情 報

マダイ稚魚からの *Vibrio anguillarum* の分離

室 賀 清 邦*・田 谷 全 康*

(昭和 56 年 12 月 4 日受理)

Isolation of *Vibrio anguillarum* from Juvenile Red Sea-Bream (*Pagrus major*)

Kiyokuni MUROGA* and Masayasu TATANI*

*Fac. Appl. Biol. Sci. Hiroshima University, Fukuyama, 720

(Received December 4, 1981)

Although vibrioses caused by *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* and some other unnamed vibrios have been reported in reared juvenile or farmed red sea-bream (*Pagrus major*), *V. anguillarum* infection of the fish species has never been reported so far in Japan.

In June 1981, *V. anguillarum* was isolated from reared juvenile red sea-bream (average body length 17 mm) as a cause of an epidemic outbreak in a hatchery. At the same time, other two strains which had been isolated from the same fish species at another hatchery in 1978 were also identified as *V. anguillarum*.

The infection caused by the organism seems to be one of the significant diseases in artificial seed production of red sea-bream.

わが国において現在まで *Vibrio anguillarum* によるビブリオ病の発生が報告されている魚種としては、アユ *Plecoglossus altivelis* (MUROGA and EGUSA, 1967), ニジマス *Salmo gairdneri* (HOSHINA, 1956), ニホンウナギ *Anguilla japonica* (城・室賀, 1972), ヨーロッパウナギ *A. anguilla* (MUROGA et al., 1976), アマゴ *Oncorhynchus rhodurus* var. *macrostomus* (杉山・植木, 1979; 藤田, 1980), ボラ *Mugil cephalus* (鈴木, 1974), ブリ *Seriola quinqueradiata* (室賀, 1975; 藤田, 1978; 城ら, 1979; 楠田ら, 1979; 絵面ら, 1980), カンパチ *S. purpurascens* (室賀, 1975; 楠田ら, 1979; 絵面ら, 1980), ギンザケ (ギンマス) *O. kisutch* (藤田, 1980; 田島ら, 1981), およびヤマメ *O. masou* var. *ishikawae* (藤田, 1980) がある。

マダイ *Pagrus major* においては、種苗生産過程あるいは養成期間中にビブリオ病が発生することは知られており、その原因菌として *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, ブリの潰瘍病の原因菌として知られる

Vibrio sp., あるいは主として冬期に発生するビブリオ病の原因菌といわれる *Vibrio* sp. が報告されているが (岩田ら, 1977; 安永・山元, 1977; 楠田ら, 1979; 絵面ら, 1980), *V. anguillarum* が報告された例はない。

今回、著者らは日本栽培漁業協会伯方島事業場において、種苗生産過程に発生したマダイ病魚について細菌学的検査を行う機会を得、それらから *V. anguillarum* を分離したので、以下に簡単にその分離状況ならびに分離株の性状について報告する。

なお、1978 年 7 月に徳島県水産試験場鳴門分場にて種苗生産過程のマダイ病魚より分離された 2 菌株を同水試の城 泰彦博士より譲り受け、検査したところやはり *V. anguillarum* に同定されたので、それらの株の性状をも併せて紹介する。

材料および方法

1981 年 6 月 18 日、伯方島事業場において斃死のみられる魚群の中から、動きの不活発なマダイ稚魚 10 尾 (平均体長 17 mm) を選び細菌検査に供した。これらの

* 広島大学生物生産学部

材料魚は同年5月4日に産卵された魚群に属し、6月16日に沖出しされた時に残された魚の一部であった。なお、材料魚を採取した時の飼育池の水温は19°Cであった。

材料魚を肉眼的に観察したところ、肛門周辺及び頭部後方の筋肉内に軽度の発赤が認められたが、ほかには特に病変は認められなかった。ただし、飼育者の観察によれば、それまでに弱ったり死亡していく魚には腸管の白濁及び下痢便が認められたという。また、検査魚の鰓を顕微鏡下で観察したところ、粘液の異常分泌、さらには一部鰓薄板上皮細胞の増生が認められたが、寄生虫の類は認められず、また滑走細菌の類も特に目立つようなことはなかった。

それらの材料魚の肝臓もしくは頭部後方筋肉部から、NaCl 2%とした普通寒天培地（栄研）及び NaCl 2%、ブドウ糖 0.5%としたハート・インフュージョン寒天培地（栄研）を用いて細菌の分離を行った。

結 果

材料を接種した培地を25°C下で2日間培養したところ、いずれの平板上にも1種類と思われる集落がほぼ純粋に出現した。それらの集落は光沢・透明感があり *V. anguillarum* の集落に似ていた。そこで、ある1尾の肝臓から分離された株を RH-8101、別の個体の頭部後方筋肉より分離された株を RH-8102 と名付け、性状検査に供した。その結果を、一般性状、糖分解能、および生

Table 1. Morphological and biochemical characteristics of *Vibrio anguillarum* isolated from diseased juvenile red sea-bream

Character	<i>Vibrio anguillarum</i>			
	RH-8101*1	RH-8102*1	MT-78001*2	MT-78002*2
Form		Short rod		
Flagella		Single polar flagellum		
Motility	+	+	+	+
Gram stain	—	—	—	—
OF test		Fermentative		
Gas from glucose	—	—	—	—
Cytochrome oxidase	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+
Litmus milk peptonization	+	+	+	+
Nitrate reduction	+	+	+	+
Gelatine liquefaction	+	+	+	+
Indole production	+	+	+	+
H ₂ S production	—	—	—	—
MR test	—	—	—	—
VP test	+	+	+	+w*3
2, 3-butanediol production	+	+	+	—
Arginine decomposition	+	+	+	+
Lysine decarboxylation	—	—	—	—
Ornithine	—	—	—	—
Citrate (Simmons)	+	+	+	+
Tartrate (Jordan)	—	—	—	—
Malonate	—	—	—	—
Phenylalanine deamination	—	—	—	—
Urease production	—	—	—	—
β-galactosidase	+	+	+	+
Starch hydrolysis	+	+	+	+
Cholera red test	—	—	—	—

*1: Strains from juvenile red sea-bream reared in Hakatajima.

*2: Strains from juvenile red sea-bream reared in Naruto.

*3: Weakly positive.

Table 2. Sugar utilization of *V. anguillarum* isolated from diseased juvenile red sea-bream

Acid from	<i>Vibrio anguillarum</i>			
	RH-8101	RH-8102	MT-78001	MT-78002
Dextrin	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+
Starch	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+
Glycogen	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+
Cellobiose	—	—	+	+
Glycerin	+	+	—	—
Trehalose	—	—	—	—
Adonitol	—	—	—	—
Dulcitol	—	—	—	—
Lactose	—	—	—	—
Xylose	—	—	—	—
Rhamnose	—	—	—	—
Raffinose	—	—	—	—
Inositol	—	—	—	—
Inulin	—	—	—	—
Salicin	—	—	—	—

理的性状などに分けて表 1~3 に示した。

それらの表には前述の鳴門分場のマダイ病稚魚から分離された MT-78001 および MT-78002 株の検査結果を併記した。

3 つの表に示されたように、これら 4 株の性状は、2,3-ブタンジオール産生 (MT-78002 株陰性)、セロビオース (RH 株陰性)、およびグリセリン (MT 株陰性) の 3 項目に違いがみられるのみで、他は完全に一致し、これら 4 株は同一種であると判断された。そしてこれらの性状はアユなどから分離されている典型的な *V. anguillarum* の性状に一致し、いずれも *V. anguillarum* と同定された。

なお、RH-8101 株をニホンウナギに筋肉内接種 (1 mg/100 g) したところ、接種魚は 1 週間以内に死亡した。また、城博士によれば MT 2 株をマダイ成魚 (体重 100 g 以上) に接種 (1 mg/100 g) したところ、2 株ともマダイを死亡させ得たという。

Table 3. Physiological characteristics and pathogenicity of *V. anguillarum* isolated from red sea-bream

	<i>Vibrio anguillarum</i>			
	RH-8101	RH-8102	MT-78001	MT-78002
NaCl tolerance				
0%	—	—	—	—
0.5	+	+	+	+
3	+	+	+	+
5	+	+	+	+
7	—	—	—	—
Growth at				
10°C	+	+	+	+
15	+	+	+	+
20	+	+	+	+
25	+	+	+	+
37	—	—	—	—
Pathogenicity for				
Japanese eel	+	NT	NT	NT
red sea-bream	NT	NT	+	+

Pathogenicity was tested by intramuscular injection (1 mg/100 g fish body weight).

NT: Not tested.

スライド凝集による反応では、4 株とも抗 *V. anguillarum* C 型血清に凝集した。

考 察

今回著者が伯方島で検査した魚群においては、飼育開始時から検査時にかけてかなりの斃死がみられたというが、その間の死亡因については明らかではない。しかし少なくとも、われわれが検査した時点では、前述の如く *V. anguillarum* がいずれの検査魚からほぼ純粹に分離されており、本菌感染症が死亡因の主体をなしていたものと考えられる。そしてこの検査結果に基づき、すでに沖出しされていた魚群にテラマイシンを 5 日間連続経口投与したところ、投与開始時には 1 日約 2,500~3,500 尾の死亡魚があったのが、投薬開始 3 日目には約 1,000 尾、4 日目には約 260 尾、5 日目には約 170 尾と死亡数が急激に減少した。

徳島水試鳴門分場のマダイ病稚魚からも本菌が分離されていることからすると、*V. anguillarum* 感染症はマダイ種育苗生産過程におけるかなり一般的な減耗因となっている可能性があり、今後の調査・研究が望まれる。

最後に、本調査の機会を与えて下さった日本栽培漁業

協会伯方島事業場の今村茂生主任および調査に協力して下さった同事業場の升間主計技師, ならびに菌株を分与下さった徳島県水産試験場の城 泰彦博士に謝意を表します。

文 献

- 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** (4), 167-179.
- 藤田眞吾 (1978): 養殖ハマチから分離された *Vibrio anguillarum*. 京都府海洋センター研報, **2** 号, 67-68.
- 藤田眞吾 (1980): 海水で飼育したマス類の病気について. 京都府海洋センター研報, **4** 号, 32-38.
- HOSHINA, T. (1956): An epidemic disease affecting rainbow-trout in Japan. *J. Tokyo Univ. Fish.*, **42**, 15-16.
- 岩田一夫・石橋 制・北尾忠利・青木 宙 (1977): マダイ 種苗生産過程におけるへい死の原因について—I. 昭和 50 年度宮崎水試事報, 267-273.
- 城 泰彦・室賀清邦 (1972): 淡水養殖ウナギから分離された *Vibrio anguillarum*. 魚病研究, **6** (2), 117-119.
- 城 泰彦・大西圭二・室賀清邦 (1979): 養殖ハマチから分離された *Vibrio anguillarum*. 魚病研究, **14** (1), 43-47.
- 楠田理一・佐古 浩・川合研児 (1979): 病魚から分離された *Vibrio* 属細菌の分類学的研究—I. 形態学的, 生物学的ならびに生化学的性状による検討. 魚病研究, **13** (3), 123-137.
- MUROGA, K. and S. EGUSA (1967): *Vibrio anguillarum* from an endemic disease of Ayu in Lake Hamana. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **33** (7), 636-640.
- 室賀清邦 (1975): *Vibrio anguillarum* およびその感染症に関する研究. 広大水畜産学部紀要, **14** (1), 101-215.
- MUROGA, K., Y. Jo and M. NISHIBUCHI (1976): *Vibrio anguillarum* isolated from the European eel (*Anguilla anguilla*) cultured in Japan. *J. Fac. Fish. Anim. Husb., Hiroshima Univ.*, **15** (1), 29-34.
- 杉山瑛之・植木範行 (1979): 養殖アマゴのビブリオ病について. 昭和 53 年度岡山水試事報, 193-196.
- 鈴木博也 (1974): 1971 年, 1972 年, 穴道湖, 神西湖の天然魚に発生した疾病について. 魚病研究, **9** (1), 91-94.
- 田島研一・吉水 守・絵面良男・木村喬久 (1981): 我が国の海面養殖ギンマスに発生したビブリオ病原菌について. 日水誌, **47** (1), 35-42.
- 安永統男・山元宣征 (1977): 1977 年冬期養殖マダイのいわゆるビブリオ病から分離された菌株の性状. 魚病研究, **12** (3), 209-214.