

ノリ病害の細菌学的研究II.

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	藤田, 雄二 ほか3名,
巻/号	38巻6号
掲載ページ	p. 565-569
発行年月	1972年6月

ノリ病害の細菌学的研究—II.

養殖ノリの病害関連細菌類

藤田雄二・銭谷武平・中尾義房・松原孝之

(1971年11月26日受理)

Bacteriological Studies on Diseases of Cultured Laver—II.

Bacteria associated with diseased laver

Yuji FUJITA,* Buhei ZENITANI,* Yoshifusa NAKAO**
and Takayuki MATSUBARA**

In order to ascertain the bacterial role taken in the process of rotting or decaying of cultured laver, 24 strains of bacteria isolated from diseased frond of *Porphyra yezoensis* were studied and identified to the genus level. These bacteria were divided into phenons I, IIa, IIb, III and IV by numerical taxonomy, and were identified as species of the genera *Cytophaga*, *Agarbacterium*, *Beneckea*, *Pseudomonas*, and *Vibrio* respectively.

In vitro, three strains of *Pseudomonas* sp. and two strains of *Vibrio* sp. caused "green spot rotting" like deterioration, and also five strains in the genera *Beneckea* and *Agarbacterium* caused the reddening of frond pieces. The other test strains did not show any noticeable changes in the test pieces of *Porphyra* frond.

先にノリ葉体の緑斑病様の障害を与える細菌類の存在を報告¹⁾したが、有明ノリ漁場には本病以外に細菌が関係する疑いの強い「疑似しろぐされ症」²⁾のような病害も発生した。病害対策上、細菌学的な検討が必要であるが、罹病葉体は細菌汚染が多く、また菌相遷移が著しいため、もし病原菌が関与するとしても、その検出を著しく困難にしている。

ノリ病害と細菌の関係を研究するに当り、著者らはまず罹病葉体から細菌を分離して病害関連細菌の存在を発症試験によつて実験的に証明することに努めた。

その結果、ノリ葉体を侵害、崩壊あるいは壊死変色させる細菌の存在を確認し、またその菌学的性状を明らかにしたので報告する。

実験方法

材料 佐賀県有明ノリ漁場から採取したノリのうち「疑似しろぐされ症(仮称)」「緑斑病(仮称)」「芽いたみ症」などの罹病葉体***から細菌の分離を行なつた。長崎県島原ノリの病葉も一部供試した。試料ノリはいずれもスサビノリ *Porphyra yezoensis* で、細菌の分離は1967-1970年の漁期々間中に行なつた。

細菌の分離方法 前報¹⁾と同様に葉体を処理し、主に ZoBELL 2216 E 培地を分離に使用したが、一部試料については別に *Cytophaga* 寒天³⁾, PRINGSHEIM 培地⁴⁾なども併用した。

葉体に対する分離細菌の接種試験 前報¹⁾に同じ。

細菌の性状試験方法 まず SHEWAN ら⁵⁾の法式で試験したが、OF試験には MOF 培地⁶⁾を用い、

* 長崎大学水産学部 (Fac. Fish., Nagasaki Univ., Nagasaki, Japan)

** 佐賀養殖試験場 (Saga Aqua. Cult. Exp. Sta., Kashima, Saga, Japan)

*** 病名はのり病徴委員会文献 2) に拠つた。

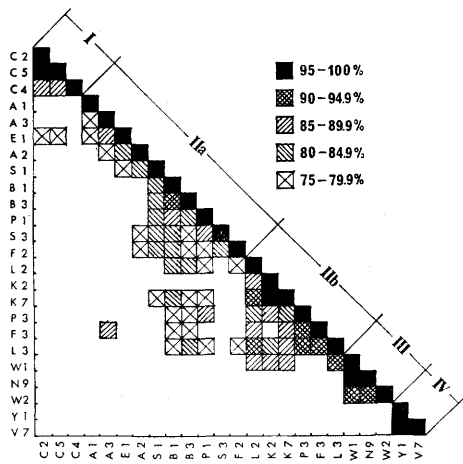


Fig. 1. Similarity values of 24 strains isolated from rotting or decaying *Porphyra* fronds.

あるいは 70% エタノール添加による析出の有無で判定。抗生物質感受性試験；ペニシリン，エリスロマイシン，テトラサイクリン，ノボビオン（栄研製）および硫酸ポリミキシンB（昭和薬品製）の各ディスク使用。

試験培地は 75% 貯蔵海水を用いて調製し，培養温度は 20°C とした。なお，試験方法は特記しないかぎ

KOVACS のオキシダーゼ反応の判定が困難な菌株については Tube 法⁷⁾を併用し，またグルコン酸々は SHAW and CLARK 法で試験した。この外，次の各種性状試験も行った。

発育温度；37°C⁸⁾（細菌の生死も判定）⁵⁾と 42°C⁹⁾。“spreading growth”¹⁰⁾。VP・MR 試験。インドール産生。硫化水素産生；酢酸鉛寒天法。カタラーゼ。ULRICH ミルク。ゼラチン液化。ペプトンからアンモニア産生。ウレアーゼ (RUSTIGIAN and STUART 法)。アミノ酸脱炭酸酵素 (MøLLER 法)。フォスファターゼ¹⁰⁾。炭水化物分解 (HAYWARD 法)¹¹⁾；グルコース，マンノース，ガラクトース，アラビノース，キシロース，ショ糖，乳糖，ラフィノース，セロビオース，マンニトール，イノシトールおよびグリセロール。多糖類分解；デンプン，寒天，アルギン酸¹²⁾，キチン，マンナン，キシラン¹³⁾，ペクチン¹⁴⁾およびセルロース¹⁵⁾。ただしマンナン分解は液化法

Table 1. Characteristics used for the determination of the genera corresponding to phenons I to IV.

Characteristics	Phenons				
	I	IIa	IIb	III	IV
Morphology	Rods	Rods	Rods	Rods	Rods
Gram stain	-	-	-	-	-
Motility by flagella	-*	MF	MF	PF	PF
Kovacs oxidase	+	+	+	+	+
OF test in Hugh and Leifson	O	O	O	O	F
Pigmentation**	+	+	+	+	-
Agar liquefaction	+	-	-	+	+
Alginate decomposition	+	+	-	+	+
Chitin decomposition	-	-	+	+	-
Sensitivities to					
Polymyxin B 100 u. ¹⁹⁾	-	+	+	+	+
Vibriostatic agent 0/129	•	•	•	•	+
Number of strain	3	10	6	3	2
Suggested genus	<i>Cytophaga</i>	<i>Agarbacterium</i>	<i>Beneckea</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>

MF: mixed flagella; PF: Polar flagellum; O: oxidative and F: fermentative.

* Spreading growth. ** Pigmentation, yellow generally. + positive and - negative.

• not employed as the determinative key. Media made up with 75% aged sea water.

Table 2. Selected biochemical and enzymological characteristics of bacteria belonging to phenons I to IV.

Characteristics	Phenon					Frequency %*
	I	Ila	Iib	III	IV	
H ₂ S production	+	+6/10**	+	-	+	70.8
Arginine dihydrolase	+	+	+	-	-	62.5
NH ₃ from peptone	+	+7/10	+	-	+	75.0
MR test	-	-	-	-	+	8.3
VP test	-	-	-	-	-	0
Acid from glucose	+	+	+	+	+	100
galactose	+	+	-4/6	+	+	83.3
xylose	+	+8/10	-	+	+	66.7
cellobiose	+	+	+4/6	+	+	91.7
mannitol	-	+8/10	-	-	+	41.7
Starch hydrolysis	+	+	+5/6	+	+	95.8
Agar liquefaction (L) or softening (S)	L	-or S	-or S	L	L	75.0
Attack alginate	+	+	-4/6	+	+	83.3
chitin	-	-	+	+	-	37.5
xylan	-	-6/10	-	+	+	37.5
mannan, from yeast	+2/3	-8/10	-	+	+	37.5
pectin	-	-	+	+	+	37.5
cellulose	-	-	-	+	+	20.8
Gelatine liquefaction	+	+	+	+	+	100

* Percentage of strains giving positive results to tested strains.

** Number of strain positive or negative/number tested.

Table 3. Changes in the test pieces of *Porphyra* frond by the inoculation of bacteria.

Change in test pieces	Strain
1. Green spot rotting-like deterioration	<i>Pseudomonas</i> sp. (Strains N 9, W 1 and W 2) <i>Vibrio</i> sp. (Strains V 7 and Y 1)
2. Greening only at periphery of test pieces	<i>Agarobacterium</i> sp. (Strain A 3)
3. Reddening of frond	<i>Beneckea</i> sp. (Strains F 3, K 2 and K 7) <i>Agarobacterium</i> sp. (Strains A 1 and S 3) Few strains of above mentioned genera, weak positive.
4. No noticeable change	<i>Cytophaga</i> sp. (Strains C 2, C 5 and C 4)

り常法にしたがった。

供試菌株の同定 形態・培養の性質の特徴は、COLWELL and LISTON¹⁶⁾の法式により符号化し、計 89 の単位性質について相互の類似率 (S%) を求めマトリックスを作った¹⁷⁾。群別された菌株は BERGEY¹⁸⁾ の分類により所属 (genus) を同定したが、グラム陰性極毛桿菌については SHEWAN ら⁵⁾の法式も併用決定した。

結果と考察

ノリ病葉から分離した細菌は 72 株に整理統合してから接種試験を行なった。その結果、発症陽性・疑陽

性の菌株および陰性株でも培養的性質が前者に類似した菌株をも含めた計 24 株について性状の比較試験を実施した。

供試 24 菌株は Fig. 1 のように phenon I-IV に群別され Table 1 に示した特徴によつて *Cytophaga* 3 株, *Agaracterium* 10 株, *Beneckea* 6 株, *Pseudomonas* 3 株および *Vibrio* 2 株に同定された。phenon III と IV の菌株は類似率が高く、それぞれ単一種と見なされた。phenon II は電子顕微鏡による観察では極毛と繊細な周毛をもつ混合型で、周毛を以て正常形とすれば *Agaracterium* と *Beneckea* に該当する。寒天あるいはアルギン酸の分解能を属の特徴と認めないならば前者は *Flavobacterium* 属に入るべきものである。これらの細菌類には、Table 2 に示すようにガラクトース、セロビオース、デンプン、寒天およびアルギン酸の分解能を持つ菌株が高率に含まれていた。特に葉体崩壊性の phenon III, IV の菌株は、キシラン・マンナン・ペクチン・セルロース分解能を共有していた。

ノリ試験葉体に対する細菌接種試験の結果は Table 3 に示す。すなわち *Pseudomonas* と *Vibrio* は既報¹⁾のように緑斑病様の障害をおこさせ、また *Agaracterium* と *Beneckea* のうちには葉体を淡桃色に変化させノリ病徴 151313 b, c²⁾ に類似の障害をおこす菌株が認められた。この赤変現象では、まず最初葉体の諸所に赤変細胞を生じ、これが赤変細胞群へと拡大し、遂には葉体全面に波及した。実験的に葉体細胞に致死的变化を与えたこれら菌株は、その生理学的・酵素学的性質から見てかなり限定された数種の細菌で、ノリ病害に関連性が深いものと考えられる。また接種試験陰性の多数菌株は二次的に腐敗を助長するか、あるいは随伴細菌であろう。

人工培養ノリの新しい細菌性疾病として損傷細胞や死細胞がある時に細菌進入による発病を推定し、寺本・木下²¹⁾は *Micrococcus* sp. を分離し、*Pseudomonas* でも発病した例があり病原菌は特定のものに限られないらしく、また紅斑、緑斑を生ずると述べている。現象的に著者らの発症試験陽性株での観察と類似の点もあるが菌学的性状は記載されていない。

なお分離細菌のうち一次的にノリに障害を与えた細菌と現場病害との関係については、さらに発病要因や疫学的な検討が必要である。

要 約

有明ノリ漁場に発生した病害と細菌の関係を確めるために罹病葉体分離菌株について研究し、つぎの結果を得た。

1. 発症試験によつて葉体崩壊・変色性菌株の存在を確認した。大多数の菌株は葉体に著しい変化を与えなかつた。
2. 葉体崩壊・変色性菌株とその近似株の計 24 菌株について性状検査を行ない *Agaracterium*, *Beneckea*, *Pseudomonas*, *Cytophaga* および *Vibrio* の 5 属に同定した。
3. 実験的にノリ病害に関連性があると認めた菌株は、緑斑病様の障害をおこした *Pseudomonas* 3 株と *Vibrio* 2 株の計 5 菌株と、赤変現象をおこした *Beneckea* と *Agaracterium* の少数株であつた。

終りに、島原産ノリ試料を提供して頂いた長崎大学水産学部右田清治助教授に深謝の意を表します。

文 献

- 1) 中尾義房・小野原隆幸・松原孝之・藤田雄二・銭谷武平：本誌，36，561-564 (1972).
- 2) のり病徴委員会：のりの病気の種類とその病徴 第一次とりまとめ，33 pp. (1971).
- 3) R. L. ANACKER and E. J. ORDALL: *J. Bacteriol.*, 78, 25-32 (1959).
- 4) E. G. PRINGSHEIM: *Bacteriol. Rev.*, 13, 47-98 (1949).
- 5) J. M. SHEWAN, G. HOBBS and W. HODGKISS: *J. app. Bacteriol.*, 23, 379-390 (1960).
J. M. SHEWAN: Symp. marine microbiol., (C. H. OPPENHEIMER, ed.), 499-521, Charles C. Thomas Publish., Illinois (1963).

- 6) E. LEIFSON: *J. Bacteriol.*, **85**, 1183-1184 (1963).
- 7) 五島瑳智子・榎本省二: モダンメディア, **16**, 195-203 (1970).
- 8) N. BAIN and J. M. SHEWAN: Identification methods for microbiologists. Part B. (B. M. GIBBS and D. A. SHAPTON, ed.), 80-84, Academic Press, New York (1968).
- 9) M. S. HENDRIE and J. M. SHEWAN: *ibid.* Part A. (B. M. GIBBS and F. A. SKINNER, ed.), 1-7 (1966).
- 10) M. S. HENDRIE, T. G. MITCHELL and J. M. SHEWAN: *ibid.* Part B. 67-78 (1968).
- 11) R. C. HAYWARD: *J. gen. Microbiol.*, **35**, 287-298 (1964).
- 12) 木村喬久: 北大水研報, **12**, 41-47 (1961).
- 13) 藤沢浩明・村上正忠・浜田盛承・瀬良 洋: 本誌, **33**, 438-447 (1967).
- 14) 谷口忠敏・藤田雄二・銭谷武平: 長大水研報, **21**, 243-249 (1966).
- 15) 門田 元: 本誌, **16**, 63-70 (1951).
- 16) R. R. COLWELL and J. LISTON: *J. Bacteriol.*, **82**, 1-14 (1961).
- 17) V. B. D. SKERMAN: A guide to the identification of the genera of bacteria. 2nd ed. 4-17, The Williams and Willkins Co., Baltimore (1967).
- 18) R. S. BREED, E. G. D. MURRAY, and N. R. SMITH: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th ed. The Williams and Willkins Co., Baltimore (1957).
- 19) T. G. MITCHELL, M. S. HENDRIE and J. M. SHEWAN: *J. app. Bacteriol.*, **32**, 40-50 (1969).
- 20) のり病徴委員会編: のり病徴写真集, 昭和 44 年度版.
- 21) 寺本賢一郎・木下祝郎: 藻類, **17**, 76-79 (1969).