壺状菌の分類と漁場における探索

本 多 大 輔

甲南大学理工学部生物学科

Taxonomy of *Olpidiopsis porphyrae* sp. nov. and
development of detection method of *O. porphyrae* in the nori cultivation ground

DAISKE HONDA

Department of Biology, Faculty of Science and Engineering, Konan University, Kobe, Hyogo 658-8501, Japan

はじめに

壺状菌はノリ養殖において、葉状体の退色などによる品質低下や、幼芽・二次芽に対する成長阻害や枯死などの重大な被害をもたらす病原菌として知られている。この病原菌は多くの病原菌に効果のある乾燥、凍結、酸処理に対して耐性を示すため、現時点では特に効果のある対策はなく、被害額が生産額の10%に達するという報告もある。しかしながら、このような状況にも関わらず、壺状菌の生物名や分類学的位置も確定していなかったのが現状であった。そこで、詳細な観察と分子系統学的な知見を合わせて、分類学的処置を行い、さらにその過程で得られた特異な遺伝子配列情報から、早期検出法の検討を行っている。

壺状菌の分類、同定

壺状菌は単独培養ができない絶対寄生性の生物のため、ノリとの2員培養下で、感染過程、ノリ細胞の中での発達過程、遊走子形成過程などを光学および電子顕微鏡によって観察を行った(図1)。また、種レベルの

同定に重要な形質とされる宿主特異性を調査するための感染実験を行った。さらに分子系統学的位置を調査するため、核にコードされる18S rRNA遺伝子およびミトコンドリアにコードされる*coxII*遺伝子の配列決定を行った(図2)。これらの結果を総合的に判断した結果、壺状菌はストラメノパイル生物(=不等毛類)、卵菌綱の新種とすることが妥当と判断され、*Olpidiopsis porphyrae* sp. nov.として命名した。¹⁾すなわち、これまでに、新崎(1960)および右田(1969)が指摘していたように、この生物が卵菌綱、*Olpidiopsis*属の生物であることを確認し、これを結論づけたこととなった。^{2,3)}

壺状菌の早期検出技術の開発

壺状菌の18S rRNA遺伝子には、グループIイントロンとみられる配列が挿入されていた。この配列の一部の領域は、配列の二次構造やデータベース検索の結果から、他の生物に存在する可能性が極めて低いことが示唆されたため、壺状菌に特異的な配列として認識された。この配列領域をプライマーとしてPCR法による特異的なDNA増幅を確認することで、壺状菌の存在を確認す

図1 *Olpidiopsis porphyrae* の生活史で観察される形態
a)成熟した栄養細胞。b)放出管を伸長させた遊走子嚢。c)遊走子放出の瞬間。d)遊走子放出後に空になった遊走子嚢。e)ノリ葉体の表面に着生した遊走子。f)ノリ葉体への穿孔。g)ノリ細胞内で発達する栄養細胞(矢印)。

図2 卵菌類の18S rDNA遺伝子の分子系統樹

る技術を開発した。⁴⁾ これを用いて佐賀県有明海のノリ養殖漁場で調査を行ったところ、多くの場合において、ノリの葉状体に壺状菌の感染病徴が確認されるよりも数週間前に、PCR による壺状菌の遺伝子増幅が確認された。⁵⁾ ただし、この検出と壺状菌病の発生との間には完全な相関があるとは言えないため、DNA 抽出法の改善や Real Time PCR などを用いた DNA 量の測定を行って、より精度を上げる必要がある。

さらに、ノリ養殖を行っていない夏期の海水中にも上記の特異的 PCR 増幅法によって、壺状菌の遺伝子の存在が複数のサンプルに確認された。また、例は少ないものの、遺伝子の存在が確認された海水中でノリを培養した時に、壺状菌の感染が実際に確認された。壺状菌はノリが越夏するときのステージであるコンコセリス体にも感染することが知られているが、培養実験によって養殖ノリを含むアマノリ (*Porphyra*) 属だけでなく、夏もよく生育するものが含まれるウシケノリ (*Bangia*) 属へ

の感染も確認された。¹⁾ これらのことから、壺状菌が宿主を変えながら、季節を問わず感染能力のある状態で海水中に存在する可能性も考慮する必要があると思われる。

文 献

- 1) Sekimoto S, Yokoo K, Kawamura Y, Honda D. 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* 2008; **112**: 361-374.
- 2) 新崎盛敏. アマノリ類に寄生する壺状菌について. 日水誌 1960; **26**: 543-548.
- 3) 右田清治. 養殖アマノリの壺状菌病について. 長崎大学水産学部研究報告 1969; **28**: 131-145.
- 4) 本多大輔, 関本訓士, 川村嘉広, 横尾一成. 海苔壺状菌病原菌検出・定量方法. 特開 2005-168359, 2005.
- 5) 横尾一成, 関本訓士, 川村嘉広, 本多大輔. 養殖ノリに被害を与える壺状菌 *Olpidiopsis* sp. (卵菌綱, クロミスタ界) の PCR による早期検出. 日水誌 2005; **71**: 917-922.