

クルマエビ種苗生産時に発生した中腸腺白濁症について

山本博敬・北田哲夫・山元宣征・安永統男

Note on the Disease of Mid-Gut Gland (Hepatopancreas)
Characterized with White and Cloudy Coloration in the
Prawn, *Penaeus japonicus*, during their Mass Seedling.

Hiroyoshi YAMAMOTO, Tetsuo KITADA, Nobuyuki YAMAMOTO,
and Norio YASUNAGA

クルマエビ種苗の中腸腺白濁症は、各地の種苗生産機関で発生し、本疾病については^{1,3)}2, 3の報告がある。長崎水試増養殖研究所の場合、昭和46年以降数百万尾から1千万尾単位の種苗生産を行なってきたが、昭和51年に初めて同疾病が発生し、かなりの被害をもたらした。そこで、この原因菌の検出を試み、分離菌について若干の検討を行なったので、その概略について報告する。

実験方法

1. 原因菌検出に供試した種苗の飼育推移

供試種苗 供試種苗はすべて、長崎県茂木産親エビ（平均体長18.5cm、平均体重80.8g）40尾を用いて採苗し屋外100トン円型コンクリート水槽（502号）で養成中のもので、ステージはP₉₋₁₁、体長は7.4~8.4mmであった。

餌料および投餌方法 ゾエア期の主な餌料は、従来の方法と同様、飼育水中に繁殖した浮游硅藻を用い、ゾエア3期からP₆₋₇までの間は、別に準備したふ化直後のアルテミアノープリウスを投与した。P₄₋₅から疾病発生時までの餌料は、T研究所製のクルマエビ種苗用配合飼料^④（P₆₋₇まではアルテミアノープリウスと併用）を、ポリバケツの中で海水とともに攪拌し、ヒシヤクで水面上に散布して与えた。

飼育水管理 飼育水期間中、午前、午後の2回にわたり水温、比重、pHの測定を実施するとともに、潜水による観察も毎日おこなった。ポストラバ期以降は、毎日飼育水の30~50%を流水により注排水し換水を行なった。疾病発生時の水温、比重、pH、餌料などについては表1に示した。

表1. 中腸腺白濁症による被害発生例

飼育水槽 (水量)	7月24日	8月11日~14日	8月16日~18日	8月16日~20日	7月29日	8月20日	8月21日	中腸腺白濁症発生時	取場尾数(尾)	死亡率(%)	備 考
(水量)	7月24日	8月11日~14日	8月16日~18日	8月16日~20日	7月29日	8月20日	8月21日	水温 比重 pH	(ステージ)	P ₁ ~取場	
602 (35t)		P ₉ ~ P ₁₃	2.81~3.01	2.452~2.484	8.60~8.82	配合	25.0 (P ₁₈ ・20)	8.4.8		P ₁ ~2で幼生数が多いのに603号より分離した 取場尾数・死亡率は、602・603号を合計したもので	
612 (195t)	7月28日	8月16日~18日	P ₁₀ ~ P ₁₃	2.6.9~2.9.6	2.313~2.455	8.4.6~8.8.2	配合	} 62.5	} 9.0.1	P ₂ ・5で原因不明のヘイ死が出る。	
611 (195t)	8月16日~20日	P ₁₀ ~ P ₁₅	2.7.1~2.9.5	2.3.0.1~2.4.6.2	8.5.0~8.7.8	配合	(P ₁₈ ・20)				
502 (100t)	7月29日	8月17日~20日	P ₁₀ ~ P ₁₄	2.7.1~2.8.7	2.3.7.7~2.4.5.5	8.3.2~8.6.2	配合	37.5 (P ₁₈ ・19)	8.4.8	ゾエアの活力が弱く、P ₂ ・3でヘイ死が少しあり	
501-2 (100t)	8月20日	9月9日~17日	P ₁₂ ~ P ₂₁	2.3.5~2.6.3	2.2.4.1~2.4.2.1	8.3.2~8.6.5	配合	25.5 (P ₂₄ ・26)	9.0.2	P ₁ ・3でヘイ死あり。	
604 (35t)	8月21日	9月8日~12日	P ₁₀ ~ P ₁₅	2.4.2~2.6.6	2.2.3.8~2.3.6.7	8.3.0~8.6.2	配合	21.5 (P ₂₄ ・25)	8.9.2	P ₁ ・3でヘイ死あり。	

2. 細菌学的検査

菌株の分離 飼育水槽から、中腸腺の白濁が肉眼的に認められた種苗を採取し供試した。供試種苗は、濾紙を用いて海水を除去したのち、70%エチルアルコールおよび滅菌生理的食塩水で洗浄、濾過した。そのうちの5尾について、それぞれ実体顕微鏡下で、白金線を用いて中腸腺から3%食塩加普通寒天培地およびBTBティポール寒天培地（ニッサン）に塗抹し、32°C・1夜培養して菌株を得た。分離菌は、3%食塩加普通寒天培地で純培養後5株を各試験に供した。

復元試験 復元試験には、本県小佐々町で養殖中の、ふ化後5ヶ月目の健康なクルマエビ（体重6.0～11.8g）を用い、3%の食塩加普通寒天培地の32°C・1夜培養菌の1白金耳量を滅菌生理的食塩水5mlに懸濁した菌浮游液0.05ml（菌数 2.5×10^6 ）を、各菌株とも5尾あて体側筋肉中へ接種した。試験エビは、接種菌株別に10ℓ容円型ガラス水槽に収容し、通気・絶食・1日1回換水で8日間飼育観察した。なお、対照として用いたエビは、他の原因によりへい死したので除外した。

分離菌株の生物学的性状検査と薬剤感受性試験 常法に従って、表3に掲げた性状を検査した。検査にあたっては、好塩性、耐塩性試験における場合を除き、すべての検査培地の食塩濃度が3%になるように食塩を添加し、32°Cの培養温度で実施した。

薬剤感受性は、感受性ディスク用培地（栄研）を用い、主として昭和ディスクにより調べた。なお、32°C・24時間培養後発育阻止帯を測定し判定した。

結 果

分離菌株の病原性 供試5株のクルマエビに対する病原性には、菌株間での差異は殆んどみられず、全てが致死性を有していた（表2）。また、中腸腺その他に肉眼的な発症は認められなかったが、へい死エビからは、接種菌株と類似性状の菌株が分離された。

表2. 分離菌株のクルマエビに対する病原性

菌株名		供試エビ				
		1	2	3	4	5
E	— 1	● ¹	● ³	● ⁶	○	○
E	— 2	● ¹	● ²	● ²	● [*]	○
E	— 3	● ¹	● ¹	● ⁵	○	○
E	— 4	● ¹	● ¹	● ⁴	● ⁷	○
E	— 5	● ¹	● ³	● ⁵	○	○

観察期間：8日間

飼育水温：22.7°C～24.7°C（正午）

○…生、●…死（数字は菌接種後の日数、*印は脱皮時の共喰い）

分離菌株の生物学的性状と薬剤感受性 形態学的ならびに生化学的性状は、再分離株も含めて表3に示した。すべてグラム陰性の運動性を有する短桿菌で、チトクローム・オキシダーゼ陽性、カタラーゼ陽性、ブドウ糖を発酵するがガスを産生せず、ビブリオスタティック・エイジェントに対して感受性を示すなどの基本的性状からは、*Vibrio* 属もしくはそれに近い菌とみなされた。また、全株好塩性を示すが、7%食塩には耐容性がなく、狭塩型の範ちゅうに入るものであった。

表3. 分離菌株の生物学的性状

性 状	菌 株 名		E-1		E-2		E-3		E-4		E-5		E-1-1*		E-5-1**	
	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
形 態	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
グ ラ ム 染 色	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
運 動 性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
チトクローム・オキシダーゼ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
カ タ ラ ー ゼ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
イ ン ド ー ル 産 生	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
硫 化 水 素 産 生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O - F 試 験	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
ブドウ糖からのガス産生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
アルギニン・ジヒドロラーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
リジン・デカルボキシラーゼ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
オルニチン・デカルボキシラーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
白 糖 分 解	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
ペプトン水：0%食塩	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3% "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7% "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0/129 感 受 性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+…陽性， -…陰性， SR…短桿菌， F…発酵

* E-1株接種エビからの再分離株

** E-5株接種エビからの再分離株

薬剤感受性は、表4に示したとおり、ニトロフラン剤、クロラムフェニコール、ナリジキシク・アシドなどには強い感受性を示したが、スピラマイシンには、すべての菌株が耐性であった。また、ペニシリンおよびアンピシリン系ペニシリンには、1株のみがかなり強い感受性を示し、他の4株は耐性を示した。

表4. 分離菌株の薬剤感受性

薬剤 (ディスク中の含有量)	E-1	E-2	E-3	E-4	E-5	E-1-1*	E-5-1*
スルファモノメトキシシ (400 μ g)	+	+	++	+	++	+++	+++
スルフィソゾール (400 μ g)	++	++	+++	++	++	+++	+++
スルフィソキサゾール (400 μ g)	+	+	+	+	++	++	+++
ジハイドロオキシメチルフラトリシ (20 μ g)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
クロラムフェニコール (100 μ g)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
テトラサイクリン (200 μ g)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
チアシフェニコール (100 μ g)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ペニシリン (20 u)	-	-	-	-	+	-	+++
ストレプトマイシン (50 μ g)	+	+	+	+	+	+	+
カナマイシン (50 μ g)	+	+	++	++	++	+	+
ロイコマイシン (30 μ g)	+	++	+	++	-	+	+++
オレアンドマイシン (30 μ g)	+	+	+	+	-	+	+
エリスロマイシン (50 μ g)	++	++	++	++	+	++	+++
リンコマイシン (30 μ g)	+	+	+	+	+	+	+
スピラマイシン (30 μ g)	-	-	-	-	-	-	-
コリスチン (5 μ g)	+	++	++	++	++	++	+++
ナリジキシク・アシド (50 μ g)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ポリミキシン B (100 u)	+	++	++	++	++	++	+++
ノボビオシン (20 μ g)	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
アミノベンジルペニシリン (30 μ g)	-	-	-	-	++	-	+++

-~+++……感受性の程度を示す、*再分離株

考 察

今回当所で発生したクルマエビ種苗の疾病は、その症状から山口県内海水試²⁾が中腸腺白濁症(仮称)として報告したものと同一と考えられる。同報告によれば、病エビの最も顕著な症状として、絶食時においても、肉眼的に中腸腺が不透明で白濁が認められることをあげており、その原因については、細菌による二次的影響は少なくないとしながらも、一次的原因は、生理的なものか外的なものによる可能性が大きいと結論している。ただ、病エビの中腸腺から分離したクルマエビ種苗に対して病原性のある菌株を*Vibrio*属に含めているが、*Vibrio*属の検索上、基礎的性状試験の1つとも云える

ガス産生能については、ふれられていない。

一方、野村³⁾は、同様の疾病のクルマエビ種苗中腸腺から病原性のある *V. alginolyticus* および *V. parahaemolyticus* を分離し報告している。

当所の分離株は、食塩耐容性の点で、野村の株とは明らかに相違したが、さきにふれた様に *Vibrio* 属もしくはそれに近い菌と思われ、表3に示すとおり、それらの性状から3菌群に分けられた。すなわち、供試5株のうち3株は共通の性状を示したが、1株はインドール産生能に、他の1株はアルギニンおよび白糖分解能に差異がみられた。また、薬剤感受性においても、白糖非分解株のみが、ペニシリン製剤に対して感受性を示し、他とは異なった。

これまでにも、海産病魚から多くの病原性ビブリオが分離されており⁴⁻⁷⁾、マダイの疾病では、多様な性状を示す多種類の *Vibrio* 属の菌が関与していることが推察されている⁵⁻⁷⁾。クルマエビ種苗の疾病においても、一次的原因か二次的原因かは別として、同様に多種類の *Vibrio* 属の菌の関与が疑われる。

要 約

昭和51年度、長崎水試増養殖研究所で生産中のクルマエビ種苗に、中腸腺白濁症と思われる疾病が初めて発生し、かなりの被害を与えたので、その原因菌について若干の検討を行ない、次の結果を得た。

- 1) 病エビから原因菌の分離を試み、クルマエビに対して病原性のある5株を分離した。
- 2) 分離菌株は、いずれも *Vibrio* 属もしくはそれに近い菌で、菌株間に性状の差異がみられ、多種類の *Vibrio* 属の菌の関与が疑われた。
- 3) 薬剤感受性試験では、全株がニトロフラン剤やクロラムフェニコールなどに強い感受性を示し、ペニシリン製剤には、1株のみが感受性を示した。

文 献

- 1) 瀬戸内海栽培漁業協会，1973：昭和47年度クルマエビ種苗生産事業の実施経過と生産実績の概要，協会研資料No.5，17-31.
- 2) 山口県内海水産試験場，1975：クルマエビ幼期中腸腺白濁症（仮称）に関する研究，昭和49年度指定調査研究総合助成事業，病害研究結果報告書，1-18.
- 3) 野村俊文，1976：クルマエビ種苗生産における異常へい死とその対策，日本水産学会九州支部第1回例会，シンポジウム「種苗生産における諸問題について」，8.
- 4) 室賀清邦，1975：*Vibrio anguillarum* およびその感染症に関する研究，広島大学水畜産学部紀要，14，101-215.
- 5) 長崎県水産試験場，1971：マダイの病害防除に関する研究，昭和45年度指定調査研究総合助成事業，病害防除研究報告書-IV，15-17.
- 6) 同上，1975：マダイの病害防除に関する研究，昭和48年度指定調査研究総合助成事業，病害防除研究報告書-VI，4-13.

7) 安永統男, 1972: スレに起因する種苗用マダイの細菌性疾病の一原因菌と薬浴の効果, 魚病研究, 7 (1), 67-71.