

室内培養実験による赤ぐされ病評価手法の開発

坂口研一・岩出将英

目的

黒ノリの赤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。深刻な年には摘採不能になる漁場がでる場合もある。黒ノリには多くの品種があり、赤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、赤ぐされ病の被害を軽減することが期待できる。そこで、黒ノリの赤ぐされ病耐性の強弱を数値により判断し、各品種の赤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、各品種の赤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、赤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. 感染用遊走子の添加量の検討

クレモナ系に採苗した U-51 を 1L の枝付きフラスコの中で、水温 18°C、明期 11 時間、暗期 13 時間、光強度 $60 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、栄養強化として 1/2SWM-III を 10ml 添加した条件下で 3 週間培養した。その葉体中央部から、直径 1 mm に打ち抜いたディスクを得、ディスクが水中で平面を保つ健全なものを選別し、1 日間回復培養を行った。その後、1/2SWM-III 添加海水 10 ml を満たし、そこに直径 1 mm のディスクを 5 枚ずつ入れた直径 6 cm のシャーレを 5 個用意し、それぞれに遊走子を 1,000 個、5,000 個、10,000 個、20,000 個、30,000 個投入した。シャーレの中で遊走子が均等になるようにガラス棒でゆっくり攪拌し、静置で 15 分間感染させた。20 時間後、光学顕微鏡(×400 倍)で感染箇所数を計数した。本実験は 3 回繰り返し実施した。

2. アマノリ類品種間の赤ぐされ病耐性試験

クレモナ系に採苗した U-51、アオクビ、大傘田 1 号、佐賀 8 号を 1L の枝付きフラスコの中で、水温 18°C、明期 11 時間、暗期 13 時間、高強度 $60 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、栄養強化として 1/2SWM-III を 10ml 添加した条件下で 3 週間培養した。その葉体中央部から直径 1 mm に打ち抜いたディスクを得、ディスクが水中で平面を保つ健全なものを選別し、1 日間回復培養を行った。その後、1/2SWM-III 添加海水 10 ml を満たし、そこに直径 1 mm のディスクを 5 枚ずつ入れた直径 6 cm のシャーレを 4 個用意し、

それぞれに遊走子 30,000 個投入した。シャーレの中で遊走子が均等になるようにガラス棒でゆっくり攪拌し、静置で 15 分間感染させた。20 時間後、光学顕微鏡(×400 倍)で感染箇所数および感染細胞数を計数した。本実験は 3 回繰り返し実施した。品種間の赤ぐされ病感染指数を ANOVA および Post-hoc test (tukey-kramer)を行い、感染細胞数に差があるか統計的に検討した。

結果および考察

1. 感染用遊走子の添加量の検討

直径 1mm のノリ葉体(U-51)1 枚あたりの感染箇所数は感染用遊走子量が 1,000 個では 0.20 ± 0.12 箇所/disk, 5,000 個では 0.33 ± 0.18 箇所/disk, 10,000 個では 0.93 ± 0.29 箇所/disk, 20,000 個では 1.73 ± 0.24 箇所/disk, 30,000 個では 4.27 ± 0.64 箇所/disk であった(図 1)。感染箇所数が少ないとデータが少なく信頼性が低下する。一方、感染箇所数が多いと感染箇所同士の融合が起こる可能性が高くなり、正確な評価ができなくなる。それらを勘案した結果、感染用遊走子 30,000 個投入したときが 4.27 ± 0.64 箇所/disk の感染箇所数となり、遊走子投入数として適当であると考えられた。

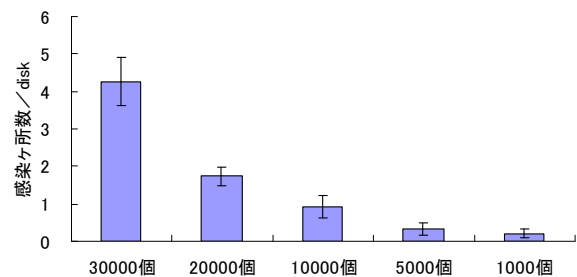


図 1. 添加遊走子量と感染細胞箇所数の関係

2. アマノリ類品種間の赤ぐされ病耐性試験

感染箇所数を品種別に比較した結果、U-51 は 2.4 ± 0.8 箇所/disk, アオクビは 2.5 ± 0.6 箇所/disk, 大傘田 1 号は 2.2 ± 0.4 箇所/disk, 佐賀 8 号は 3.0 ± 1.0 箇所/disk であった。感染箇所数においては品種間で有意な差がみられなかった(ANOVA, $P > 0.05$) (図 2)。

感染細胞数を品種別に比較した結果、U-51 は 9.4 ± 2.0 細胞/disk, アオクビは 16.6 ± 4.4 細胞/disk, 大傘田 1 号は 13.9 ± 2.9 細胞/disk, 佐賀 8 号は 4.2 ± 2.4 細胞/disk であった。感染細胞数においては品種間で有意な差がみられな

かった (ANOVA, $P > 0.05$) (図 3)。品種間の耐病性評価の数値化には基準品種である U51 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の比較したものを使用することとし、その数値を赤ぐされ病相対感染指数とした。式で表すと、「赤ぐされ病相対感染指数 = 評価品種 1 枚あたりの平均感染細胞数 / U51 の 1 枚あたりの平均感染細胞数」となり、赤ぐされ病相対感染指数は耐性が強い順に佐賀 8 号 (1.01 ± 0.06), 大牟田 1 号 (1.48 ± 0.17), アオクビ (1.72 ± 0.08) となった。この中でアオクビと佐賀 8 号の間に有意な差が認められた (ANOVA, tukey-kramer 検定, $P > 0.05$) (図 4)。

感染箇所数については品種間で有意な差がみられなかったことから、感染箇所数を赤ぐされ病耐性の指標とすることはできないと考えられた。感染細胞数は実験ごとに数値の違いが大きかった。そのため、感染細胞数について品種間で有意な差がみられなかった。しかし、試験回別の感染細胞数の傾向はほぼ同様であった。赤ぐされ病相対感染指数ではアオクビと佐賀 8 号の間に有意な差が認められた。これは、赤ぐされ病相対感染指数が各試験回別の各品種の感染細胞数を U-51 の感染細胞数で除した数値であることから各試験回の数値のばらつきが小さくなったためと考えられる。このことから、品種間の赤ぐされ病耐性の比較には赤ぐされ病相対感染指数を用いるのが適当であると考えられた。

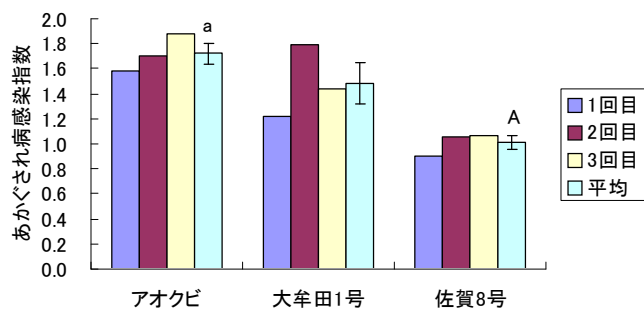


図 4. 品種別赤ぐされ病感染指数
同じアルファベットの大きい文字と小さい文字間で有意差あり

関連報文

平成 20 年度漁場環境・水産資源持続的利用型技術開発事業報告書

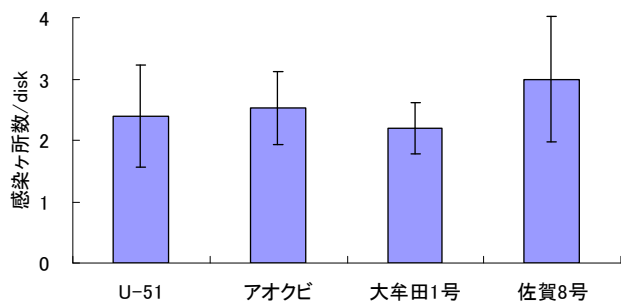


図 2. Disk 1 枚あたりの品種別の感染箇所数

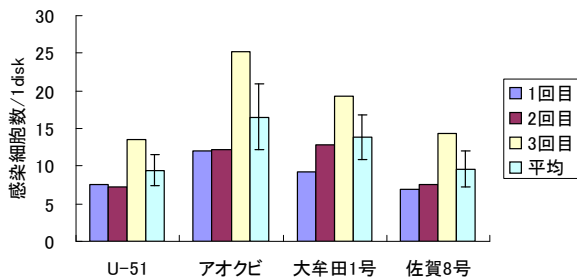


図 3. Disk 1 枚あたりの品種別の感染細胞数