

## I-2. 香川県および愛媛県における魚類病原細菌 およびウイルスの探索収集

養殖研究所 病理部 病原生物研究室

反 町 稔  
佐 古 浩  
前 野 幸 男

### 1. 目的

水産生物における病原生物による疾病は、養殖漁業の進展とともに高密度・集約的飼育が強まり、著しく増大している。今後の養殖漁業の発展は、これらの発病を防除することが不可欠であり、そのためには病原微生物の分布を的確に把握するとともにその特性を十分に解明することが必要である。ここでは、養殖漁業の主要県におもむき、病魚から病原体の分離・培養を行なってその特性評価を行ない、最近の病原体の分布と新しい疾病の有無及びその収集と保存を図ることを目的とした。

### 2. 経過

病原体の探索は、表1に示す日程のとおり、11月7日から11月11日に現地におもむき、11月8日に香川県で、11月10日に愛媛県で実施した。探索収集地域と主な収集地点を図に示した。現地での調査対象魚は表2に示すように、香川県では養殖ブリ、ヒラメ、クロダイ、愛媛県ではブリ、ヒラメ、マダイ、マアジについて調べた。病原体の探索・収集の目的から、供試魚の多くは何らかの病徴を示すもので、なかにはジブリオ病、連鎖球菌症などの典型的な細菌感染の症状を示すものも含まれた。細菌の検査は現地で寒天培地に塗抹して、ウイルス検査は臓器を採材し研究所に持帰って実施した。

### 3. 収集成果

#### (1) 方法

細菌の分離は、現地において供試魚の腎臓、脾臓あるいは脳から2%NaCl添加普通寒天培地（ニッスイ）あるいはBHI寒天培地（ニッスイ）に直接塗抹し、持帰った後25℃で培養した。出現したコロニーについては釣菌し、一般的な生化学的性状を調べて種を明らかにし、必要があれば抗血清を用いて同定を行なった。

ウイルス検査材料は氷冷して持帰り、-80℃に凍結保存した後検査に供した。すなわち、腎臓及び脾臓にハンクス液を加えて磨碎し、遠心分離した上清をメンブレンフィルターでろ過した後、ろ液を予め準備した培養細胞に接種して20℃で培養した。ウイルス分離に用いた細胞は、ニジマス由来のRTG-2、マスノスケ由来のCHSE-214、コイ由来のEPC細胞の3種である。培養細胞でCPEの認められた試料は、再度継代した後、物理化学的性状を調べるとともに抗血清による中和試験を行なっ

て同定した。

## (2) 結果

香川県及び愛媛県で実施した探索・収集の結果を国内微生物遺伝資源の現地収集実績表に示した。得られた微生物遺伝資源は、魚類病原細菌が4種、10株、ウイルスが1種、3株で、合計5種、13株であった。以下に個々の微生物遺伝資源について得た情報について詳細に述べる。

### *Streptococcus* sp. (連鎖球菌症原因菌)

魚類の連鎖球菌症は、養殖ブリで最初に報告され、以後ヒラメ、アユ、ニジマスなど淡水魚、海産魚を問わず見出されている。本調査においても、香川県及び愛媛県のブリのほか、愛媛県のヒラメ、マアジからも原因菌が分離された。連鎖球菌症は、ブリ養殖において最も被害の大きな疾病であり、初夏から秋にかけて水温が20℃以上の季節に流行し、20℃以下になると徐々に終息することが知られている。本調査時点は、流行の終息期と考えられ、養魚場においては大きな斃死は認められなかったが、依然としてブリ、ヒラメ、マアジなどから分離されたことから、連鎖球菌症は長期間にわたって多種類の魚種に蔓延しているものと考えられた。

### *Vibrio anguillarum* (ビブリオ病原菌)

ビブリオ病は、ほとんどすべての海産魚及びニジマス、アユなどの淡水魚が罹病することが知られている。主な流行期は6月から7月の初夏の頃と、9月から10月の初秋の頃であるが、近年冬季の低水温期のビブリオ病も報告されている。本調査においては、水温が流行期をはずれていたこともあって、香川県のブリから1例分離されたにすぎなかった。しかし、近隣の養魚場においてマダイやクロダイなどが多数飼育されており、これらの魚種の感受性も高いことから、流行期には周辺への伝播が危惧された。

### *Nocardia kampachi* (ノカルジア症原因菌)

ノカルジア症は、ブリ、カンパチなどのブリ属をはじめとする海産魚にみられる疾病で、流行は水温の上昇する7月に始まり、水温の低下する12月頃まで続くが、最大の流行期は9月から10月である。本病による被害は連鎖球菌症ほど大きくはないが、ブリ養殖においては主要な疾病のひとつである。本調査においては、愛媛県のブリから1例分離されており、養殖漁場においてはほぼ常在する疾病のひとつと考えられた。

### *Edwardsiella tarda* (エドワジエラ病原菌)

エドワジエラ病は、最初ウナギの病原菌として報告されたが、キンギョ、コイなどの淡水魚でも知られ、近年ではヒラメ、ボラなどの海産魚でも報告されている。本調査においては、香川県と愛媛県のヒラメ及び愛媛県のマダイから3例分離された。本病の流行期は6月から10月で、特に高水温期に多いが、症状の進行は比較的ゆるやかで、群を離れて生簀の周囲をふらふらと遊泳している魚に多い。罹病魚に爆発的な斃死はみられないものの、慢性的に斃死が続くことから、今後の養魚場での蔓延が懸念された。また、本菌は腸内細菌群に属し、通常運動性を有するが、マダイ由来の *Edwardsiella tarda* は非運動性の変種であることが報告されている。今回の分離菌も同様の性状を有するものであった。

*Rhabdovirus olivaceus* (ヒラメのラプトウイルス病原ウイルス)

本ウイルスは、最近養殖ヒラメから分離されたもので通常ヒラメラプトウイルス HRV と呼ばれる。本病の発生は比較的低温期にみられ、20℃以上の水温での発病例はない。本調査においては、香川県、愛媛県のヒラメのいずれからも HRV は分離されなかったが、香川県のクロダイの2年魚及び3年魚の病魚から本ウイルスが分離され、血清学的にもヒラメのラプトウイルスと同一のものであることが判明した。ヒラメ以外の海産養殖魚から HRV が分離された最初の例である。なお、分離ウイルスを実験的にヒラメ、クロダイ及びマダイに感染させたところ、いずれに対しても水温が18℃以下では強い病原性を有することが明らかとなり、今後種苗生産場をはじめ養殖漁場への蔓延が危惧された。

#### 4. 所感

今回の調査は、水温の下降期である11月に実施したため、大きな斃死が流行している養魚場はみられなかった。しかし、比較的多種類の病魚を採集することができ、病原体も細菌4種、ウイルス1種を得ることができた。また、現場の飼育管理者からの聞き取り調査によると、ブリでは天然から採捕してまもない時期のウイルス性の腹水症、夏の類結節症、ヒラメのラプトウイルス感染症、マダイやマアジのピブリオ病などが存在することが確認されており、さらに初夏、盛夏、あるいは冬季に調査を実施すれば、この水域の周年の病原体の分布を把握できると思われる。

本調査において分離された病原体は、いずれも既知のものであったが、HRV がクロダイから分離されマダイなどにも病原性を示したことは、今後の種苗生産あるいは養殖漁業に大きな脅威となるので、早急の対策が望まれる。

なお、今回分離した微生物遺伝資源は、現在ワーキングコレクションの中で特性評価を進めているが、その後はベースコレクションに保存する予定である。

表1. 探索行動日程表

月 日	旅 程	行 動 内 容
11 7	養殖研－大阪－岡山－高松	移動
11 8	高松 (香川水試, 日本栽培漁業協会)	調査, 収集
11 9	高松－松山－宇和島	移動
11 10	宇和島 (愛媛水試, 栽培センター)	調査, 収集
11 11	宇和島－高松－岡山－大阪－養殖研	移動

表2. 魚類病原体の探索のための調査魚

	魚 種	尾 数
香川県	ブリ・当才魚	10
	ヒラメ・当才魚	6
	クロダイ・2, 3年魚	12
愛媛県	ブリ・当才魚	15
	ヒラメ・当才魚	8
	マダイ・2年魚	4
	マアジ・当才魚	5

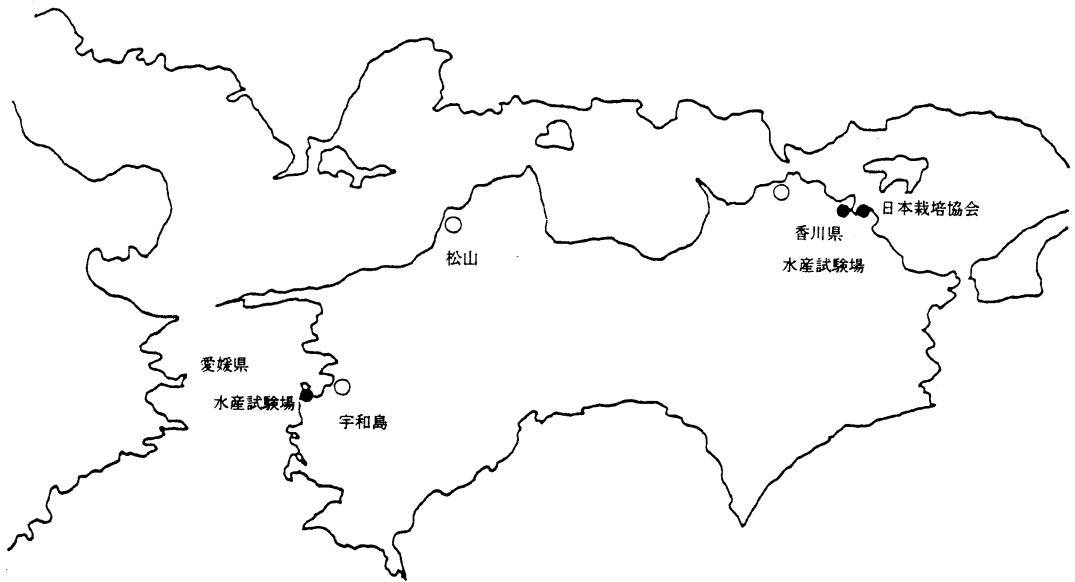


図 探索収集地域と主な収集地点

表 3. 国内微生物遺伝資源の現地収集実績 (62年度調査分)

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源
200	01	12	B 1	<i>Streptococcus sp.</i>	ブ リ
〃	〃	〃	B 2	〃	〃
〃	〃	〃	B 3	<i>Vibrio anguillarum</i>	〃
〃	〃	〃	B 4	<i>Edwardsiella tarda</i>	ヒ ラ メ
〃	〃	〃	B 5	<i>Streptococcus sp.</i>	ブ リ
〃	〃	〃	B 6	<i>Nocardia kampfachi</i>	〃
〃	〃	〃	B 7	<i>Streptococcus sp.</i>	ヒ ラ メ
〃	〃	〃	B 8	<i>Edwardsiella tarda</i>	〃
〃	〃	〃	B 9	〃	マ ダ イ
〃	〃	〃	B10	<i>Streptococcus sp.</i>	マ ア ジ
〃	05	〃	V 1	<i>Rhabdovirus olivaceus</i>	ク ロ ダ イ
〃	〃	〃	V 2	〃	〃
〃	〃	〃	V 3	〃	ヒ ラ メ

採集月日	採 集 地	特 記 事 項
11. 8	高松市	
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	
11. 10	宇和島市	
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	
〃	〃	
11. 8	高松市	
〃	〃	
〃	〃	

## 微生物の探索収集プロフィール



病魚から病原体を分離するとともに、病変組織を摘出し固定する



タイ国の研究者らの協力を得て、現地のマメ科やイネ科作物の根から窒素固定菌を分離する



採取した根をホテルへ持ち帰り窒素固定菌を分離する（タイ国）



インドネシア国の牛や水牛の寄生住血原虫タイレリアを分離するために現地の牛から採血する