海面養殖開始直後に発生したギンマスのせっそう病について*¹

絵面良男*²・山本啓之*²・吉水 守*²・田島研一*²・三戸秀敏*^{2,3}・
池田和夫*⁴・佐古 浩*⁴・原 武史*⁴・木村喬久*²

(昭和 59 年 1 月 9 日受理)

An Outbreak of Furunculosis in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) at the Beginning of Marine Pen Culture

Yoshio EZURA*², Hiroyuki YAMAMOTO*², Mamoru YOSHIMIZU*²,
Kenichi TAJIMA*², Hidetoshi SANNOHE*^{2,3}, Kazuo IKEDA*⁴,
Hiroshi SAKO*⁴, Takeshi HARA*⁴ and Takahisa KIMURA*²

*²Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Minatocho, Hakodate, Japan

*³Present address: Fish Disease Academy, Japan Fishery Resource
Conservation Association, Harumi, Chuoku, Tokyo, Japan

*⁴National Research Institute of Aquaculture, Tamakicho,
Watarai-gun, Mie, Japan

(Received January 9, 1984)

Coho salmon (*O. kisutch*) reared in a freshwater pond were transported by ship from Wakayama Prefecture to Otsuchi Bay, Iwate Prefecture, in November 1979. The fish were immediately transferred to a pen for marine culture in seawater, and mortality was observed. The cumulative mortality after ten days was approximately 80 percent.

On examination of the diseased fish, *Aeromonas salmonicida* was considered to be the causative agent of the extensive mortality, but a mixed infection with *Vibrio anguillarum* was observed in a few cases. We tried to determine the origin of this disease. *A. salmonicida* was isolated from freshwater cultured coho salmon remaining in Wakayama, and relatively high agglutination titer for the organism was detected in their sera. It was concluded from this that *A. salmonicida* is probably carried by freshwater cultured fish and can be transmitted during the transport.

The results of this study suggest that it needs to control furunculosis throughout the stage of freshwater culture and to reduce physiological stress as much as possible during transport of salmon to the marine culture site.

緒 言

1979 年 11 月に岩手県大槌湾において、生簀船輸送により導入した淡水養殖 ギンマス 種苗に海面生簀移行直後、口頭部、体側、鰭基部の出血斑を主徴とした疾病が発生し、海面養殖開始後 10 日間で約 80% の斃死をみた。

この病因の究明を試みたところ、淡水飼育時に感染した *Aeromonas salmonicida* が運搬中に伝播し海水移行

後に急激に増悪したせっそう病であることを明らかにしたので、その結果を報告する。

実験材料および方法

供試魚 1979 年 11 月 21 日岩手県大槌湾海面養殖ギンマス病魚から 21 尾の供試魚を採取し供試した。本養殖ギンマスの海水移行の経過を Fig. 1 に示した。

病魚の診断 病魚の腎臓加熱抽出液を作製し木村・吉水 (1981, 1983) の coagulination test 法により、ビブリオ病、せっそう病および細菌性腎臓病の診断を実施した。

原因菌の分離 病魚の腎臓および体表患部から 1 白金耳量の検体を取り、海水寒天培地 (絵面ら 1980) 平板に

*¹ 本研究の一部は昭和 55 年度日本水産学会春季大会において発表した。

*² 北海道大学水産学部

*³ 現在、日本水産資源保護協会魚病研修センター

*⁴ 養殖研究所病理部

塗抹し、25°C 3 日間培養後、生じた集落を FWA 培地 (YOSHIMIZU & KIMURA 1976) および海水寒天培地により純粹分離を繰り返し、分離菌を得た。

分離菌株の性状検査および病原性試験 常法に従い分離菌株の性状検査を実施した。また分離菌株から代表菌株 1 株を選び、金魚 (平均体重 17.7 g, 平均体長 8.3 cm) に筋肉内接種し病原性を観察した。

淡水飼育池残存魚の原因菌保菌状況調査 本種苗魚を生産した和歌山県下 A 養魚場において輸送種苗魚と同一群の残存ギンマスのうち斃死魚 1 尾と外見上正常な 7 尾を供試した。供試魚の患部または腎臓および血液を試料としてトリプトソーヤ寒天培地 (ニッスイ) およびブ

レインハートインヒュージョンバイヨン (ニッスイ) を用いて菌の分離を試みた。さらに 5 尾より採血し、血清を分離し *A. salmonicida* (ATCC 14174) および *Vibrio anguillarum* (NCMB 829) に対する凝集抗体価を測定した。

結 果

種苗魚の飼育・輸送経過 発病した種苗魚の飼育・輸送経過の概要は Fig. 1 の通りである。和歌山県下 A 養魚場で 1979 年 3 月ギンマス稚魚 150 万尾 (魚体重 0.9~3.0 g) を購入し、同年 11 月まで淡水飼育した。この間、せつそう病やビブリオ病による斃死は観察されなかつ

Fig. 1. History of coho salmon observed in this study.

Table 1. Cumulative mortality of marine cultured coho salmon due to an outbreak of furunculosis for ten days after transport into 3 different culture sites by the same vessel

Place	No. of fish transported at November 17th	For ten days (to November 27th)		
		No. of fish survived	No. of fish died	Percent of mortality
Otsuchi	26000 (3.6t)*	5200 (0.7 t)	20800 (2.9 t)	80%
Hirota	70000 (8.4t)	21000 (2.5 t)	49000 (5.9 t)	70%
Kesenuma	10000 (1.2t)	500 (0.06t)	9500 (1.14t)	95%
Total	106000 (13.2t)	26700 (3.26t)	79300 (9.94t)	75%

* Ton.

Table 2. Clinical sign of the diseased coho salmon, diagnosis by coagglutination test and isolation of pathogens in Otsuchi Bay, November 21th, 1979

Fish pen No.	Fish No.	Body weight (g)	Body length (cm)	Superficial			Autopsical			Coagglutination test using staphylococci sensitized with anti-			Isolation	
				petechial haemorrhage		ulcer and swelling	anemia	haemorrhage	swelling	As* ¹	Va* ²	Rs* ³	As* ¹	Va* ²
				head part	ventral, pectoral fin	ventral, lateral region	liver	intestinal tract	spleen					
2	1	157	21.5	+	—	+	+	—	+	+	—	—	+	—
	2	116	19.5	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+	—
	3	102	18.5	+	—	+	—	—	—	+	—	—	+	—
	4	144	21.2	+	+	—	+	—	—	+	—	—	+	—
	5	121	19.3	+	+	—	+	—	—	+	—	—	+	—
	6	163	22.0	+	—	—	+	—	+	—	—	—	+	—
	7	119	20.5	+	—	—	—	—	—	+	+	—	+	+
1	8	229	24.3	+	—	+	+	—	—	+	—	—	+	—
	9	225	24.5	—	—	+	+	+	—	—	—	—	+	—
	10	234	23.7	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—
	11	187	22.5	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—
	12	184	23.0	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+
	13	205	23.2	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	14	278	24.0	+	+	—	+	—	—	+	—	—	+	—
3	15	133	20.4	+	—	+	+	—	+	+	+	—	—	+
	16	159	21.5	+	+	+	+	—	—	+	—	—	+	—
	17	117	20.0	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+	—
	18	158	22.2	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—
	19	110	20.1	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—
	20	137	21.0	+	+	—	—	—	—	+	—	—	+	—
	21	165	22.7	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—

*¹ *Aeromonas salmonicida*, *² *Vibrio anguillarum*, *³ *Renibacterium salmoninarum*.

た。同年11月14日, 11万尾(約14t)をニトロフラン剤による薬浴後, トラックで近隣の港まで運び, 直ちに運搬船(427t)の活魚槽(27~30m³, 水深2.5m, 12槽, 活性炭およびサンゴ砂ろ過装置付)に移した。船内の飼育水は海水馴致のため淡水100tと海水180tを混合したもの(水温14°C)を使用した。11月17日に大槌湾に到着したが, 当時, 現地の海水温度が19°Cであったため水槽水温を調節後, 26,000尾(36t)を海面養殖生簀に移した。残りの種苗は同様にして気仙沼(1.2t)と広田(8.4t)に移入した。海水へ放養直後から, 種苗魚は活動が鈍く, 殆んど魚は摂餌することなく, また斃死するものも観察された。11月21日の調査時までに約50%の斃死があり, 移入10日後の11月27日には大槌で80%, 広田で70%および気仙沼で95%の大量斃死が確認された(Table 1)。なお, 11月21日調査時の大槌湾生簀表面水の水温は18°C, 塩分は33.5~33.9‰であった。

病魚の症状, 診断および原因菌の分離 採取した病魚21尾についての調査結果をTable 2に示した。外見的に口頭部および鰭(胸, 腹)の出血斑, 体側のスレおよび膨隆が観察され剖検では肝臓の貧血色, 腸管出血, 脾臓の肥大がみられた。病魚の腎臓加熱抽出液についてcoagglutination testによる診断を試みた結果, 21尾中15尾で抗*A. salmonicida*血清感作staphylococciと反応陽性を示した。また, これら15尾中の2尾はさらに抗*V. anguillarum*(J-O-3型)血清感作staphylococciとも反応陽性を呈した。なお細菌性腎臓病と診断されるものは

なかった。同時に病魚からの菌の分離を行った結果, 19尾から後述の性状検査で*A. salmonicida*と同定されたものの32株および*V. anguillarum*(J-O-3型)3株が分離された。coagglutination testおよび菌の分離結果を合せ考えると, 供試魚21尾はすべてせつそう病罹病魚であり, かつ, そのうち3尾は*V. anguillarum*の感染も受けていたと考えられる。

原因菌の来源調査 種苗を生産した和歌山県A養魚場の養殖池において残存したギンマスから8尾を採取し, 菌の分離および*A. salmonicida*および*V. anguillarum*に対する凝集抗体価を調べた(Table 3)。8尾中せつそう病様症状を呈した斃死魚1尾から*A. salmonicida*が分離され, かつ外見上正常な5尾の同菌に対する抗体価は40~160倍と若干高い値を示した。*V. anguillarum*に対する抗体価は殆んど認められなかった。

分離菌の性状 大槌湾病魚分離菌32株中の代表株12株および和歌山県A養魚場斃死魚から分離した1株の計13株について各種性状検査を行った(Table 4)。その結果, 分離菌株は対照菌株として用いた*A. salmonicida* subsp. *salmonicida* NCMB 1102とほぼ一致した性状を示し, Bergey's manual 第8版(1974)の記載とも一致することから, *A. salmonicida*と同定された。なお, 分離した*V. anguillarum*については田島ら(1981)がすでに報告している。また, 12株中の4株についてクロラムフェニコール, ストレプトマイシン, テトラサイクリン, ナリジクス酸, スルファモノメトキシン, トリメトプリムに対する感受性を調べたが, 薬剤耐性は認めら

Table 3. Clinical sign, isolation of pathogens and agglutinating antibody titer in sera of tested fishes remaining in freshwater ponds at the farm in Wakayama Prefecture

Fish No.	Body weight (g)	Body length (cm)	Clinical sign	Isolation of <i>A. salmonicida</i>	Agglutination titer for	
					<i>A. salmonicida</i> (ATCC 14174)	<i>V. anguillarum</i> (NCMB 829)
1	22.6	12.3	ulcer & swelling in lateral region, haemorrhage in intestinal tract	+	Nt*	Nt
2	16.6	11.0	pinhead	—	Nt	Nt
3	7.7	8.7	pinhead	—	Nt	Nt
4	nt	nt	normal	—	× 80	<2
5	nt	nt	normal	—	× 160	<2
6	47.5	14.8	normal	Nt	× 160	<2
7	42.9	14.2	normal	Nt	× 80	<2
8	40.8	14.1	normal	Nt	× 40	<2

* Not tested.

Table 4. Characteristics of isolated strains

	Isolated strains		<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i> (NCMB 1102)	<i>A. salmonicida</i> subsp. <i>masoucida</i> (1-a-1)	<i>A. hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i> (IAM 1018)	<i>A. punctata</i> subsp. <i>punctata</i> (IAM 1646)	<i>A. liquefaciens</i> (EFDL)
	Otsuchi 12	Wakayama 1					
Gram	—	—	—	—	—	—	—
Cell form	Sr* ¹	Sr	Sr	R* ²	R	R	R
Motility	—	—	—	—	+	+	+
Flagella	—	—	—	—	Pol* ³	Pol	Pol
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+
Brown pigment	+	+	+	+	—	—	—
OF test	F* ⁴	F	F	F	F	F	F
Gas from							
glucose	+	+	+	—	+	+	+
glycerol	—	—	—	—	—	+	+
Acid from							
arabinose	—	—	—	—	—	—	—
galactose	+	+	+	+	+	+	+
mannitol	+	+	+	+	+	+	+
sucrose	+	+	—	+	+	+	+
Indol	—	—	—	+	+	+	+
H ₂ S	—	—	—	+	+	—	+
Lysine decarboxylase	—	—	—	—	+	+	+
Ornithin "	—	—	—	—	—	—	—
Arginine "	—	—	—	—	—	+	+
Utilization of glucose	—	—	—	—	+	+	+
L-arginine	—	—	—	—	+	+	+
L-asparagine	—	—	—	—	+	+	+
L-histidine	—	—	—	—	—	—	—
L-glutamic acid	—	—	—	—	—	—	—
L-serine	—	—	—	—	—	+	+
L-alanine	—	—	—	—	—	—	+
Growth at 37°C	—	—	—	—	+	+	+
Growth in 0% NaCl	+	+	+	+	+	+	+

*¹ Short rod, *² Rod, *³ Polar flagella, *⁴ Fermentative.Table 5. Pathogenicity of the representative isolated strain (No. 1-A) on goldfish*¹ by intramuscular injection

Dose (wet weight)	Number of survived fish			
	Days after injection			
	1	2	3	4
3.0 mg/0.1 ml/fish	4/5* ²	0/5		
0.3 mg/0.1 ml/fish	5/5	5/5	3/5	0/5

*¹ Mean body weight 17.7 g, mean body length 8.3 cm.*² Number of survived fish/number of challenged fish.

れなかった。

病原性 分離菌株の代表株 1 株 (No. 1-A) の生菌を金魚に筋肉内接種したところ、湿重量 0.3 mg/0.1 ml/尾で、4 日目までに接種部位の立鱗、膨隆、腎臓の充血などを伴って斃死し、接種部位および腎臓より接種菌が再分離された (Table 5)。

考 察

1979 年 11 月に岩手県大槌湾で海水生質養殖開始直後に発生したギンマスの疾病はせっそう病であることが明らかとなった。これまでに、*A. salmonicida* が海水中で

もサケ科魚類に感染・伝播する可能性は SCOTT (1968) や NOVOTONY (1978) らにより示唆されているが、本調査における発病は海水移行直後であることから海水移行後の感染・伝播とは異なるものと考えられる。そこで、本調査結果に基づいて本病発生の経過を考察してみると次の通りである。まず、種苗飼育池残存魚の調査から、輸送種苗魚中には淡水飼育期にすでに *A. salmonicida* を保菌状態または潜伏期のものが混在していたと推測される。そして、トラックおよび船による輸送、さらにその間に実施された海水馴致、加えて生簀海水温度に合わせるための急激な温度調節などが種々のストレスとして働き、発病を誘発し大量斃死に至ったものと考えられる。さらに供試魚中には *A. salmonicida* とともに *V. anguillarum* も検出されており、このような混合感染も被害の増大に関与していた可能性が考えられる。

以上のような経過を経たせう病の発生は非常に稀れであると思われるが、今後、このような事態の再発を防ぐためにも、種苗の飼育管理を充分行うことは勿論、輸送前の疾病あるいは保菌魚の有無のチェックを厳重に行う必要があり、さらには輸送などに伴うストレスを可能な限り軽減する努力が肝要であると思われる。

謝 辞

本研究の遂行にあたり種々の御高配・御協力を頂いた東京大学海洋研究所大槌臨海研究センターおよび大槌漁業協同組合の各位に深謝する。

文 献

- 絵面良男・山本啓之・吉水 守・田島研一・木村喬久 (1980): 大槌湾サケマス海面養殖海域の微生物学的調査. 大槌センター報告, **6**, 51-62.
- 木村喬久・吉水 守 (1981): 特異抗体感作 staphylococci を用いた coagglutination test によるサケ科魚類の細菌性腎臓病 (BKD) の迅速診断法について, 日水誌, **47**, 29-39.
- 木村喬久・吉水 守 (1983): 特異抗体感作 staphylococci を用いた coagglutination test のセッソウ病迅速診断への応用について. 魚病研究, **4**, 259-262.
- NOVOTONY, A. (1978): Vibriosis and furunculosis in marine cultured salmon in Puget Sound, Washington, *Mar. Fish. Rev.*, **37**, 36-47.
- SCOTT, M. (1968): The pathogenicity of *Aeromonas salmonicida* (Griffin) in sea and brackish water. *J. gen. Microbiol.*, **50**, 321-327.
- 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**, 35-42.
- YOSHIMIZU, M. and T. KIMURA (1976): Study on the intestinal microflora of salmonids, *Fish Pathology*, **10**, 243-259.