の結果をみると、2群の赤腐病菌は *Pythium porphyrae* のそれぞれ race とも考えられるが、決定のためには今後一層の研究が必要であろう。

佐々木ら⁶⁾は発生地異なる赤腐病菌5株を用い、培養適温、塩分濃度、pH および形態について検討し、本実験と同様2つの菌株群の存在を報告している。

このように一般に赤腐病と呼ばれるノリ病害において、性質異なる2群の菌株群が存在することは、今後本病の host-parasite relationship を解析する上で十分考慮すべき問題であろう。

要 約

本邦主要ノリ養殖場に分布する赤腐病菌10菌株について、培養上の諸性質や病原性について比較検討した。その結果を基に赤腐病菌を分類すると性質異なる2群に大別することができた。一つは生育のため生育因子を必要とし、蔗糖添加培地では生育不良で conidial type の生育を示し、澱粉添加培地では生育型は mycelial type に変わり、生育旺盛となる菌株群（西南型）である。他は生育因子を必要とせず、蔗糖添加培地で旺盛に mycelial type の生育をする菌株群（東北型）である。両群の菌株はまた病原性も異なり、高水温下では明らかに西南型菌株が高い病原性を示した。

赤腐病菌の宿主への侵入は、宿主の栄養状態や葉齢、代謝活性などによつて左右されないが、組織内での菌糸の生長蔓延は栄養状態や代謝活性の影響下にあり、特に代謝活性との関係は密接である。すなわち代謝活性の高い組織内では菌糸の生長は旺盛であり、病斑の拡大も急速であつた。

本研究の一部は昭和45年度水産庁都道府県水産試験特別調査事業費によつた。ここに記して謝意を表す。

文 献

- 1) 新崎盛敏：農電研報，3，87-93 (1962).
- 2) 新崎盛敏：植物防疫，10，243-246 (1956).
- 3) 宮城水試：昭和45年度都道府県水産試験特別調査事業報告書，5-8 (1971).
- 4) 加藤 盛・渡辺 競・赤坂義民：本誌，36，1000-1006 (1970).
- 5) J. J. CHRISTENSEN and T. W. GRAHAM: *Minn. Agr. Expt. Sta. Bull.* 95, (1934)
- 6) 佐々木実・桜井保雄：東北水研研報，32，83-87 (1972).