



Title	大槌湾サケ・マス海面養殖海域の微生物学的調査
Author(s)	絵面, 良男; 山本, 啓之; 吉水, 守 他
Citation	東京大学海洋研究所大槌臨海研究センター報告, 6, 51-62
Issue Date	1980
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/39474
Type	journal article
File Information	yoshimizu-15.pdf



大槌湾サケ・マス海面養殖海域の微生物学的調査

絵面良男・山本啓之・吉水 守・田島研一・木村喬久

Microbiological observation on the estuarine environment of
salmon cage culture in Otsuchi Bay

Yoshio EZURA¹⁾, Hiroyuki YAMAMOTO¹⁾,
Mamoru YOSHIMIZU¹⁾, Kenichi TAJIMA¹⁾ and Takahisa KIMURA¹⁾

近年、東北地方太平洋沿岸を中心にギンマス *Oncorhynchus kisutch* の海面養殖が行われるようになり、またサケ *O. Keta* 稚魚の放流前短期海水飼育試験も各地で試みられている。これらの海面養殖において大量の残餌、排泄物による環境の富栄養化や養殖魚の疾病多発など多くの問題が派生することはすでにハマチなどの養殖で明らかにされている。しかしながら、これまで魚介類海面増養殖に伴う環境変化の微生物学的観点からの調査はほとんどなされていないと言っても過言ではない。

そこで著者らは岩手県大槌湾および船越湾吉里吉里で試験的に開始されたギンマス海面養殖海域を対象として、海面養殖に伴う海水環境の変化を微生物学的に把握するとともに、魚病発生の有無ならびに、特にこれら海面養殖において多発する（江草，1978）と言われているビブリオ病原原因菌を中心に魚類病原菌の生態調査を実施し、魚病対策ならびに養殖環境保全の資料を得ることを目的として本研究に着手した。本報では1979年4月から11月にかけて4回にわたり、大槌湾7地点および船越湾吉里吉里3地点において表面水、底層水、

底泥、動物プランクトンなどの試料を採取し、さらに養殖魚および野生魚も供試し、これら試料について生菌数の測定および分離菌の同定を試みたので、現在までに得られた結果を報告する。

実験方法

試料採取 大槌湾に設定した図1に示す定点1～7において1979年4月17日、7月13日、9月12日、11月20日の4回にわたり、また船越湾に設定した定点8～10において同年4月18日、7月13日、9月12日の3回にわたり試料を採取した。すなわち各定点において、表面水は300 ml容滅菌ポリエチレン瓶で、水深10 m水および底層水はJ-Z式細菌採水器（Zobell 1941）を用いて無菌的に採取した。また動物プランクトンネット（NGG-54）を用いて10 mの垂直引き



図1 大槌湾および船越湾調査定点。

1) 北海道大学水産学部微生物学講座，〒041 函館市
海町3丁目1の1
Laboratory of Microbiology, Faculty of Fisheries,
Hokkaido University, Minato-cho 3-1-1,
Hakodate, Hokkaido

により動物プランクトンを採取するとともに、定点1〜3では小型採泥器（エクマンバージ型）を用いて底泥試料を採取した。さらに定点3に設置されてある生簀で海面飼育中のサケおよびギンマスならびに蓬萊島付近で採捕したアイナメ *Hexagrammos otaki*, スジアイナメ *H. octocephalus* などの野生魚も供試した。なお1979年4月17日、9月12日、11月20日の試料採取日に定点1〜7においてSTDメーター（マーテック社製）を用いて、水温および塩分を測定した。

一般生菌数、大腸菌群数および *E. coli* 菌数

海水および底泥試料は滅菌海水で適宜希釈し、その0.2 mlずつを海水培地〔ポリペプトン（第五栄養製）5 g, プロテオースペプトン（ディフコ製）1 g, 酵母エキス（第五栄養製）1 g, 肉エキス（塩大製）1 g, 寒天（和光純薬製）15 g, 75% HERBSTの人工海水（中村, 1957）1 L, pH 7.8〕平板に表面塗抹した。動物プランクトンは径8 μ のフィルター（ミリポア製, SCタイプ）で捕集し、30 mlの滅菌海水で洗浄後、フィルターを秤量し、滅菌海水10 mlを加え、ストマッカー（コロオス製80型）でホモジナイズしたものを原液とし、適宜希釈して海水培地平板に塗抹した。また供試魚の腸管を無菌的に摘出し、腸内容物を取り出し秤量後、滅菌人工海水で適宜希釈後、海水培地平板に塗抹した。これらの塗抹平板は20℃、7日間培養後、生菌数を測定した。次に各定点の表面水を乳糖ブイヨンに接種し、37℃ 48時間培養し、最確数（MPN）法により大腸菌群数を求め、さらに同着地陽性管からEC培地（栄研製）に移植し、44.5℃、48時間培養後 *E. coli* 菌数のMPNを求めた。

菌の分離 定点1, 2, 3, 5, 7および9の表面水、底層水、底泥、動物プランクトンおよび供試魚腸内容物の生菌数測定平板培地上的集落を各試料平板当たり30個ずつ釣菌し、純粋分離を行って供試菌とした。

***Vibrio* 属細菌の増菌選択分離** 上記各試料原液1 mlをBS培地（栄研製, シュクロース1%およびグルコース0.2%添加）に接種し、25℃、72

時間培養後、BTBティンボール寒天培地（ニッスイ製薬製）に塗抹し、25℃、48時間培養後、形態の異なる集落を釣菌し、海水培地で純粋分離を行った。またビブリオ病の疑われる供試魚の患部をBTBティンボール寒天培地に塗抹し、同様にして分離菌を得た。

分離菌の性状検査および同定 分離菌をMOF培地（LEIFSON 1963）に接種し、20℃、7日間培養後、グルコースを嫌氣的に分解するものを選び出し、以下の性状を常法（Cowan 1974, 坂崎1967）により調べた。グラム染色、運動性、鞭毛形態、オキシダーゼ、発光、塩類要求性、グルコースからのガス産生、シュクロース分解、インドール産生、アルギニンおよびリジン脱炭酸酵素、硝酸塩還元、カゼイン水解、デンプン水解、セラチン液化、0°, 5°, 37℃での発育などの性状を調べた。なお特別の場合を除き、供試培地は人工海水で作製し、培養は20℃で行った。菌の同定はBergey's manual 第8版（Buchanan and Gibbons 1974）および絵面（1976）を参照して、図2に示す簡易同定法を作り、これに従って同定した。さらに同図でGroup Aの *V. anguillarum* と同定されたものを絵面から（1980）の *V. anguillarum* の鑑別性状と比較し、*V. anguillarum* phenon Iと異なるものを *V. anguillarum* 類似菌とした。以上のごとくして *V. anguillarum* と同定された菌株については、田島ら（1979）の方法に従って、抗 *V. anguillarum* 血清を用いてO血清型別を行った。

結 果

ギンマス海面養殖域の概要 大槌湾のギンマス海面養殖生簀は大槌川河口近くの大槌港防潮堤外側の水深約15〜17 mの地点に設置されている。毎年11月中旬に淡水飼育により体重150〜200 gになったギンマス種苗をこの生簀に移入し、翌年の7月中旬まで約8ヶ月間海面養殖を行う。またギンマス養殖生簀に接して、放流前のサケ稚魚の短期飼育試験用生簀も設置される。本調査の定点3はギンマス養殖生簀に接した地点に設けた。水温、塩分測定の結果（表1）、定点3は河口近

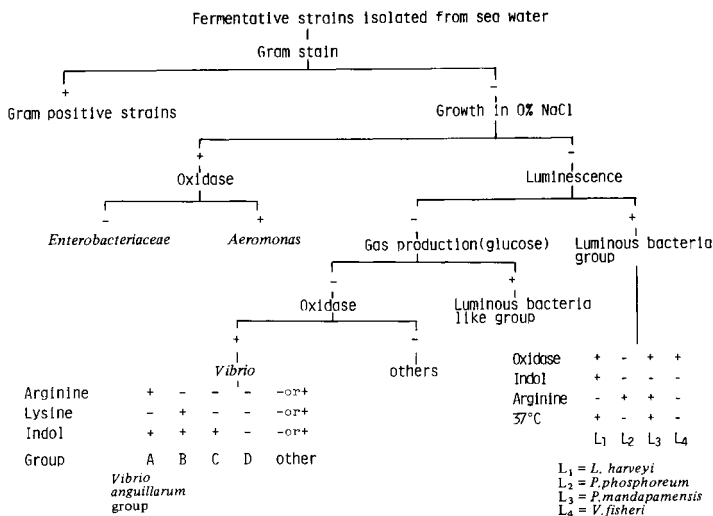


図2 海水から分離される通性嫌気性菌の簡易同定法。

くであるにもかかわらず、水深1～2m以深では比較的塩分濃度が高く、水深による温度差も少なく、外洋水がここまで達しており、そのため河川水の流入による水温、塩分の急激な変動はごく表層のみに限られているものと推察される。一方船越湾吉里吉里のギンマス養殖生簀の設置場所は吉里吉里漁港防潮堤外側、水深約9mの地点で、ここに定点9を設けた。なお付近に流入河川はない。

大腸菌群数および*E. coli* 菌数 大槌湾および船越湾各定点の深度、表面水の水温、塩分、大腸菌群数、*E. coli* 菌数および一般生菌数の測定結果を表2に示した。表面水の塩分分布をみると大槌川、小槌川が流入する大槌川河口の定点1から2の表面は低塩分水がおおい、定点3にもその影響がみられる。また大槌川、小槌川河川水の他に鵜住居川の影響を受ける定点4は定点3よりも低塩分水が表面に存在し、定点6でも11月に30.7‰と低かった。水温分布は定点1が流入水の影響

を受けて変動する他は各定点あるいは水深による温度差はみられなかった(表1)。

大槌湾における大腸菌群数および*E. coli* 菌数はいずれの採水時期においても、大槌川河口の定点1で多く、明らかに陸からの汚染が考えられ、ギンマス養殖生簀の設置点・定点3でも、大腸菌群数が20～790/100mlで、*E. coli* 菌数も7月と11月にそれぞれ20、40/100ml計数された。しかし、大槌川、小槌川は勿論、鵜住居川の影響も考えられる定点4では大腸菌群が意外に少なく、*E. coli* 菌数は全く計数されなかった。一方、湾中央部・湾口部の定点5, 6, 7で、時折、大腸菌群数の高い値が観察され、かつ*E. coli* 菌数も定点5と7で計数された。他方、船越湾の定点8, 9, 10では大腸菌群数および*E. coli* 菌数が大槌湾に比較して少く、7月に定点8で比較的高い値を示したのみであった。

一般生菌数 大槌湾表面水の一般生菌数は表1

表1 大根湾各定点における塩分および水温

水深 (m)	1979. 4. 17. 定 点							1979. 9. 12 定 点						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
0	17.0	31.0	32.0	31.7	29.5	32.1	32.2	19.5	25.0	32.0	32.5	32.4	32.2	32.4
1								33.5	34.0	33.2	32.5	32.7	32.7	32.9
2								33.5	34.0	34.0	33.1	33.3	33.3	33.2
塩分 (‰)								33.5	34.0	34.0	33.6	33.4	33.4	33.2
3									34.0	34.0	33.6	33.5	33.5	33.6
5	32.0	32.5	33.0	33.4	32.6	33.0	32.8		33.5	33.5	33.7	33.6	33.6	33.6
10		33.5	33.3	33.7	33.2	33.2	32.8							
15				33.8	33.5	33.5	33.0				33.5	33.7	33.6	33.7
20					33.2	32.8	33.2					33.7	33.6	33.5
0	6.8	6.2	5.7	6.4	6.2	5.8	5.8	21.5	22.9	23.5	23.0	23.4	22.7	22.8
1								23.6	23.5	23.6	23.2	23.3	23.1	22.9
2								23.5	23.4	23.4	23.3	23.3	23.2	22.9
水温 (°C)								23.4	23.4	23.4	23.2	23.2	23.2	23.0
3									23.2	23.3	23.1	23.1	23.1	23.2
5	5.8	5.4	5.5	5.2	5.0	5.0	5.4		23.0	23.0	23.0	23.0	23.1	23.0
10		6.1	6.1	5.7	5.5	5.5	5.2							
15				6.4	6.1	6.0	5.5				22.9	22.9	23.0	22.6
20					5.8	5.6	5.6					22.6	23.0	22.6

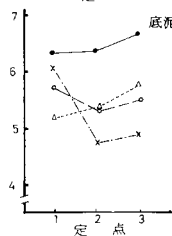
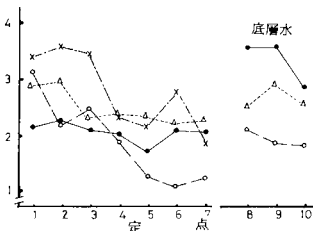
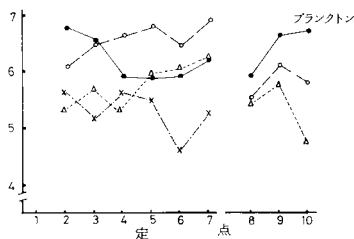
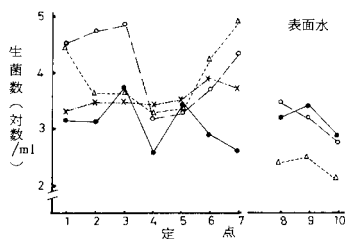


図3 表面水、底層水、動物プランクトンおよび底泥の一般生菌数の変化。

(4月●—●, 7月○—○, 9月△—△, 11月×—×)

1979. 11. 20.							
定 点							
1	2	3	4	5	6	7	
14.5	25.6	31.3	27.8	32.7	30.7	32.3	
32.9	33.6	33.8	32.7	33.5	33.4	33.1	
32.6	33.7	33.9	33.7	33.9	33.9	33.8	
31.5	33.9	33.9	34.0	34.0	34.0	34.0	
	33.7	33.9	34.0	34.0	34.0	34.0	
	33.5	33.9	33.7	34.0	34.0	33.9	
			33.1	33.9	33.9	34.0	
				34.0	33.9	33.9	
14.4	16.6	17.7	15.2	15.8	15.0	15.1	
17.9	18.2	18.3	17.3	17.6	17.8	16.6	
17.9	18.3	18.3	18.4	18.5	18.3	17.6	
17.8	18.2	18.3	18.5	18.5	18.3	17.7	
	18.0	18.0	18.2	18.3	18.2	17.6	
	18.0	18.0	18.0	18.0	17.9	17.6	
			18.0	17.8	17.8	17.5	
				17.8	17.8	17.2	

に示すように $3.9 \times 10^2 \sim 9.9 \times 10^4/\text{ml}$ の範囲の値を示した。図3に示したごとく大槌川河口付近の定点1, 2, 3で比較的高い値を示し、特にギンマス養殖生簀設置点・定点3ではギンマス養殖期間中の4月および7月には他の定点に比べ最高値を示した。また定点4および5は他の定点に比較して、試料採取時期による変動が少なく、かつ生菌数が定点4で少ない傾向がみられた。一方湾中央から湾口の定点6および7では7月、9月、11月には定点4か5よりも生菌数が多く、特に9月には定点で $9.9 \times 10^4/\text{ml}$ と表面水での最高値を示した。船越湾表面水の一般生菌数は大槌湾に比べ低い傾向がみられた。このような表面水における一般生菌数の分布は大腸菌群数の分布と良く一致する傾向がみられた。

底層水の一般生菌数は表面水のそれよりも一般に少なく、その分布状態も異なっていた(図3)。すなわち、大槌川河口付近で高く、湾口に向かって徐々に減少する傾向が明らかであった。なお船越湾では試料採取時期により変動がみられ、一般に比

較的高い値を示した。

動物プランクトンの一般生菌数は $4.8 \times 10^4 \sim 1.1 \times 10^7/\text{g}$ の範囲で、前述の表面水一般生菌数に比較し、極めて高い値を示した(図3)。その生菌数の変動は試料採取定点の差よりも採取時期の差が大きい傾向が観察され、特に7月が高く、これについて4月も高い値を示した。

底泥試料の採取は大槌川河口付近の定点1と2および養殖生簀設置点・定点3でのみ行ったが、これらの一般生菌数は前述の動物プランクトンのそれとほぼ同程度であった。陸からの流入物の影響を直接うける定点1と生簀のある定点3で高い傾向がみられた。

分離通性嫌気性菌の同定およびその分布 定点1, 2, 3, 5, 7および9の表面水、底層水、底泥および動物プランクトンなどの試料ならびに養殖魚と野生魚から総数2611株の分離菌を得た。分離菌株中、グルコースを嫌氣的にも分解する通性嫌気性菌931株の同定結果を定点別に整理したのが表3であり、試料採取時および試料別に整理したのが表4である。分離した通性嫌気性菌のうち、グラム陽性菌は大槌川河口定点1で最も多く分離され、湾口部へと順次減少する傾向がみられた。また、これらグラム陽性菌はいずれの時期も底泥および底層水に多く、表面水および動物プランクトンでは少く、供試魚からは全く分離されなかった。

一方、グラム陰性通性嫌気性菌は表面水、底層水、底泥、動物プランクトンなど海水環境からの分離総数2168株中439株(20.2%)であったのに対し、供試魚の腸内容物では分離総数235株中210株(89.4%)と非常に高率を占めた。これらグラム陰性通性嫌気性菌のうち、発育にNa塩を必要としないEnterobacteriaceaeおよびAeromonasの出現の傾向は試料あるいは試料採取時との関連性は認められなかったが、分布状態をみるとグラム陽性通性嫌気性菌と同様に、大槌川河口に近い定点で多く分離される傾向が認められた。次にV. anguillarumと同定されたものは海水環境試料から26株、供試魚腸内容物から29株、海水環境

表2 試料採取日、定点における水深、表面水の水温、
塩分、大腸菌群数、E C菌数および一般生菌数

定点	水深 (m)	表面水温 (℃)	表面塩分 (‰)	表面水 大腸菌群数 (/100ml)	表面水 EC菌数 (/100ml)	表面水 一般生菌数 (/ml)	
4月17日	1	5.0	6.8	17.0	330	20	1.4×10^3
	2	11.0	6.2	31.0	78	0	1.3×10^3
	3	15.0	5.7	32.0	20	0	5.7×10^3
	4	17.0	6.4	31.7	110	0	3.9×10^2
	5	30.0	6.2	29.5	490	78	3.0×10^3
	6	41.0	5.8	32.1	110	0	8.0×10^2
	7	47.0	5.8	32.2	45	0	4.3×10^2
4月18日	8	9.5	6.7		78	0	1.7×10^3
	9	9.0	6.8		78	0	2.7×10^3
	10	9.8	6.6		0	0	7.8×10^2
7月13日	1	5.0	16.4		2800	490	3.4×10^4
	2	7.0	18.0		16000	790	5.5×10^4
	3	14.0	18.1		790	20	7.5×10^4
	4	22.0	18.2		240	0	1.5×10^3
	5	26.5	18.2		110	0	1.9×10^3
	6	44.5	18.2		230	0	5.2×10^3
	7	51.5	18.2		93	40	2.4×10^4
	8	10.0	18.2		2200	93	3.3×10^3
	9	9.0	18.9		20	0	1.8×10^3
	10	12.2	18.6		20	0	6.6×10^2
9月12日	1	5.0	21.5	19.5	16000	1300	2.5×10^4
	2	10.0	22.9	25.0	230	0	4.7×10^3
	3	14.0	23.5	32.0	45	0	5.1×10^3
	4	19.0	23.0	32.5	0	0	2.2×10^3
	5	28.0	23.4	32.4	20	0	2.5×10^3
	6	41.0	22.7	32.2	1300	0	1.9×10^4
	7	46.5	22.8	32.4	230	45	9.9×10^4
	8	11.0	23.8		0	0	2.6×10^2
	9	9.5	23.7		0	0	3.5×10^2
	10	11.0	23.8		0	0	1.4×10^2
11月20日	1	5.5	14.4	14.5	490	45	1.7×10^3
	2	10.0	16.6	25.6	1300	45	2.4×10^3
	3	12.0	17.7	31.3	790	40	2.7×10^3
	4	17.0	15.2	27.8	230	0	2.7×10^3
	5	25.0	15.8	32.7	130	45	3.5×10^3
	6	41.0	15.0	30.7	1100	0	7.5×10^3
	7	48.5	15.1	32.3	490	0	5.2×10^3

試料のBS培地増菌による14株および供試魚試料の増菌による21株の計90株であった。これらのうち海水環境試料由来の26株は特定の試料あるいは時期に多く分離される傾向はみられなかったが、定点2, 3および5など養殖生簀に近い定点で多く分離される傾向がみられた。しかし船越湾の養殖生簀設置点、定点9からは全く分離されなかった。一方、*V. anguillarum* 類似菌は試料や定点にかかわらず多数分離されることから、海水環境に広く分布しているものと考えられた。

Vibrio Group Cは9月および11月の海水環境試料およびそれらのBS培地増菌により多数分離されたが、供試魚試料からの分離株は少なかった。

Vibrio Group DはGroup Cと異なり、4月および7月の海水環境試料から多く分離され、9月および11月の試料では少なかった。なお *Vibrio* Group Bは分離株数が少く、明確な分布状態は明らかに出来なかった。また発光細菌とその類似菌も海水環境試料からの分離株数が少なく、明らかな分布傾向は認められなかった。しかし、養殖生簀設置点、定点3および9の底層水および底泥から分離されたものが多いことから、これらが養殖魚由来のものであることの可能性も考えられる。

次にサケ稚魚2尾、ギンマス4尾、アイナメ2尾の計8尾の腸内容物から、海水培地で235株分離し、同時に腸内容物のBS培地増菌および明らかに細菌感染症が推定される海面養殖のギンマス21尾の病変患部から72株を分離した。分離菌計307株中278株がグラム陰性通性嫌気性菌で、グラム陽性菌は全く分離されなかった。これら278株の同定結果を表5に示した。供試魚腸内容物のグラム陰性菌構成をみると、海水環境のものとは明らかに異なっていた。すなわち、外見上あるいは解剖所見上健康とみられ、かつ *V. anguillarum* など病原細菌の検出されていないサケ、アイナメおよびギンマス(C-14)では発光細菌 *Lucibacterium harveyi*, *Photobacterium mandapamensis*, *P. phosphoreum*, *V. fischeri* など、発光細菌類似菌株が多数を占めた。一方、腸内容物から *V. anguillarum* の検出されたギンマス2尾(C-13およびF-24)

および *Aeromonas salmonicida* によるせつそう病罹病ギンマス1尾(F-19)の腸内容物では発光細菌の占める割合が減少または発光細菌が分離されなくなり、代って環境水から多く分離される他の菌群が増加する傾向が認められた。

以上の海水環境試料および供試魚から分離され、*V. anguillarum* と同定されたもの90株およびその類似菌124株の性状を表6に示した。なお類似菌124株をさらに *V. anguillarum* phenon I (絵面ら, 1980)の性状とシュクロース分解性のみが異なるもの77株、検査性状中2つの性状で異なるもの22株、それ以上異なるもの25株とに分けて表6に示した。これら分離菌株の同定結果を確認するため、*V. anguillarum* と同定されたもの90株とそれに性状の良く似た類似菌99株について、田島らの方法(1979)に従って *V. anguillarum* O血清型別を行ったところ、*V. anguillarum* と同定された90株のうち30株のみがJ-0-3型に型別された。これら30株はすべて病魚由来株であった。海水環境由来株は全て血清型別不能であった。また類似菌99株も全て血清型別不能であった。

考 察

大槌湾のギンマス海面養殖生簀設置地点は水温塩分測定の結果、外洋水がこの地点まで達しており、河川水流入の影響を受けるのは表層水のみであると推察された。しかしながら、微生物学的調査の結果、定点3において糞便汚染指標細菌である大腸菌群数および *E. coli* 菌数が表層水で時折高くなるのみならず、底層水や底泥から分離した通性嫌気性菌の中に、陸由来と考えられるグラム陽性菌、*Enterobacteriaceae* および *Aeromonas* などが含まれていることなどから、本定点は陸からの影響をかなり受けているものと考えられる。さらに本定点では表面水および底泥の一般生菌数が大槌川河口の定点2よりもむしろ高く、また海産魚由来と思われる発光細菌が他の定点より多く分離されたことなどから、ギンマス養殖による環境水への影響あるいは富栄養化の徴候もわずかながら推察された。大槌湾の定点3に比較すると、同

表3 各定点および供試魚における

	定点1	定点2	定点3	生 質 表面水	定点5	定点7	定点9	小 計	ギンマス 腸内容物
分離菌株数	359	393	454	54	316	327	264	2167	116
グラム陽性菌	37	29	7	0	6	2	0	81	0
グラム陰性菌	54	81	93	22	61	70	58	439	109
<i>Enterobacteriaceae</i>	4	6	2	0	3	1	1	17	0
<i>Aeromonas</i>	7	11	7	0	0	3	3	31	7
<i>V. anguillarum</i>	0	8	7	3	6	2	0	26	29
<i>V. anguillarum</i> 類似菌	7	9	24	11	4	20	10	85	7
Group B	1	1	4	0	2	0	2	10	4
Group C	6	7	12	8	12	11	13	69	4
Group D	20	27	18	0	27	21	5	118	15
Luminous bacteria	1	0	4	0	0	1	4	10	9
Luminous bacteria 類似菌	0	3	6	0	1	4	5	19	31
そ の 他	8	9	9	0	6	7	15	54	3

表4 表面水, 底層水, 底泥および

	4 月					7 月				
	表面水	底層水	底 泥	プランクトン	小 計	表面水	底層水	底 泥	プランクトン	小 計
分離菌株数	169	127	84	135	515	175	123	88	126	512
グラム陽性菌	0	4	13	1	18	3	3	21	1	28
グラム陰性菌	60	33	15	15	123	7	35	28	53	123
<i>Enterobacteriaceae</i>	4	0	1	0	5	0	0	4	0	4
<i>Aeromonas</i>	8	2	1	3	14	1	1	0	0	2
<i>V. anguillarum</i>	1	0	0	1	2	2	8	0	4	14
<i>V. anguillarum</i> 類似菌	4	12	3	3	22	0	2	5	5	12
Group B	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Group C	0	2	5	3	10	0	2	0	4	6
Group D	34	6	4	3	47	3	8	8	34	53
Luminous bacteria	0	6	0	0	6	0	0	0	0	0
Luminous bacteria 類似菌	1	1	0	0	2	0	10	1	0	11
そ の 他	8	4	0	2	14	1	4	10	6	21

通性嫌気性菌構成

サケ 腸内容物	他魚種	小 計	増菌分離	総 計
60	59	235	209	2611
0	0	0	0	81
44	57	210	201	850
0	0	0	0	17
0	1	8	8	47
0	0	29	35	90
0	0	7	32	125
0	1	5	14	29
0	2	6	73	148
0	2	17	14	149
42	33	84	1	95
2	1	34	5	58
0	17	20	19	93

様にギンマス養殖生簀が設置されている船越湾吉里吉里の定点9は大腸菌群数がきわめて少なく、*E. coli* 菌数は全く検出されず、表面水の一般生菌数も少なく、陸由来と考えられるグラム陽性通性嫌気性菌も分離されないなど、陸からの影響が少ない傾向がみられた。これはおそらく付近に流入する大きな河川がないためであろうと考えられる。しかし定点9でも表面水・底層水とも同湾の他の定点8および10より一般生菌数が常に高く経過していることおよび分離菌構成が定点3に類似していることは注目される。

清水・深見(1978)、清水(1978)らは大槌湾海水の細菌学的調査を行い、同湾海水は細菌学的に貧栄養水域が卓越しているが、湾中央から湾奥部は汚濁、富栄養化の徴候を示すことがあると指摘している。本調査においても湾中央の定点6、湾口部の定点7の表面水で大腸菌群数および一般生菌数が他定点より一般に高い値を示した。これは陸からの汚濁および湾奥部の富栄養化した水が表層にそって拡散したものと推察される。

プランクトンの通性嫌気性菌構成

9 月					11 月					総 計
表面水	底層水	底 泥	プランクトン	小 計	表面水	底層水	底 泥	プランクトン	小 計	
167	171	104	148	590	199	147	90	114	550	2167
0	14	7	0	21	1	0	13	0	14	81
7	49	41	11	108	38	27	18	2	85	439
0	0	1	0	1	4	0	2	1	7	17
1	2	9	0	12	1	0	2	0	3	31
0	3	2	0	5	3	2	0	0	5	26
2	10	8	5	25	16	6	4	0	26	85
0	3	1	1	5	2	1	1	0	4	10
1	16	13	3	33	9	9	2	0	20	69
1	5	0	1	7	1	5	4	1	11	118
0	2	2	0	4	0	0	0	0	0	10
0	0	4	0	4	1	1	0	0	2	19
2	8	1	1	12	1	3	3	0	7	54

表 5 供試魚腸内容物

	4 月			7 月		
	サケ稚魚 (No.2) 腸内容物	サケ稚魚 (No.5) 腸内容物	増菌分離 (白サケ2尾) (ギンマス1尾)	ギンマス(C- 13)腸内容 物*	ギンマス(C- 14)腸内容 物	増菌分離 (ギンマス 5尾*)
生 菌 数	1.5×10^6	3.5×10^7		1.0×10^7	5.5×10^6	
分離菌株数	30	30	5	29	29	27
グラム陰性菌	30	14	5	29	29	23
<i>Enterobacteriaceae</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Aeromonas</i>	0	0	1	4	2	4
<i>V. anguillarum</i>	0	0	1	13	0	11
<i>V. anguillarum</i> 類似菌	0	0	2	0	0	5
Group B	0	0	0	0	0	1
Group C	0	0	0	1	0	2
Group D	0	0	0	1	4	0
<i>I. harveyi</i> (L1)**	0	0	0	0	0	0
<i>P. phosphoreum</i> (L2)**	6	3	0	3	1	0
<i>P. mandapamensis</i> (L3)**	24	9	0	2	3	0
<i>V. fischeri</i> (L4)**	0	0	0	0	0	0
Luminous bacteria 類似菌	0	2	0	5	18	0
そ の 他	0	0	1	0	1	0

* 罹病魚 **図2参照

表 6 *V. anguillarum* およびその類似分離菌株の性状

	<i>V. anguillarum</i>		<i>V. anguillarum</i> 類似菌		
	30株	60株	77株	22株	25株
グ ラ ム	—	—	—	—	—
運 動 性	+	+	+	+16	+24
鞭 毛	極	極	極	極13 周 3	極23 周 1
オ キ シ ダ ーゼ	+	+	+	+	+
O F 試 験	F	F	F	F	F
色 素 産 生	—	—	—	—	—
発 光	—	—	—	—	—
0 % NaCl での発育	—	—	—	—	—
ガス(グルコース)産生	—	—	—	—	—
シュクロース分解	+	+	—	+11	+15
インドール産生	+	+	+	+	+
アルギニン脱炭酸	—	+	+	—	+
リジン脱炭酸	—	—	—	—	—
硝酸塩還元	+	+	+	+21	+23
カゼイン水解	+	+	+	+20	+12
ゼラチン液化	+	+	+	+16	+10
デンプン水解	+	+	+	+18	+11
37℃での発育	—	+11	+15	+7	+7
O 血 清 型 別	J-0-3	—	—	—	—

の通性嫌気性菌構成

9 月			11 月			計
アイナメ (F-3) 腸内容物	アイナメ (F-4) 腸内容物	増菌分離 (アイナメ2尾 スジアイナメ 2尾)	ギンマス(F- 19)腸内容 物*	ギンマス(F- 24)腸内容 物*	増菌分離 (ギンマス16 尾*)	
2.8×10^4	6.0×10^5		8.1×10^3	7.3×10^3		
30	29	10	29	29	30	307
30	27	10	23	28	30	278
0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	13
0	0	0	12	4	9	50
0	0	4	2	5	7	25
1	0	3	0	4	1	10
1	1	2	2	1	0	10
1	1	0	0	10	4	21
22	4	0	0	0	0	26
0	0	0	0	0	0	13
3	0	0	0	0	0	41
1	3	0	0	0	0	4
0	1	0	6	2	1	35
0	17	1	0	2	8	30

本調査で採取した種々の試料から分離した多数の菌株のうち、本報で用いた同定法によって *V. anguillarum* と同定されたものが90株で、これらは表面水、底層水、底泥、動物プランクトン、供試魚など種々の試料から分離されている。しかしながら、分離 *V. anguillarum* 90株のうち、田島ら(1979)の *V. anguillarum* O血清型別法により型別された30株はすべて病魚由来株で、海水環境由来株はすべて型別不能であった。

V. anguillarum は海面養殖魚に大きな被害を与えるビブリオ病原菌として知られている(江草 1978)が、海水環境から本菌が分離された例は非常に少ない(Ranson 1978)。今後海水環境由来株について、より詳細な分類学的検討を加えるとともに、病原性なども含めて、魚病原菌との関連性を明らかにせねばならない。

また従来、海産魚の腸内菌叢は環境水の菌叢とは異なり、*Vibrio* 属(Liston 1957, Aiso *et al.* 1968, 奥積・堀江 1969, Sera and Ishida 1972, 吉水ら 1976)や発光細菌(O'Brien and Sizemore 1979,

Ruby and Morin 1979)が主体をなすとされている。本調査の供試魚腸内容物菌叢も約90%がグラム陰性通性嫌気性菌で占められ、健康魚では発光細菌が主体をなし、明らかに海水環境の菌構成とは異なっていた。しかしビブリオ病あるいはせつそう病罹病魚の腸内菌叢は健康魚のものと異なり、不特定の海水環境由来の菌種が卓越する傾向が認められた。

要 約

- 1) 大槌湾表面水の腸内菌叢および一般生菌数は湾奥部(定点1, 2, 3)で常に高い値を示すが、湾中央部(定点6)および湾口部(定点7)でも時折、湾奥部より高い値を示すことが観察された。
- 2) 大槌湾底層水の一般生菌数は湾奥部から湾口部へと順次減少する傾向が観察された。
- 3) ギンマス養殖生簀に近接した定点3の底泥一般生菌数は大槌川河口の定点2の底泥よりも常に高い値を示し、またギンマス養殖期間中の表面水も高い値を示すとともに、海産魚腸内菌叢の主体をな

す発光細菌が海水試料から多く分離されるなど養殖による環境水への影響がうかがわれた。

4) 本調査で用いたグラム陰性通性嫌気性菌の簡易同定法により、*V. anguillarum* と同定されるものが海水環境試料および供試魚から90株分離された。このうち*V. anguillarum* O血清型別法によりJ-0-3型に型別されたものは30株で、いずれも病魚由来株で、残り60株は型別不能であった。

5) 供試魚の腸内容物分離株は約90%がグラム陰性通性嫌気性菌で占められ、健康魚では発光細菌がその主体をなした。

謝 辞

本研究遂行にあたり種々の御高配・御助力を賜った東京大学海洋研究所大槌臨海センター沼知健一博士、芝恒男博士、川村技官はじめ職員各位に謝意を表す。また試料採取に御協力を頂き、さらに貴重な養殖魚の提供を頂いた大槌漁業協同組合・田中組合長、黒沢部長はじめ関係各位に深謝する。

なお、本研究は東京大学海洋研究所大槌臨海研究センター共同利用研究として行ったもので、ここに付記して謝意を表する。

引用文献

- Aiso, K., U. Simidu and K. Hasuo (1968) Microflora in the digestive tracts of inshore fish in Japan. *J. gen. Microbiol.*, **52**: 361-364.
- Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons, eds. (1974) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, pp.340-345.
- Cowan, S.T. (1974) *Manual for the Identification of Medical Bacteria 2nd ed.* Cambridge University Press, Cambridge (エス・テー・コーワン著、坂崎利一訳、医学細菌同定の手引、近代出版、東京、pp183-261)
- 江草岡三 (1978) 魚の感染症、恒星社厚生閣、東京、pp. 101-128.
- 絵面良男 (1976) 厚岸湾より分離した海洋細菌の分類学的研究、学位論文 (北海道大学)
- 絵面良男、田島研一、吉水守、木村喬久 (1980) 魚類 *Vibrio* 属病原菌の分類学的ならびに血清学的検討、魚病研究、14、167-179.
- Leifson, E. (1963) Determination of carbohydrate metabolism of marine bacteria. *J. Bacteriol.*, **85**: 1183-1184.
- Liston, J. (1957) The occurrence and distribution of bacterial type on flatfish. *J. gen. Microbiol.*, **16**: 205-216.
- 中村浩 (1957) 海洋微生物。微生物ハンドブック編集委員会編、微生物ハンドブック、技報堂、東京。pp. 610-623.
- O'Brien, C.H. and R.K. Sizemore (1979) Distribution of the luminous bacterium *Benickea harveyi* in a semitropical estuarine environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**: 928-933.
- 奥藤昌世、堀江進 (1969) 海産魚腸管内の細菌叢について、日水誌、35: 93-100.
- Ranson, D.P. (1978) Bacteriologic, immunologic and pathologic studies of *Vibrio* spp. pathogenic to salmonids (Pr. D. thesis of Oregon State University).
- Ruby, E.G. and J.G. Morin (1979) Luminous enteric bacteria of marine fish: a study of their distribution, densities, and dispersion. *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**: 406-411.
- 坂崎利一 (1967) 培地学各論 (I)、納谷書店、東京、232 p.
- Sera, H. and Y. Ishida (1972) Bacterial flora in the digestive tracts of marine fish-III. Classification of isolated bacteria. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **38**: 853-858.
- 清水潮、深見公雄 (1978) 大槌湾の細菌調査。大槌センター報告、5: 18-19.
- 清水潮 (1978) 大槌湾の細菌調査。大槌センター報告、5: 68-69.
- 田島研一、三井秀敏、絵面良男、木村喬久、吉水守 (1979) 魚病原因菌としての *Vibrio* 属の分類学および血清学的研究-Ⅲ、O血清型の検討。昭和54年度日本水産学会秋季大会講演要旨集 p 100.
- 吉水守、木村喬久、坂井稔 (1976) サケ科魚類の腸内細菌叢に関する研究-Ⅲ。海洋棲息魚の腸内細菌叢。日水誌、42: 875-884.
- Zobell, C.E. (1941) Apparatus for collecting water samples from different depths for bacteriological analysis. *J. Mar. Res.*, **4**: 173-188.