

1977年産クルマエビ種苗のいわゆる 中腸腺白濁症から分離した菌株の性状

安永統男・山元宣征

Characteristics of Bacterial Strains Isolated from the Disease of Mid-Gut Gland (Hepatopancreas) Characterized with White and Cloudy Coloration in the Seedling of Prawn, *Penaeus japonicus*, in 1977

Norio YASUNAGA and Nobuyuki YAMAMOTO

クルマエビ種苗生産時に発生するいわゆる中腸腺白濁症において、*Vibrio* ないしはその近縁菌が果たす役割には不明な点も多いが、病エビの斃死にそれらが何らかの係わりを持つことが疑われている。¹⁻³⁾

先の報告³⁾で、本症罹患エビの中腸腺から分離した菌株の基本的な性状について若干触れたが、より詳細な性状の把握が必要と考えられたので再度菌の分離を試みた。分離菌の復元性は確かめできなかったが、全株がその接種によってクルマエビ稚エビ(平均体重0.5g)を斃死させ得ることを確認したものであり、一応病原菌とみなし細菌学的性状を検討した。

材料および方法

長崎県水試増養殖研究所で飼育中のクルマエビ

種苗のうち、病気の進行が顕著に認められた同一飼育水槽内の健康エビおよび中腸腺の白濁が明瞭な病エビ各10尾(P14~15, 9月末)を採取した。採取した試料をまず70%エチルアルコールに浸漬し、続いて滅菌生理食塩水で洗浄後中腸腺の一部を露出させ、白金耳を用いて中腸腺から3%食塩加普通寒天培地に塗抹した。健康エビ中腸腺から塗抹した平板上には菌の発育は認められなかったが、病エビ中腸腺から塗抹した平板上にはすべて菌の発育が認められた。そのなかで純培養状に発育した9株を釣菌し、3%食塩加普通寒天培地で純培養したのち以後の試験に供した。分離菌の各種性状試験は常法に準じて行い、通常培地の食塩濃度が3%になるように食塩を加えて32℃で培養した。

結

果

3%食塩加普通寒天培地における32℃培養での分離菌の発育はいずれも良好で、3株(P7-1~P7-3)は培地全面に広がる明瞭な遊走発育を示した。他の6株(P7-4~P7-9)は24時間培養後では直径1.5~2.0mmの正円、周辺円滑な白色(培地色に近い)半透明集落を形成し、72時間培養後では直径8.0mmの集落となった。なお、液体培地における発育では遊走発育のみられた3株のみが薄い菌膜を形成した。

表1にこれら分離菌の形態学的ならびに生化学的性状を示した。分離菌はいずれも極在単毛を有する運動性のグラム陰性無芽胞桿菌で、チトクローム・オキシダーゼ(+), カタラーゼ(+), ブドウ糖発酵性(+), ブドウ糖からのガス産生(-), ウレアーゼ(-), 硝酸塩(+), 硫化水素(-), アミノ酸脱炭酸性(リシン, アルギニン, オルニチン, +++) ,

マンニット(+), イノシット(-)など多くの項目で一致する性状を示したが、前述の遊走発育性のほか食塩耐容性, 発育温度およびその他いくつかの性状で菌株間に相違がみられた。これらの性状の相違に基づけば、今回の分離菌は2菌群に分けられる。2菌群間で相違した性状について述べると、まず第I群(P7-1~P7-3)は食塩濃度が0.5%および10%でも発育する広塩型の菌で、遊走発育性(+), 42℃での発育性(+), MR(-), V P(+), 2, 3-ブタンジオール(+), β -ガラクトシダーゼ(-), ガラクトース(-), 白糖(+), セロビオース(-), グリセリン(+), ズルシット(-)の性状を示した。一方、第II群(P7-4~P7-9)は食塩濃度が0.5%および7%では発育しない狭塩型の菌で、第I群とは先の諸性状でそれぞれ逆の結果を示した。なお、同一菌群内の菌株間では、第I群のアラビノース利用性を除いた他のすべての性状でお互いが一致した。

表1 分離菌株の生物学的性状

試 験	P 7-1	P 7-4	コレラレッド	+	+
	}				
	P 7-3	P 7-9	メチレンブルー	+	+
形 態	桿状	桿状	42℃での発育	+	-
べ ん 毛	M	M	ペプトン水:食塩濃度0%	-	-
芽 胞	-	-	0.5%	+	-
運 動 性	+	+	1%	+	+
グ ラ ム 染 色	-	-	6%	+	+
遊 走 発 育	+	-	7%	+	-
ブドウ糖発酵	+	+	10%	+	-
ブドウ糖からのガス	-	-	酸 産 生:アラビノース	+-	+
チトクローム・オキシダーゼ	+	+	キシロース	-	-
カタラーゼ	+	+	ラムノース	-	-
ウレアーゼ	-	-	ブドウ糖	+	+
フェニルアラニン・デアミナーゼ	-	-	果 糖	+	+

0/129 感受性	+	+	マンノース	+	+
硝酸塩	+	+	ガラクトース	-	+
ゼラチン	+	+	白糖	+	-
インドール	+	+	乳糖	-	-
M R	-	+	麦芽糖	+	+
V P	+	-	トレハロース	+	+
2,3-ブタンジオール	+	-	セロビオース	-	+
硫化水素	-	-	ラフィノース	-	-
I P A	-	-	デンプン	+	+
アルギニン加水分解	-	-	デキストリン	+	+
アルギニン・ジヒドロラーゼ	-	-	グリコーゲン	+	+
リシン・デカルボキシラーゼ	+	+	イヌリン	-	-
オルニチン・デカルボキシラーゼ	+	+	グリセリン	(+)	-
デンプン	+	+	エリトリット	-	-
カゼイン	+	+	アドニット	-	-
クエン酸塩 (Simmons)	+	+	マンニット	+	+
d-酒石酸塩	+	+	ズルシット	-	+
マロン酸塩	-	-	ソルビット	-	-
グルコン酸	-	-	サリシン	-	-
Tween 80	+	+	イノシット	-	-

M……単毛, (+)……遅れて弱く陽性

表2に分離菌の薬剤感受性を示した。すべてニトロフラン剤、クロラムフェニコール、テトラサイクリンなどに強い感受性を示したが、ペニシリン、スピラマイシンには耐性であった。アミノペ

ンジルペニシリン、ストレプトマイシン、オレアンドマイシン、コレスチンには菌株により感受性に差異がみられ、サルファ剤に耐性の菌株も1株みられた。

表2 分離菌株の薬剤感受性

薬 剤	P7-1	P7-2	P7-3	P7-4	P7-5	P7-6	P7-7	P7-8	P7-9
スルファモノメトキシ	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
スルフイソゾール	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
スルフイソキサゾール	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
フラゾリドン	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ジハイドロオキシメチルフラトリジン	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
クロラムフェニコール	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
チアンフェニコール	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
テトラサイクリン	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
デメチルクロルテトラサイクリン	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ペニシリン	-	-	-	-	-	-	-	-	-
アミノベンジルペニシリン	+	-	++	-	-	-	-	-	-

ストレプトマイシン	++	++	++	+	+	+	+	+	+
カナマイシン	+	+	+	+	+	+	+	+	+
オレアンドマイシン	++	+	+	+	-	+	-	-	+
スピラマイシン	-	-	-	-	-	-	-	-	-
コリスチン	++	++	++	++	++	+	++	++	+
ノボビオシン	++	++	++	++	++	++	++	++	++
ナリジキシット・アンド	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

感受性ディスク用培地“栄研”，主として昭和ディスク使用
32℃，24時間培養後発育阻止帯を測定し判定

考 察

分離菌はいずれも一端に一本のべん毛を有するグラム陰性無芽胞桿菌で，チトクローム，オキシダーゼおよびカタラーゼを産生し，ブドウ糖を発酵して酸を産生するがガスを産生しない。加うるにアミノ酸脱炭酸試験においてリシンに活性を示すがアルギニンには不活性であり，マンニットから酸を産生するなど *Vibrio* 属の主要性状⁴⁾ に合致する。G+C%を別にすれば，今回の分離菌は疑いもなくこの属に含まれる。

先に群別した第I群は食塩耐容性，遊走発育性，発育温度，VP試験および白糖分解性において，*Vibrio alginolyticus* の特徴的性状を示し，坂崎⁵⁾ (1967)の記載と一致する。このことから，第I群の菌を *V. alginolyticus* に同定することは可能と思われる。

第II群は検査した範囲内の性状からみて，*Marine vibrio biotype 6330-63* (坂崎，⁵⁾ 1967) に該当する菌群および種苗用マダイ

のストレに因る潰瘍性疾病から分離されたM1625-6 (安永⁷⁾，1972) に近似の菌と思われる。

Marine vibrio biotype 6330-63 とはアラビノース分解性に，M1625-6 とは2，3-エプタンジオールの脱水素性およびソルビットなど2~3の糖分解性に差異がみられる以外はよく一致した。

これまでにも，いわゆる中腸腺白濁症罹患エビから分離された菌の性状については上田・北上²⁾ (1976)の詳しい報告がある。上田・北上は分離菌6株のうち4株を *V. alginolyticus* およびその類似菌とし，あとの2株を *V. parahaemolyticus* として報告している。彼らがオルニチン脱炭酸性陰性を理由に *V. alginolyticus* 類似菌とした菌株も，*V. alginolyticus* の本性状が菌株により異なる⁵⁾ ことからみて，明らかに，*V. alginolyticus* に同定されるべきものであろう。また，*V. parahaemolyticus* に同定された2菌株を坂崎⁴⁻⁶⁾の記載と照らしてみると，その食塩耐容性(食塩濃度0.5~7%で発育)は

V. parahaemolyticus (食塩濃度 0.5~8%で発育)のそれに近いものであるが、発育温度(42℃で発育せず)およびセロビオース分解性(+)からは前記の *Marine vibrio biotype 6330-63* に類似する。これらのことは、同報告にある中腸腺白濁症以外の病エビ由来の菌株についても同様にいえる。周知のごとく、*V. parahaemolyticus* は食品衛生上からも軽視できないものであり、特に本菌の同定に当ってはより慎重な検討を要しよう。これら分離菌の同定の妥当性は別としても、上田・北上の菌株がいずれも今回の分離と類似性状の菌であることは興味深い。

クルマエビ種苗のいわゆる中腸腺白濁症の発症には、細菌のほかウイルスまたは農薬の関与も考えられているが、これらが単独で本症を惹起させ得るのか否か、あるいはまた、本症がこれらの共働作用に因る疾病なのか否かは明らかにされていない。いずれにしても、本症罹患エビからクルマエビ稚エビに対して致死性のある *Vibrio* 属の菌が高率に単離されたことから類推して、これら菌群が少なくとも今回の病エビ斃死の直接的原因の一つであるものと考えられる。しかしながら、その感染機序には不明な点も多く、一般に条件性病原菌とみなされる *Vibrio* を本症の一次的病因とすることには問題が残る。むしろそこには、宿主側の何らかの生理的感染条件の成立もしくは先行する未知の感染誘発要因の介在も考えられる。

また、本症の典型的病徴とされる中腸腺の白濁現象そのものも、単に分離菌を接種するだけでは再現されない結果をみており、それが試験設定条件等方法上の問題に因る結果なのか、それとも、*Vibrio* の感染とは別のものに起因する病徴なのかは現段階では何ともいえない。以上のような観点から、中腸腺の白濁現象を含めた復元試験の確立は、本症の解明上重要な意義を持つものと思われ、今後多方面からの詳細な検討が望まれる。

要 約

1. 1977年、長崎県水試増養殖研究所において発生したクルマエビ種苗のいわゆる中腸腺白濁症罹患エビから、クルマエビ稚エビに対して致死性のある9菌株を分離し、分離菌について細菌学的性状を検討した。
2. 分離菌はいずれも *Vibrio* 属の基本的性状を満足し、他のいくつかの主要な性状の相違に基づいて2群別された。
3. 第I群(3株)は *Vibrio alginolyticus* に同定可能であり、第II群(6株)は *Marine vibrio biotype 6330-63* (坂崎, 1967) および *M1625-6* (安永, 1972) に近似の菌であった。
4. これら分離菌は、少なくとも今回の病エビ斃死の直接的原因の一つと考えられた。

文 献

- 1) 山口県内海水試, 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。
- 2) 上田忠男・北上一男, 1976: 養殖クルマエビから分離された病原菌について. 昭和50年度鹿児島県水試事業報告書, 調査部編, 24-30。
- 3) 山本博数・北田哲夫・山元宣征・安永統男, 1977: 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. 長崎県水試研究報告, 3号, 10-15。
- 4) 坂崎利一, 1972: ビブリオの分類(第2回国際ビブリオ分類委員会の記録から). モダンメディア, 18(4), 193-200。
- 5) 同上, 1967: II-3 腸炎ビブリオとその類似細菌, 分類学的研究. 腸炎ビブリオ第II集, 藤野恒三郎・福見秀雄編, 納谷書店, 東京, 83-115。
- 6) 同上, 1967: III-1 腸炎ビブリオの分離と同定. 同書, 119-137。
- 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。