

海水馴致アマゴのせっそう病について

安永 統男・小川 七朗

On the Furunculosis of Amago Salmon in Artificial Transplanting
from Fresh Water into Sea Water
Norio YASUNAGA and Shichiro OGAWA

せっそう病はサケ科魚類の重要な細菌性疾病として内外で良く知られている。病原菌は *Aeromonas salmonicida* であるが、現在3亜種に分類され¹⁾ 一般に認められている。

著者らは、1979年12月長崎県南高来郡千々石町で、海水養殖を目的に飼育中のアマゴ (*Oncorhynchus rhodurus*) に発生した疾病について細菌学的検討を行ったところ、いずれの亜種とも異なる性状の *Aeromonas salmonicida* によるせっそう病であることが判った。本報では、病魚から得られた菌株の各種性状等を中心に検討結果を報告する。

材料および方法

アマゴは当地漁業協同組合青年部が海水養殖試験用としてヤマメとともに熊本県から移入したものである。輸送後500~700尾(平均体重93g)を数基のコンクリート水槽(淡水5t)に一時収容し、その後毎日海水を混入させていき5日または7日目に全海水となるようにした。へい死魚は3日目からみられ始め4日ないし7日後に最大のへい死数に達し、海中生簀へ沖出し後もへい死が続いた。へい死率は

海水馴致中で7.1%、沖出し後8日間で46.3%であった。

海水馴致中の病魚4尾と沖出し後の病魚1尾が病原菌検索用として採取された(表1)。前者のうち3尾は外見的に異常は認められなかったが1尾は体表および胸びれ基部に出血がみられ、また後者では眼球の突出がみられた。内部所見ではいずれも特に異常は認められなかった。これらの供試魚の腎臓から主として BHI 寒天培地を用い室温培養を行って5菌株を分離した。生物学的諸性状は後述の人為的感染実験で再分離の4菌株を加えた計9株について既往の方法に準じ検査した。ただし、培養温度はすべて22℃とした。血清型は抗 *Aeromonas salmonicida* 血清(MIMATA'74)を用いスライド凝集反応により調べた。発育と温度または発育と食塩濃度との関係については、1%ペプトン水または BHI ブイオンを使用し振盪培養を行い、菌の増殖による混濁度を光学的に測定した。病原性試験は供試魚の体重100g 当り湿菌量1mgを背部筋肉に接種した。キンギョの場合は10ℓ容量ガラス水槽(淡水を入れ止水とした)に収容し、海産魚の場合は1t容量パンライト

表1. 供試菌株の由来

Table 1. Source of the strains used in this study

Strain	Date	Source	Site of isolation
NO79-01	Dec.21.'79	Amago salmon reared in brackish water	Kidney
NO79-02	〃	〃	〃
NO79-03	〃	〃	〃
NO79-04	〃	〃	〃
NO80-01	Jan.11.'80	Amago salmon reared in sea water	〃

水槽（海水を入れ流水とした）に収容した。対照魚は同量の生食水を同様に接種した。いずれも給餌はせず病状とへい死状況を観察した。薬剤感受性試験はBHIブイヨンの24時間培養菌を用い、感性ディスク用培地（日水）と各種ディスクにより阻止円を測定した。生存能試験は高圧滅菌した海水、3%食塩水および水道水各10mlに供試菌の一定菌量を浮遊させて22℃に放置し、普通寒天培地を用いて生残菌数を経時的に調べた。

結果および考察

普通寒天培地およびBHI寒天培地上における22℃、24時間培養後の分離菌株の集落は、白色不透明で直径1～2mmの円形状の発育を示し、2～3日後には集落周辺に水溶性褐色色素の産生が認められた。

供試9菌株の生物学的ならびに生化学的性状等を表2、3に示す。すべてグラム陰性の短桿菌で、運動性(－)、カタラーゼ反応(+),チトクローム・オキシダーゼ反応(+),ブドウ糖発酵性(+),ブドウ糖からのガス産生性(+),および37℃における発育(－)などの主要性状を示した。また、上記褐色色素産生能に加え、発育至適温度が25℃付近にあり(図1),抗*Aeromonas salmonicida*血清に明瞭な凝集を

示すことから、今回分離の菌株は*A.salmonicida*^{1,2)}に同定可能とみられる。

しかしながら、今回分離の菌株は現在確立されている*A.salmonicida*の3亜種のいずれとも性状において合致しない(表4)。この中で最も多くの共通性状がみられるのは*A.salmonicida* subsp. *salmonicida*であるが、これについてもリシン脱炭酸性、白糖および乳糖分解性などにおいて差異が認められる。これらの性状は亜種を分類する上で重要な性状と考えられることから、今回分離の菌株はいずれの亜種にも含めず、ひとまず*A.salmonicida*の一変種*として同定しておく。なお興味あることには、本分離菌株のうちの1株が分離して約2ヵ月後に、また残りの菌株は約1年後にすべて褐色色素の生産能を失った。このような現象はすでにEVELYN³⁾によって観察されているが、同氏が指摘したように本色素産生性は必ずしも安定した性状とはいえないように思われる。

先でも触れたが図1に示すように供試菌株の発育至適温度は25℃付近にあり、発育下限温度は約14℃、上限温度は約34℃であった。発育に及ぼす食塩濃度の影響は図2に示すように、供試菌株の発育至適濃度はおよそ0.5%で、8%に至るとほとんど発育不能

*1976年に改正された国際細菌命名規約では、変種(Variety)は廃止され亜種(Subspecies)に統一されたが、ここでは従来の概念に従った。

となった。

本分離菌株について
の病原性試験の結果は
表5に示す。供試魚の
うちキンギョは5日以
内、ブリは6日以内、
マダイは3日以内およ
びイシダイは9日以内
にすべてへい死した。

以上の諸結果を総括
し、本病がせっそう病
であったことは間違い
なく、海水馴致による
環境の変化がストレス
となり発病へと進んだ
ものと想像される。本
病の発生が低水温期で
あったことは、病原菌
がいわゆる通性低温細
菌⁴⁾の範疇に入ること
から充分首肯できよう。
本分離菌株にはほとん
ど耐塩性がみられない
ことから海水への適応
力は弱いと考えられ、
アマゴは恐らく海水と
接触する以前に感染を
受けていたものとみな
される。

他方、EVELYN³⁾
はせっそう病が海産魚
でも起ること、さらに

表2. 本分離菌株の性状

Table 2. Characteristics of isolates from amago salmon

Character	From spontaneous Infection					From artificial infection
	NO79 -01	NO79 -02	NO79 -03	NO79 -04	NO80 -01	4 strains * ¹
Form	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Motility	—	—	—	—	—	—
Gram stain	—	—	—	—	—	—
Fermentation of glucose	F	F	F	F	F	F
Gas from glucose;						
OF medium	—	—	—	—	—	—
VP medium	+	+	+	+	+	+
Cytochrome oxidase	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+
Phenylalanine deaminase	—	—	—	—	—	—
Urease	—	—	—	—	—	—
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+
Gelatin liquefaction	+	+	+	+	+	+
Indole production	—	—	—	—	—	—
VP reaction	—	—	—	—	—	—
2,3 - butanediol dehydrogenase	+	+	+	+	+	+
MR test	+	+	+	+	+	+
IPA test	—	—	—	—	—	—
H ₂ S production	—	—	—	—	—	—
Ammonium production	+	+	+	+	+	+
LV test	+	+	+	+	+	+
MB reduction	+	+	+	+	+	+
Arginine hydrolysis	+	+	+	+	+	+
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+	+
Lysine decarbo.	+	+	+	+	+	+
Arginine dehydro.	+	+	+	+	+	+
Ornithine decarbo.	—	—	—	—	—	—
Gasein digestion	+	+	+	+	+	+
Citrate utilization (Simmons)	—	—	—	—	—	—
Malonate	±	±	±	±	±	±
Haemolysis of						
sheep	β	β	β	β	β	β
horse	β	β	β	β	β	β
Growth of 37°C	—	—	—	—	—	—
Brown pigment production * ²	+	+	+	+	+	+
Sensitivity to 0/129	—	—	—	—	—	—
Antiserum	+	+	+	+	+	+

*¹ Isolated from gold fish, yellowtail, red sea bream and Japanese striped knifejaw.

*² The present isolates lost their abilities to produce the pigment after approximately 2 months or 1 year of subculture on agar medium.

表3. 本分離菌株の炭水化物分解性

Table 3. Carbohydrate utilization of isolates from amago salmon

Character	From spontaneous infection					From artificial infection
	NO79	NO79	NO79	NO79	NO80	4 strains
	-01	-02	-03	-04	-01	
Arabinose	AG	AG	AG	AG	AG	AG
Xylose	—	—	—	—	—	—
Rhamnose	—	—	—	—	—	—
Glucose	AG	AG	AG	AG	AG	AG
Fructose	A	A	A	A	A	A
Galactose	A	A	A	A	A	A
Lactose	A	A	A	A	A	AG or A
Mannose	—	—	—	—	—	—
Cellobiose	—	—	—	—	—	—
Maltose	AG	AG	AG	AG	AG	AG
Sucrose	AG	AG	AG	AG	AG	AG
Melibiose	—	—	—	—	—	—
Trehalose	—	—	—	—	—	—
Melezitose	—	—	—	—	—	—
Raffinose	—	—	—	—	—	—
Inulin	—	—	—	—	—	—
Dextrin	AG	AG	AG	AG	AG	AG
Glycerol	AG	AG	AG	AG	AG	AG
Adonitol	—	—	—	—	—	—
Esucilin	Aw	Aw	Aw	Aw	Aw	Aw
Salicin	(A)	(A)	(A)	(A)	(A)	(A)
Mannitol	AG	AG	AG	AG	AG	AG
Sorbitol	—	—	—	—	—	—
Inositol	—	—	—	—	—	—

A : acid, G : gas, () : delayed, w : weakly.

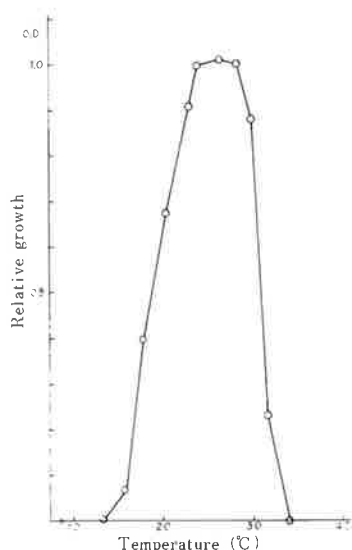


図1. NO79-01菌株の増殖に及ぼす温度の影響
Fig1. Dependence of the growth of the isolates NO79-01 upon temperature (Medium, BHI broth; Incubation, 24 hr shaking culture)

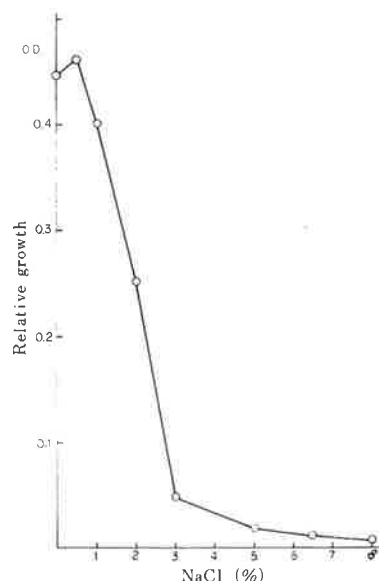


図2. NO79-01菌株の増殖に及ぼす食塩濃度の影響
Fig2. Dependence of the growth of the isolates NO79-01 upon NaCl concentration. (Medium, 1% peptone water; Temperature, room temperature; Incubation, 24 hr shaking culture)

海産魚から分離された *A. salmonicida* 菌株が淡水中よりも海水中で明らかに長く生残することを確かめている。今回行った生存能試験でも、表6に示すように、供試菌は水道水や3%食塩水中では数日以内に死滅したが、海水中では少なくとも9日まで生残が認められた。使用海水は加熱滅菌処理がなされていたことから、自然環境における事例に直ちにあてはめ得ないが、本分離菌が海産魚類に対しても病原性を示したことも関連し、海水中における伝播を全く不可能視することは危険とみなされる。

薬剤感受性試験の結果は表7に示すとおり、本分離菌株は供試した抗生物質および合成抗菌剤に対して強い感受性を示した。この中から実用的薬剤の選択が可能とみられる。

本研究を行うにあたり貴重な抗血清の提供をいただいた宮崎大学北尾教授に深く感謝いたします。また、長崎県諫早水産業改良普及所および千々石漁業協同組合にはいろいろと御支援をいただいた。関係各位に厚く御礼申しあげる。

表4. 本分離菌株と *Aeromonas salmonicida* の3亜種間の性状差異

Table 4. Characteristics differentiating the subspecies and the present isolates of genus *Aeromonas*

Character	<i>Aeromonas salmonicida</i>			
	Present strains	Subspecies		
		Salmonicida	Achromogenes	Masoucida
Brown pigment production	+	+	-	-
Hemolysis	+	+	-	+
Gelatin lipuefaction	+	+	-	+
LOEFFLEE'S serum digestion	NT	+	-	-
Casein digestion	+	+	+	-
Phosphatase	NT	+	-	+
Lecithinase	+	+	NT	-
Indole production	-	-	-	+
H ₂ S production	-	-	-	(+)
Lysine decarbo.	+	-	NT	+
MR test	+	+	NT	-
VP reaction	-	-	-	+
2,3 - butanediol from glucose	NT	-	-	+
Cleavage of carbohydrate				
Sucrose	AG	-	A	AG
Arabinose	AG	AG	-	AG
Lactose	A or AG	-	-	(AG)
Cellobiose	-	-	-	AG
Salicin	(A)	-	-	(A)

NT: not tested, A: acid, G: gas, (): weakly or delayed.

表5. 各種魚類に対するNo.79-01菌株の病原性

Table 5. Pathogenicity of the isolates NO79-01 to various fishes

Common name of fish used	Body weight range(g)	Number of fish died							Mortality (%)
		Days after inoculation							
		1	2	3	4	5	6.....9	total	
Gold fish	4 - 5	1	1			1		3	100
Yellowtail	180 - 220			1			1	2	100
Red sea bream	18 - 42			2				2	100
Japanese striped knifejaw	40 - 59							2 2	100
Control (Same as above fishes)									0

Each fish was intramuscularly injected with 1.0mg of viable cells per 100g of fish body weight.

表6. 各種環境水中におけるNo.79-03菌株の生存能

Table 6. Survival of the isolate NO79-03 in various suspending media at 22°C

Suspending	Viable cells / 1 ml (days)					
	0	1	4	7	9	16
Tap water	35×10^5	0	0	—	—	—
3% NaCl containing water	35×10^5	3×10^4	0	—	—	—
Sea water	35×10^5	65×10^5	13×10^3	14×10^3	12×10^3	0

Suspending media were sterilized by autoclaving (121°C, 15min) and were incubated static between sampling.

表7. 本分離菌株の薬剤感受性

Table 7. Drug sensitivity of isolates from amago salmon

Drug	Strain				
	NO79-01	NO79-02	NO79-03	NO79-04	NO80-01
Chloramphenicol	+++	+++	+++	+++	+++
Oxytetracycline	+++	+++	+++	+++	+++
Nalidixic acid	+++	+++	+++	+++	+++
Oxolinic acid	+++	+++	+++	+++	+++
Thiamphenicol	+++	+++	+++	+++	+++
Aminobenzyl penicillin	+++	+++	+++	+++	+++
Sodium nifurstyrenate	++	++	++	++	++
Sulfisoxazol	—	—	—	—	—

Sign (—~+++) represents degree of sensitivity.

Abstract

In winter 1978 - 1979, we sampled moribund amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus*, from an experimental mariculture project in Nagasaki Prefecture.

The isolates from kidney were submitted to characterization tests, agglutination tests with anti-*Aeromonas salmonicida* serum (MIMATA '74), pathogenicity tests with various species of fishes, viability tests in various media, and sensitivity tests of various drugs.

Putting these results together, this disease was diagnosed as furunculosis caused by a variety of *A. salmonicida*, with abilities to kill marine fishes and survive decidedly better in sea water than in fresh water.

文 献

- 1) BUCHAMAN, R. E. and N. E. GIBBONS, 1974: Berg-ey's manual of determinative bacteriology, 8th ed.. Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1246 pp.
- 2) 坂崎利一, 1969: 医学で扱われるブドウ糖発酵性のグラム陰性かん菌 (その2). モダンメディア, 15(7), 394 - 400.
- 3) T. P. T. EVELYN, 1971: An aberrant strain of the bacterial fish pathogen *Aeromonas salmonicida* isolated from a marine host, the sablefish (*Anoplopoma fimbria*), and from two species of cultured Pacific salmon. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 28 (10), 1629-1634.
- 4) 木村喬久, 1969: 催熟蓄養中のサクラマスならびにカラフトマスに発生した癩瘡病様疾病の原因菌に関する分類学的研究-1, 原因菌の形態学的, 生化学的ならびに生物学的性状による分類上の位置. 魚病研究, 3 (2), 34-44.

