ノリ糸状体の黄斑病に関する研究—III

発病におよぼす水質の影響^{*1}

谷 口 道 子

(1977 年 8 月 12 日受理)

Studies on the Yellow Spot Disease in conchocelis—III
Aquatic Factors Influencing the Development of the Yellow Spot DiseaseMichiko TANIGUCHI^{*2}

Aquatic factors that influence the development of yellow spot disease in *Porphyra conchocelis* were examined.

1. When sterilized water drawn from a culture container in which the disease was very prevalent was used as the culture water in the experiment, almost all the conchocelis inoculated with the fractionated pathogen complex suffered from the disease. On the other hand, when the inoculated conchocelis were kept in fresh seawater, they did not suffer from the disease at all. There was remarkable difference between the sterilized culture water and the fresh seawater in their respective COD values and $\text{NO}_3\text{-N}$ concentrations; i.e., the COD value and $\text{NO}_3\text{-N}$ concentration was comparatively high in the sterilized culture water and low in the fresh seawater.

2. The appearance of the symptoms on inoculated conchocelis was affected by the $\text{NO}_3\text{-N}$ concentration and the amount of laver extract which were added to the culture water; i.e., the appearance of the symptom was restrained at $\text{NO}_3\text{-N}$ 100 μg at./liter or the laver extract 1.25 g/liter, was not always restrained at $\text{NO}_3\text{-N}$ lower than 100 μg at./liter or the laver extract lower than 1.25 g/liter, and was scarcely restrained and spread quickly at $\text{NO}_3\text{-N}$ higher than 500 μg at./liter or the laver extract 2.5 g/liter.

3. The appearance of the symptom on inoculated conchocelis was not restrained at pH 5.0 in culture water, and restrained at the pH value higher than neutral.

ノリ糸状体の黄斑病に関する研究において、病気の主因が加えられれば必ず発病するような宿主・環境条件を明らかにすることは重要である。著者は、すでに発病におよぼす光の影響を明らかにした¹⁾。温度については加藤²⁾の詳細な報告があり、著者も同様の結果を得ている。pH については、加藤²⁾が通常の海水が示す pH 値の範囲内では海水の pH 値と発病との間にとくに密接な関係はないと報告している。実際の培養場においても、発病が見られる培養水と発病が見られない培養水の間に pH の明確な差異を認めた報告はないようである。しかしながら、右田³⁾は中程度に繁茂した糸状体は 2000 lx の照度で 5 日間培養すると培養水の pH が 9 以上に達すると報告している。実際の培養水に大きな pH の変動が認められない場合でも、微環境的には pH が 9 近くになる場合が十分考えられる。そこで、pH を人為的に大きく変動させることによって病徴発現がどのような影響を受けるかについて、あらためて検討を行つた。また、水質の総合的な発病条件については、全く明らかにされていないので、まず、おう勢な発病の見られる培養水と新鮮な海水について水質的発病条件の有無を比較し、つづいて、硝酸塩およびノリ抽出液の影響について試験を

^{*1} 本研究の一部は文部省科学研究費によつた。

^{*2} 高知県水産試験場 (Kochi Pref. Fish. Exp. Stat., Susaki, Kochi Pref. Japan).

行つた。

実験方法

材料 舞鶴市田井ならびに丸亀市で養殖中のササビノリ *Porphyra yezoensis* UEDA を既報⁴⁾の方法にしたがつて保存し、実験にさいして比較的濃く果胞子付を行い、1000 lx で 10 日間連続照射培養した貝殻糸状体を用いた。

発病条件 試水を 200 ml 容滅菌ガラスビーカーに入れ、上述の貝殻糸状体を 1~1/2 枚浸漬し、25°C の孵卵器内に置いた。

試水 おう勢な発病の見られる培養水（病原水）と採水直後の舞鶴湾底層水を用いた。

発病におよぼす水質の影響に関する実験 上述の試水を用い、ザイツろ過器によるろ過滅菌区と煮沸滅菌区を設けた。それぞれに上述の貝殻糸状体を浸漬し、これに前報で述べた病原体を接種し上述の発病条件下に置いた。ただし、病原体の接種によつて試水の化学的成分が変化するのを防ぐため、6500 G 上澄、12000 G 沈澱で得られた区分をさらに二回人工海水で洗浄し、この 12000 G 沈澱区分を病原体とした。この他に、硝酸塩とノリ抽出液を人工海水に種々の濃度に添加し、これらについても同様な方法で発病におよぼす影響を見た。人工海水の組成は蒸留水 1 l 中に NaCl 23.5 g, MgCl₂ 5.0 g, Na₂SO₄ 3.9 g, CaCl₂ 1.1 g, KCl 0.7 g, NaHCO₃ 0.2 g, KBr 0.1 g を溶解したものである。

溶存酸素量の測定 滅菌ウィンクラー瓶に試水をろ過滅菌後注入し、栓をしないで 25°C の孵卵器内で一昼夜放置した後、常法に従つて測定した。

COD の測定 ろ過滅菌後の試水について常法により測定した。

アンモニア態窒素、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素の定量 それぞれ、ネスラー試薬、GR 試薬、カドミウムアマルガムを用いて常法により測定した。

発病におよぼす pH の影響に関する実験 病原水の pH を 5, 6, 7, 8 の 4 段階に調整し、毎日一回の pH 修正を行いながら、上述の発病条件下に置いた。極端な pH 値による生理障害をチェックするため、新鮮な海水を用いて病原体非接種区を設け、同様の操作を行い対照区とした。

結果ならびに考察

発病におよぼす水質の影響 Table 1 に示されるように、新鮮な海水は病原体が接種されているにもかかわらず一例の発病も認められなかつた。一方、おう勢な発病の見られる培養水を滅菌した後環境水として用いた場合には滅菌方法のいかんにかかわらずすべて発病が見られた。このことは黄斑病が宿主の状態や光条件のみならず、水質によつても発病がおおいに左右されることを意味している。たとえ強力な病原体が存

Table 1. Effect of the quality of water on the appearance of yellow spot disease of *Porphyra conchocelis* when the conchocelis was infected with the pathogen complex

Water	Appearance of the disease**		
	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3
Culture fluid* sterilized by filtering	+++++	+++++	+++++
Culture fluid* sterilized by boiling	+++++	+++++	+++++
Fresh seawater sterilized by filtering	—	—	—
Fresh seawater sterilized by boiling	—	—	—

* Culture fluid in which the yellow spot disease was strongly spreading.

** The degree of the symptom was shown as the area of the yellow spot in individual shell.
—: no yellow spot, +: 1/20, ++: 1/4, +++: 1/2, ++++: 3/4, +++++: the whole area.

Table 2. Analysis of the culture fluid and the fresh sea water

Water	O ₂ (ml/liter)	COD (O ₂ mg/liter)	NH ₃ -N (μg at./liter)	NO ₂ -N (μg at./liter)	NO ₃ -N (μg at./liter)
Culture fluid*	3.0	4.24	undetectable	1.4	335.5
Fresh seawater	3.9	0.53	undetectable	1.5	1.5

* Culture fluid in which the yellow spot disease was strongly spreading.

Table 3. Effect of nitrate on the appearance of yellow spot disease for infected *Porphyra conchocelis*

Concentration of nitrate (μg at./liter)	Area of yellow spot*	
	Experiment 1	Experiment 2
10	++	+
20	—	—
100	—	++
500	+++	++
1000	+++	++
5000	++	++++
10000	+++	+++++

* The degree of the symptom was shown as the area of the yellow spot in individual shell. —: no yellow spot, +: 1/20, ++: 1/4, +++: 1/2, ++++: 3/4, +++++: the whole area.

Table 4. Effect of the extract of the blades of *Porphyra* on the appearance of the yellow spot disease

Amount of extract (g/liter)**	Area of yellow spot*	
	Experiment 1	Experiment 2
0	+	+++
1.25	+	—
2.5	++	++
5	++++	+++++

* The degree of the symptom was as the area of the yellow spot in individual shell. —: no yellow spot, +: 1/20, ++: 1/4, +++: 1/2, ++++: 3/4, +++++: the whole area.

** The wet weight of the blades of *Porphyra*.

在し、前報¹⁾で明らかにされた知りうるかぎりの発病条件を以てしても、なお水質いかんによつては病徴が全く出現しないということは、黄斑病の特徴として重要視しなければならないように思われる。また、前報の発病実験において病原体浮遊液としてろ過滅菌を施した病原水を用いたことは、今回の実験結果から考えて適切な措置であつたことが確認できる。この実験からはいかなる物質が発病を保証しているのか明らかではないが、熱処理に対しても安定な物質であることが推察される。そこで、これら二つの試水の化学分析を行つたところ Table 2 のような結果が得られた。すなわち、この結果から、可溶性有機物と硝酸態窒素が発病を促進している可能性がうかがわれる。

硝酸塩とノリ抽出液が発病におよぼす影響 Table 3, Table 4 に示される実験結果が得られた。これによると、実験ごとに多少の変動はあるものの、いずれの場合もある濃度域において病徴の発現が抑制される傾向が明瞭に認められる。この濃度とは、硝酸態窒素では 20 μg at./l, ノリ抽出液では 1.25 g(湿葉体)/l である。この値よりも高い濃度の場合、すなわち硝酸態窒素 500 μg at./l, ノリ抽出液 2.5 g(湿葉体)/l 以上で病徴発現は安定し、しかも、その病徴の進行も助長されている。

一方、上述の病徴発現を抑制する値より低い濃度の場合には、同一の実験区の中で病徴の出現状態が、供試貝殻糸状体の面積発病率であらわして、一方が 5% であつたのに対して他方が 50% というように変動の著しい結果が得られた。これは水質的に緩衝能力が小さいために不安定な状態に置かれているものと考えられる。

以上のことから、硝酸塩やノリ抽出液は発病条件として重要な要素であり、実際に病気を防除するうえでも、また実験的研究を進めるうえからも十分注意を払う必要のあることが明らかになつた。今回用いたノリ葉体の品質は普通程度のものであつた。ノリ葉体の成分含有量は栄養状態でかなり変動するので、今回病徴

Table 5. Effect of the pH on the yellow spot disease of *Porphyra conchocelis*. Five pieces of shell was used in each experiment.

Water	pH	Number of shells		
		Many small yellow spot*	A few small yellow spot	No symptom
Culture fluid infected with pathogen complex	5.0	5	0	0
	6.0	3	2	0
	7.0	1	4	0
	8.0	0	5	0
Fresh seawater uninfected	5.0	0	0	5
	8.0	0	0	5

* The area where the symptom appeared is wider than 80% of an shell surface.

発現との関連で得られた数値は絶対普遍的なものとはいえない。しかしながら、ノリ抽出液が傾向として硝酸態窒素と同様の効果をしめたことは、ビタミンやアミノ酸等の有機成分が病徴発現にあまり大きな役割を持っていないことを示すものと思われる。また、当初の目的である「病気の主因が加えられれば必ず発病する環境条件」として、高濃度の硝酸塩添加が挙げられることも明らかになった。

発病におよぼす pH の影響 これについて Table 5 に示すような結果が得られた。これによると、供試された貝殻糸状体 5 枚のうち面積発病率が 80% を示した糸状体の枚数は pH 5 において 5 枚であり、pH が高くなるに従って減少し、pH 8 においては 1 枚も出現しなかつた。一方、わずかに微粒斑を形成するにとどまった貝殻糸状体の枚数は pH が高くなるにしたがって増加し、pH 8 においてはすべての供試貝殻糸状体がこの状態のままで病状が進行しなかつた。これらのことから、強制的に pH を調整した場合には、中性ないしアルカリ性は発病を抑制する作用をおよぼしていると考えられる。同時に行つた対照区の病原体非接種区はいずれの pH 区においても全く発病が認められなかつた。このことは上述の酸性側で生じた病徴が pH の低下による生理障害ではなく、黄斑病の病原体によつてひきおこされた病徴そのものであることを示すものである。

以上の結果から pH もまたノリ糸状体の黄斑病の発病条件として重要であることが明らかである。すなわち、当初の目的である「病気の主因が加えられれば必ず発病する条件」を満たすためには水質が pH 5 近くの酸性であることが望ましい。中性またはアルカリ性においても病徴の発現は認められるものの、典型的症状とはかなりのへだたりがあり、条件としては不適當である。従来行われた発病実験は、すべて pH を調整することなく実施され良好な結果を得ている。これらの事実と今回の実験結果は一見矛盾するように思われる。しかしながら、尾形⁹⁾は糸状体の pH は 4~5 であり常に酸を放出して貝殻糸状体を溶解していると述べている。したがって、暗条件に置かれた糸状体は尾形⁹⁾のいう酸放出が優勢になり、貝殻の孔内では微環境的に酸性となり、あたかも強制的に pH を調整した場合と同じ状態になっているものと考えられる。前報⁹⁾で病徴発現は暗条件下に置かれた場合にのみ見られることを明らかにしたが、pH の条件がこのことによつて同時に充足されていたものと考えられる。

要 約

ノリ糸状黄斑病の発病におよぼす水質の影響をみたところ、つぎのような結果が得られた。

1. 水質は黄斑病の病徴発現に重要な影響をおよぼした。すなわち、発病実験において、病原体を接種した貝殻糸状体の環境水としておう勢な発病が見られていた培養水を用いた場合には、その滅菌方法のいかんにかかわらずよく発病したのに対して、新鮮な海水を用いた場合には、糸状体や病原接種方法が同一であるにもかかわらず全く発病しなかつた。これら両者の水質分析を行つたところ、硝酸態窒素と COD に顕著

な差が認められ、培養液中のほうが高い値を示した。

2. 黄斑病の病徴は、環境水中の硝酸態窒素ならびにノリ抽出液の濃度によつてその出現を左右された。すなわち、硝酸態窒素 $20 \mu\text{g at./l}$ またはノリ抽出液 1.25 g(湿葉体)/l の濃度付近では病徴発現が抑制された。しかし、これ以下の濃度、とくに栄養塩無添加区では病徴発現が不安定であつた。一方、硝酸態窒素 $500 \mu\text{g at./l}$ ならびにノリ抽出液 2.5 g(湿葉体)/l 以上の区では安定した病徴発現が見られ、病徴の進行も促進された。

3. 強制的に pH を調整した場合、pH 5 において最も発病率が高く、中性からアルカリ性になるにしたがつて発病率が低下した。

おわりに、この研究を続けるにあたり、数々のご援助をいただき、校閲の労をとつていただいた高知大学農学部畑幸彦教授に深謝の意を表します。

文 献

- 1) 谷口道子：本誌，**36**，686-691 (1970)。
- 2) 加藤 孝：徳島県水産試験場調査研究業績，**10**，1-66，pls. 1-10 (1967)。
- 3) 右田清治：長崎大学水産学部研究報告，**8**，207-215 (1969)。
- 4) 谷口道子：本誌，**35**，333-335 (1969)。
- 5) 尾形英二：水産講習所研究報告，**10**，69-500，pls. 1-12 (1961)。