

# 室内培養実験によるあかぐされ病評価手法の開発

岩出将英・中西尚文

## 目的

黒ノリのあかぐされ病は毎年のように発生し、黒ノリ養殖を行う上で最も被害が大きい病気である。黒ノリには多くの品種があり、あかぐされ病に対する耐性に違いがあることが確認されていることから、適切に使用する品種を選択することによって、あかぐされ病の被害を軽減することが期待できる。そこで、黒ノリのあかぐされ病耐性の強弱を数値により判断し、各品種のあかぐされ病耐性を適切に評価するための技術開発を実施する。これにより、各品種のあかぐされ病に対する耐病性を簡便に把握できることになり、あかぐされ病の蔓延しやすい漁場や時期には耐病性に優れた品種を用いることが可能となる。

## 方法

### (1) 使用する葉体ディスクの選別

統一的培養条件下で3週間培養したU-51、有明1号、佐賀8号、アオクビ、クロスサビ、大牟田1号、オオバグリーン、佐賀1号、佐賀5号、水呑、青芽、スサビ緑芽、しあわせ1号、女川スサビ、フタマタスサビノリ、野間、熊本漁連3号、湯の浦、福岡1号、ZX-1の葉体を顕微鏡観察し、死細胞や成熟誘導している細胞が無いことを確認したあと、葉状体中央部から直径1mmのディスクを打ち抜き、1日間回復培養を行った。翌日培養しておいたディスクをスライドグラス上で検鏡し、死細胞や成熟誘導している細胞が無いディスクを5枚選別した。

### (2) あかぐされ病原菌遊走子の調整

1,000mlの三角フラスコに新崎B(抗生物質無添加)を700ml入れ、その中にコーンミール半海水寒天培地上で生長させたあかぐされ病原菌を寒天培地ごと1cm角に切り取り5片入れ、20℃で5日間培養した。培養液を30 $\mu$ mナイロンメッシュでろ過し、メッシュ上の菌体のみを半海水700mlに入れ、ロータリーシェイカーを用いて120rpmで振とうした。1回目と2回目の洗浄は菌体を新たなる過半海水700mlに1時間に1回移すことにより洗浄した。3回目以降は2時間に1回の洗浄を2回繰り返し、検鏡により多量の遊走子を放出し始めていることを確認した後、30 $\mu$ mナイロンメッシュ上で既に放出されている遊走子を取り除くため十分洗浄を行った。50mlの遠沈管内で30mlの半海

水中に菌体を懸濁し、振とうを行った。30分後、遊走子を30 $\mu$ mナイロンメッシュで分離し、遊走子原液を得た。遊走子原液0.5mlに2%グルタルアルデヒド半海水を同量加えて固定した遊走子をトーマ血球算定盤で3回計測した。計測した遊走子濃度から、遊走子濃度が3,000個/mlになるように100mlの半海水遊走子液を調整した。

### (3) 品種別のあかぐされ病耐性比較試験

直径6cmのシャーレに選別した各品種の葉状体ディスクを5枚ずつ入れ、調整した遊走子液を10ml加え、15分間静置で感染させた。それぞれ、直径6cmのシャーレに入れた10mlの半海水、続いて10mlの1/2SWM-III添加海水へ移動させることにより洗浄し、18℃で24時間静置培養を行った。培養後、葉状体ディスクの感染箇所数および感染細胞数を光学顕微鏡( $\times 400$ 倍)で計数した。試験は6回繰り返し実施した。

品種間におけるあかぐされ病原菌の相対感染箇所指数、1感染箇所あたりの相対感染速度指数、あかぐされ病相対感染指数を算出した。

## 結果および考察

品種間におけるあかぐされ病原菌の感染箇所数の比較には基準品種であるU-51の1枚あたりの平均感染箇所数と評価品種1枚あたりの平均感染箇所数を比較した、あかぐされ病相対感染箇所指数を用いた。各品種のあかぐされ病相対感染箇所指数の平均値と標準誤差は、有明1号0.98 $\pm$ 0.23、佐賀8号1.45 $\pm$ 0.37、アオクビ1.41 $\pm$ 0.36、クロスサビ0.98 $\pm$ 0.34、大牟田1号1.45 $\pm$ 0.31、オオバグリーン1.47 $\pm$ 0.40、佐賀1号1.85 $\pm$ 0.30、佐賀5号5.50 $\pm$ 1.20、水呑3.96 $\pm$ 0.69、青芽4.54 $\pm$ 1.30、スサビ緑芽4.45 $\pm$ 0.48、しあわせ1号6.11 $\pm$ 1.41、女川スサビ0.83 $\pm$ 0.17、フタマタスサビノリ1.84 $\pm$ 0.48、野間0.85 $\pm$ 0.08、熊本漁連3号1.26 $\pm$ 0.18、湯の浦0.80 $\pm$ 0.06、福岡1号0.86 $\pm$ 0.14、ZX-10.89 $\pm$ 0.15であった(図1)。

品種間における感染後、24時間培養後の1感染箇所あたりの平均感染細胞数の比較には基準品種であるU-51の1感染箇所あたりの平均細胞数と評価品種の1感染箇所あたりの平均感染細胞数を比較した、あかぐされ病相対感染速度指数を用いた。各品種のあかぐされ病相対感染速度指数の平均値と標準誤差は、有明1

号 1.28±0.22, 佐賀 8 号 1.04±0.04, アオクビ 1.48±0.20, クロスサビ 1.21±0.05, 大牟田 1 号 1.33±0.13, オオバグリー ン 1.84±0.24, 佐賀 1 号 0.78±0.13, 佐賀 5 号 1.08±0.09, 水呑 1.12±0.14, 青芽 1.08±0.13, スサビ緑芽 0.90±0.11, しあわせ 1 号 0.97±0.14, 女川スサビ 1.03±0.09, フタマタスサビノリ 1.15±0.12, 野間 0.89±0.08, 熊本漁連 3 号 1.12±0.08, 湯の浦 0.66±0.06, 福岡 1 号 0.88±0.10, ZX-1 0.91±0.07 であった (図 2)。

品種間における耐病性評価の数値化には基準品種である U-51 の 1 枚あたりの平均感染細胞数と評価品種 1 枚あたりの平均感染細胞数を比較した, あかぐされ病相対感染指数を用いた。各品種のあかぐされ病相対感染指数の平均値と標準誤差は, 有明 1 号 1.32±0.46, 佐賀 8 号 1.47±0.35, アオクビ 2.15±0.59, クロスサビ 1.15±0.36, 大牟田 1 号 2.06±0.51, オオバグリー ン 2.94±0.94, 佐賀 1 号 1.56±0.44, 佐賀 5 号 6.34±1.68, 水呑 4.74±1.24, 青芽 5.67±1.98, スサビ緑芽 4.16±0.86, しあわせ 1 号 6.82±2.36, 女川スサビ 0.84±0.20, フタマタスサビノリ 1.91±0.35, 野間 0.75±0.08, 熊本漁連 3 号 1.42±0.24, 湯の浦 0.52±0.08, 福岡 1 号 0.78±0.20, ZX-1 0.82±0.18 であった (図 3)。

### 評価品種の階級区分について

ノリ養殖品種リストにある全 20 品種について, ①あかぐされ病相対感染箇所指数②あかぐされ病相対感染速度指数③あかぐされ病相対感染指数の 3 指数を用いてあかぐされ病耐性の品種特性評価を行った。実際の黒ノリ養殖漁場における黒ノリ葉状体へのあかぐされ病の感染や蔓延の大きな要因としては, 感染箇所数と感染速度があげられる。この両要因を考慮した結果, 最終的な評価手法には, あかぐされ病相対感染指数を用いることが適当であると考えられた。本指数を用いて, ノリ養殖品種リストにある品種毎のあかぐされ病耐性について, 階級区分を行った。各品種について, あかぐされ病相対感染指数を算出したところ, 本手法を用いた階級区分については, 基本品種 U-51 に対して, あかぐされ病耐性が強いと考えられるグループ (< 1.0), 中間のグループ (1.0 ≤, ≤ 4.0), 弱いグループ (4.0 <), の 3 階級に分けることが妥当であると考えられた (表 1)。

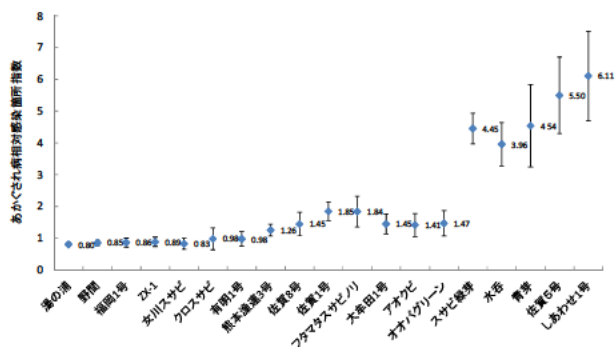


図 1. 品種間におけるあかぐされ病相対感染箇所指数の比較(グラフ上の数値は平均値, バーは標準誤差)

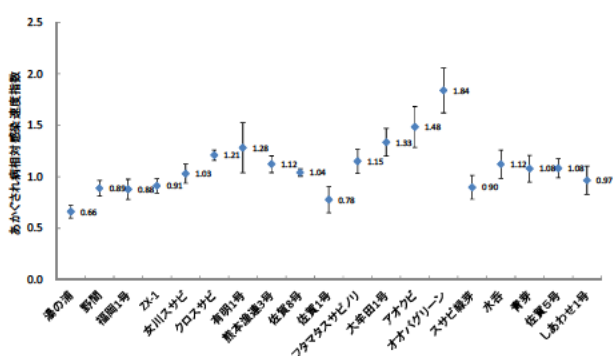


図 2. 品種間におけるあかぐされ病相対感染速度指数の比較(グラフ上の数値は平均値, バーは標準誤差)

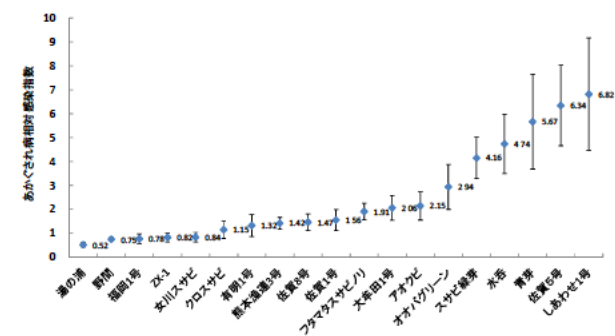


図 3. 品種間におけるあかぐされ病相対感染指数の比較(グラフ上の数値は平均値, バーは標準誤差)

表 1. あかぐされ病相対感染指数を用いた階級区分

区分	あかぐされ病相対感染指数	品種
弱	4.0 <	スサビ緑芽、水呑、青芽、佐賀5号、しあわせ1号
中	1.0 ≤, ≤ 4.0	U-51、クロスサビ、有明1号、熊本漁連3号、佐賀8号、佐賀1号、フタマタスサビノリ、大牟田1号、アオクビ、オオバグリー ン
強	< 1.0	湯の浦、野間、福岡1号、ZX-1、女川スサビ