HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	マコンブ種苗糸赤変原因菌Alteromonas sp.の北海道沿岸における分布
Author(s)	山田, 毅史; 吉水, 守; 絵面, 良男; 木村, 喬久
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 41(4), 221-226
Issue Date	1990-11
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/24067
Type	bulletin (article)
File Information	41(4)_P221-226.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北 大 水 産 彙 報
41(4), 221-226. 1990.

マコンブ種苗糸赤変原因菌 *Alteromonas* sp. の北海道沿岸における分布

山田　毅史*・吉水　守*・絵面　良男*・木村　喬久*

Distribution of *Alteromonas* sp., the Red-spot Causative Agent on the Culture Bed of Makonbu *Laminaria japonica*, in Coastal Areas of Hokkaido

Kiyoshi YAMADA*, Mamoru YOSHIMIZU*, Yoshio EZURA*
and Takahisa KIMURA*

Abstract

From June 1988 to February 1989, with exception of the Tokachi and Kushiro regions, sampling of surface seawater was conducted around Hokkaido shores to investigate distribution of the *Alteromonas* sp.. The *Alteromonas* sp. is known to be the causative agent of red-spot phenomenon on the culture bed of artificially cultured makonbu sporophytes.

At the Oshima Peninsula, this marine bacterium was detected from early July to mid-January at average water temperature of 16.4°C and 5.4°C, respectively.

From August to October, the bacterium appeared in high frequency in this area. Furthermore, this bacterium was detected in many sampling sites in Hokkaido from July to October.

However, this bacterium was not detected in any samples taken during the month of February. Thus, the present finding shows that the *Alteromonas* sp. is not only located in makonbu cultivation area in Funka Bay, but around Hokkaido shores as well.

緒　　言

室内培養中の促成マコンブ種苗に発生する赤変病害の原因菌は *Alteromonas* 属の海洋細菌でプロデギオシン様赤色色素並びに溶菌酵素を産生する特異な性状を有している (絵面ら, 1988b)。Yumoto et al. (1989a) は噴火湾沿岸のマコンブ養殖海域における本病害原因菌 *Alteromonas* sp. の分布調査を行ない, 本原因菌が水温 13°C 以上となる 6 月下旬頃から検出され始め, 8～9 月には調査全域から高率に検出されたが, その後水温の低下とともに検出率も低下し, 冬季から春季にかけて検出されなくなったと報告している。さらに同海域における水塊の年変遷と本原因菌の変動との関係から, 本原因菌が同湾に常在している可能性を推論している。

ところで, 本原因菌はマコンブ種苗採苗用の母藻に付着して種苗培養水槽内に侵入することが明らかにされているが, 本原因菌の諸性状からは本菌がマコンブの生活史に密接した生態を有しているとは考え難い (絵面ら, 1988b ; Yumoto et al., 1989a)。そこで本研究ではマコンブ養殖海域以外に調査域を広げ, 本原因菌の分布並びに菌数の年変動について調べた。

* 北海道大学水産学部微生物学講座
(*Laboratory of Microbiology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, 041, Japan*)

材料および方法

試料 1988年6月から1989年2月まで渡島半島西部沿岸10ヶ所（乙部，江差-1, -2, 大崎，江良，折戸浜，白神，知内，茂辺地，七重浜）および東部沿岸11ヶ所（石崎，日浦，恵山，尾札部，川汲，安浦，臼尻-1, -2, 大船，鹿部，蛯谷）の定点において毎月1回ずつ沿岸表面水を採取した。その他に1988年9月を中心にFig. 2に示す北海道内34ヶ所の沿岸表面水計47検体を採取した。試料は滅菌プラスチック容器で直接採取し，函館近郊の地点で採取した試料は氷冷して実験室に持ち帰り，直ちに実験に供した。遠隔地の試料は本原因菌検出用の *Escherichia coli* 生菌を含む軟寒天でコーティングした糸巻スライド（Yumoto et al., 1989a）を入れた容器に採取し，氷冷することなく実験室に輸送または持ち帰り，下記の大型試験管に移し，本原因菌の検出を行なった。なお1989年2月に渡島半島各定点から採取した試料については400 mlを0.45 μm孔径のフィルター（ミリポア製HAタイプ）で濾過し，フィルターを滅菌天然海水40 mlに加え，ホモジナイズしたものを試料原液として供試した。

本原因菌の検出および菌数測定 本原因菌の検出はYumoto et al. (1989a) の方法に従って行なった。すなわち上記の糸巻スライドを入れた大型試験管に試水40 mlを入れ，20°Cで7日間培養後，試料液を捨て，滅菌天然海水40 mlを加えてさらに7日間培養した。この間に糸巻スライドが赤変したものを陽性とした。なお，本原因菌の赤色色素産生量は塩化ナトリウムと鉄の存在下で増強される（未発表データ）ことから，1988年9月24日以降の試料には補強液（クエン酸鉄アンモニウム0.36 g，塩化ナトリウム18 g，天然海水1,000 ml）1 mlを試水40 mlに添加した。本原因菌の生菌数測定は次の方法で行なった。小型試験管に強化海水（クエン酸鉄アンモニウム0.01 g，塩化ナトリウム5.0 g，天然海水1,000 ml）を1.8 mlずつ分注し，これに *E. coli* 生菌を含む軟寒天でコーテングしたクレモナ糸（長さ約5 cm）を1本ずつ入れたものを培地として用いた。試料の10倍希釈液列を作り，各希釈液を0.2 mlずつ3本の培地に接種し，20°Cで14日間培養し，クレモナ糸の赤変の有無を観察し，赤変陽性試験管数から最確数法（M.P.N., 3本法）により菌数を算出した。

一般生菌数の測定 試料の10倍希釈液列の各希釈液0.2 mlをCAM培地平板（Yumoto et al., 1989a）表面に塗抹し，20°Cで7日間培養して一般生菌数を求めた。

結　　果

渡島半島沿岸における本原因菌の検出

渡島半島西部沿岸定点10ヶ所，東部沿岸定点11ヶ所の各調査日毎のそれぞれの平均水温および本原因菌検出試料数をFig. 1に示した。6月の調査時の西部沿岸域の平均水温は12.5°C，東部の平均水温は9.9°Cでいずれの定点からも本原因菌は検出されなかった。しかし，7月には平均水温が西部で19.0°C，東部で16.4°Cと上昇し，西部地域の7ヶ所，東部地域の3ヶ所で本原因菌が検出された。なお，本原因菌の検出された10定点での最低水温は14.5°Cであった。8月から10月まではほとんどの定点で本原因菌が検出された。11月には西部沿岸域の平均水温は10.7°Cと低下したが本原因菌は8ヶ所から検出され，東部沿岸域の平均水温は8.4°Cで7ヶ所から検出された。その後12月から2月にかけて西部沿岸域の平均水温は6°C前後で推移し，水温の変動は少なかったが，12月に4ヶ所，1月に5ヶ所から本原因菌が検出された。しかし2月には全く検出されなくなった。一方，東部沿岸域では12月の平均水温7.7°Cから2月の3.2°Cまで徐々に低下し，検出定点数も12月が3ヶ所，1月が2ヶ所で，2月には検出されなかった。なお，2月の試料については他の月の試水の10倍量を供試したが，それでも本原因菌は検出されなかった。以上のように西部

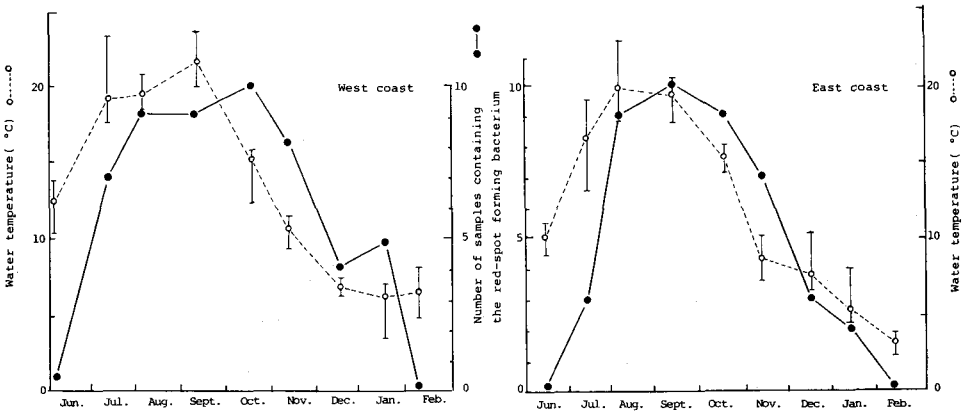

Fig. 1. Changes in average water temperature and number of samples containing the red-spot forming bacterium at 10 stations along the west coast and 11 stations along the east coast of Oshima Peninsula in 1988-1989.
West coast stations: Otobe, Esashi-1, Esashi-2, Ohsaki, Era, Oritohama, Shirakami, Shiriuchi, Moheji and Nanaehama.
East coast stations: Ishizaki, Hiura, Esan, Osatsube, Kakkumi, Yasuura, Usujiri-1, Usujiri-2, Oofune, Shikabe and Ebiya.

Table 1. Seasonal variation in water temperature, viable counts of general bacteria and the red-spot forming bacterium at Ohsaki station in the west coast and Usujiri-1 station in the east coast of Oshima Peninsula.

Ohsaki st.				Usujiri-1 st.			
Sampling date	Temp. (°C)	Viable bacterial counts (C.F.U./ml)	M.P.N. of the organism (/100 ml)	Sampling date	Temp. (°C)	Viable bacterial counts (C.F.U./ml)	M.P.N. of the organism (/100 ml)
7 Jun. '88	10.8	4.1×10^3	–	13 Jun. '88	9.3	1.4×10^5	–
5 Jul.	18.7	1.8×10^3	+	6 Jul.	16.5	1.6×10^4	–
1 Aug.	18.8	1.2×10^4	–	2 Aug.	20.3	4.1×10^3	20
8 Sept.	21.5	1.5×10^3	15	9 Sept.	18.8	4.1×10^3	220
13 Oct.	15.6	1.8×10^4	450	14 Oct.	15.1	8.0×10^3	75
10 Nov.	11.6	3.6×10^3	20	11 Nov.	8.7	1.3×10^3	35
15 Dec.	7.0	2.3×10^3	110	16 Dec.	6.7	1.7×10^4	75
12 Jan. '89	6.3	5.0×10^2	45	13 Jan. '89	4.3	6.0×10^3	–
9 Feb.	7.6	1.0×10^3	–	10 Feb.	3.0	4.9×10^3	–

+ ; The organism was detected but did not be enumerated.
– ; The organism was neither detected nor enumerated.

沿岸域と東部沿岸域での水温と本原因菌検出定点数はほぼ同様の変動を示したが，全般的に水温が高く経過した西部沿岸域で長期間にわたり高率に本原因菌が検出される傾向が認められた。

渡島半島沿岸における本原因菌の菌数

渡島半島の各定点において一般生菌数および本原因菌の菌数を測定したが，そのうち西部沿岸定点の一例として大崎，東部の一例として臼尻-1 定点の結果を Table 1 に示した。本原因菌の菌数は大崎で 10 月に 450/100 ml，臼尻-1 で 9 月に 220/100 ml と最大値を示した。この傾向はそれぞれの地区の定点でも同様で，西部沿岸域では江差-1 において 10 月に 1,200/100 ml，東部では大船で 9 月に 1,200/100 ml と本調査における最大値を示した。本原因菌の菌数変動は本菌検出率の変動とほぼ同様の傾向を示した。一方，一般生菌数は西部沿岸域では $2.0\times10^2\sim4.5\times10^4$/ml，東部では $3.0\times10^2\sim1.5\times10^5$/ml の範囲で変動した。しかし一般生菌数の変動と本原因菌の菌数あるいは検出率との間に有為の関係は認められなかった。

Table 2. Detection of the red-spot forming bacterium in coastal area of Hokkaido during 1988.

Place	Date	Temp. (°C)	Detection of the organism	Place	Date	Temp. (°C)	Detection of the organism
Kennichi	13 Jun.	13.0	−	Tomamae	24 Sept.	20.5	+
Nagaiso	13	14.0	−	Teshio	24	19.6	−
Yamakoshi	13	11.0	−	Bakkai	24	18.0	−
Kennichi	7 Jul.	17.5	+	Wakkanai	24	18.2	+
Nagaiso	7	17.5	+	Souya P.	24	17.0	+
Yamakoshi	7	19.0	+	Iwaobetsu	27	15.8	+
Nagaiso	2 Sept.	21.9	−	Rausu	27	16.1	−
Abashiri	4		−	Ichani	27	15.5	+
Shari	5		+	Abashiri	29	17.2	+
Ichani	6		−	Kerochi	29	19.2	−
Ryuzin P.	6		+	Saru	30	17.5	+
Shizukari	7		+	Horonai	30	17.4	+
Mukawa	7		−	Rebun	28 Oct.	14.0	−
Kumaishi	12	21.9	−	Shiribetsu	28	11.5	−
Shiribetsu	16	19.2	−	Yakumo	28	13.0	+
Shimamaki	16	21.6	+	Suttsu	28	13.5	+
Motta P.	16	21.9	+	Shari	24 Nov.	5.5	−
Setana	16	21.9	+	Shizukari	27	8.2	−
Momonai	18	20.9	+	Mukawa	27	9.5	−
Mourai	18	19.7	−	Monbetsu	28		−
Hamamasu	18	19.5	−	Oshamanbe	27 Dec.	3.5	−
Ofuyu	18	19.7	+	Shiribetsu	27	6.0	−
Shaguma	19	20.5	−	Suttsu	27	6.0	
				Yamakoshi	27	6.0	−

Fig. 2. Location of sampling sites and detection of the red-spot forming bacterium. Closed circle indicates detection of the red-spot forming bacterium. Open circle indicates non-detection of the bacterium.

他の北海道沿岸域における本原因菌の検出

上記の 21 定点以外の 34 地点における本原因菌の検出結果を Table 2 および Fig 2 に示した。本原因菌は 7 月から 10 月までの間に北海道各地の 47 試料中 21 試料から検出された (Table 2)。特に 9 月には 29 試料中の半数以上の 16 試料から検出された。また検出地点も特定の地域に限定されることなく，本原因菌が広範囲に分布していることが明らかとなった (Fig. 2)。

考　　察

マコンブ種苗糸赤変原因菌 *Alteromonas* sp. は種苗用母藻に付着して種苗培養水槽に侵入する。培養水槽内では他の細菌群の増殖の後に，本原因菌がそれらの細菌細胞を溶菌利用して急増し，本原因菌の産生するプロデギオシン様赤色色素によって種苗糸の赤変が生じ，マコンブ芽胞体が脱落する，すなわち芽落ち現象を呈する (絵面ら，1988a, b)。これらのことから当初は本原因菌がマコンブの生活史に関連した生態を有しているものと考えた。しかしながら，本原因菌はコンブ細胞構成成分のマンニトール，ラミナリン，フコイダン，セルロース，アルギン酸などを分解せず，マコンブ葉体から本原因菌が検出される場合も成熟した母藻葉体の先枯れ部分からのみに限定されていた (Yumoto et al., 1989a)。さらに本原因菌の増殖あるいは生存に他の細菌細胞が重要な役割を有し，特に本原因菌の増殖の場は細菌が集積している場所と考えられている (Yumoto et al., 1989b)。

本報で定期的調査の対象とした渡島半島のうち，東部特に噴火湾沿岸はマコンブ養殖の盛んな地区である。この沿岸域での本原因菌の検出結果はマコンブ養殖がほとんど行なわれていない西部沿岸域の結果とほぼ同様であった。さらに高水温期の 9 月にはコンブ養殖の有無とは関係なく北海道沿岸の各地から本原因菌が分離された。以上のことから，本原因菌の分布，生態はマコンブ養殖とは直接関連性がないものと考えられる。ただ種苗用の天然産母藻を採取する時期が沿岸

域で本原因菌の菌数が最高となる時期と合致し，本原因菌で汚染された母藻を種苗用としているために本病害が発生すると推察される。

なお，本報の調査結果並びに Yumoto et al. (1989a) の結果を総合すると本原因菌は沿岸域において次のような年変動をしているものと考えられる。春季から夏季への水温上昇期において，水温が本原因菌の発育下限温度 (10°C) 以上となると増殖を開始し，約 13°C 以上となる頃に検出限界 (10/100 ml) 以上に達する。その後，さらに水温が上昇するとともに菌数が増加し，最高水温に達する時期あるいはその後わずかに水温が低下する時期に菌数が最高値を示す。水温が 10°C 以下に低下すると本原因菌は増殖せず，時間の経過とともに検出限界以下の菌数となる。なお，2 月の試料については他の月の 10 倍量を供試したが本原因菌を検出できなかった。これまでにも冬季から春季にかけて，これらの沿岸域において本原因菌の検出を試みてきたが全く検出されず，本原因菌が沿岸域に常在するのか，あるいは海流等によって流入してくるのかは不明である。今後，さらに検出感度の高い方法を考案して本原因菌の生態を解明する必要がある。

謝　　辞

本研究の試料採集にあたり多大のご協力を頂いた北海道さけ・ます孵化場野村哲一博士に衷心より感謝の意を表する。

文　　献

絵面良男・川端美樹・宮下富美江・木村喬久 (1988a) 促成マコンブ種苗培養水槽中の細菌群の変動について。日水誌，**54**, 655-663.

絵面良男・山本啓之・木村喬久 (1988b) 促成マコンブ種苗糸赤変原因菌の分離，日水誌，**54**, 665-672.

Yumoto, I., Y. Ezura and T. Kimura (1989a) Distribution of the *Alteromonas* sp., the causative agent of red-spots on the culture bed of makonbu *Laminaria japonica*, in the coastal area of Funka Bay. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 453-462.

Yumoto, I., K. Yamaguchi, K. Yamada, Y. Ezura and T. Kimura (1989b) Relationship between bacterial flora and occurrence of the *Alteromonas* sp., the causative agent of red-spots on the culture bed of makonbu *Laminaria japonica*, in the coastal area of Funka Bay. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1907-1914.