



Title	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
Author(s)	田島, 研一; 吉水, 守; 絵面, 良男 他
Citation	日本水産学会誌, 47(1), 35-42 https://doi.org/10.2331/suisan.47.35
Issue Date	1981-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/38611
Rights	© 1981 公益社団法人日本水産学会
Type	journal article
File Information	yoshimizu-21.pdf



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

田島 研一・吉水 守・絵面良男・木村 喬久

(1980 年 9 月 24 日受理)

Studies on the Causative Organisms of Vibriosis among the Pen-Cultured Coho Salmon *Oncorhynchus kisutch* in Japan*¹Kenichi TAJIMA*², Mamoru YOSHIMIZU*², Yoshio EZURA*²,
and Takahisa KIMURA*²

In the period 1977-1979, 7 epizootics occurred among the pen-cultured coho salmon *Oncorhynchus* in the Tohoku district and Hokkaido, Japan. Thirty-eight vibrio strains were isolated from the diseased fish as causative organisms. The isolates were studied taxonomically and serologically.

The results obtained were summarized as follows:

1) Of the 38, 33 strains (No. 1-No. 33) were identified as *V. anguillarum*, and they all showed positive agglutination with rabbit antiserum against *V. anguillarum* type J-O-3.

2) The pathogenicity of a representative strain (No. 1) of those 33 strains (No. 1-No. 33) was demonstrated by immersion method (ca. 10^6 cells/ml, 10 min.) using chum salmon *O. Keta* fingerlings.

3) Five strains (No. 34-No. 38) of vibrio isolates at Abuta, Hokkaido were found to be different from *V. anguillarum* on the basis of taxonomy and serology. Also, the representative strain (No. 37) of those failed pathogenicity against rainbow trout *Salmo gairdneri* and coho salmon fry.

On the basis of the above results, those five organisms were assumed to be secondarily infected organisms.

我が国における養殖対象魚である、アユ、ウナギ、ハマチ、マダイ等¹⁻⁵⁾のいわゆるビブリオ病に関する研究報告はこれまでに数多い。一方サケ科魚類については現在までにニジマス、ヤマメ、アマゴ⁶⁻¹¹⁾等淡水飼育魚に限り本病の発生が報告されているが、その原因菌として分離された菌株は従来魚類ビブリオ病原菌として考えられている *Vibrio anguillarum* とは分類上若干異なることが著者らにより明らかにされている¹²⁾。ところで近年東北地方や北海道においてギンマスの海中養殖が進められているが、最近それらに本病の発生が多発するようになってきている。著者らはその原因菌について検討を行い、それが淡水飼育のサケ科魚類の場合と異なり、真性の *V. anguillarum* 感染によることを明らかにしたので報告する。

材料および実験方法

供試菌株 1977 年から 1979 年にかけて東北地方の志

津川と大槌湾、北海道の虻田と苫多布の計 4 ケ所の養殖場におけるビブリオ病と思われる病魚から分離した 38 菌株を実験に供試した。供試菌の由来は Table 1 に、病魚の症状は Table 2 にまとめた。また対照菌株として Table 3 に示す *V. anguillarum* 4 株を用いた。なお各種性状検査は Table 1 に示した海水培地¹³⁾(但し人工海水濃度 30%)を用い、培養温度は 25°C で実施した。通常海水培地を使用しない性状検査用培地でも 30% 人工海水を溶媒として用いた。

形態学的性状検査 海水培地斜面における 24 時間培養菌について、発光能、グラム染色性 (HUCKER の変法)、運動性 (懸濁標本)、鞭毛染色性 (WEST らの方法¹⁴⁾)を観察した。

生物学的性状検査 発育温度: 減菌 1/6 人工海水約 2 ml に培養菌を 1 白金耳懸濁し、その 1 白金耳を海水培地平板に画線培養し、0, 5, 15, 30, 37°C および 42°C における発育の有無を観察した。

*¹ 本報告の概要は昭和 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微生物学講座 (Laboratory of Microbiology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041, Japan).

Table 1. Source of the isolates

Strain No.	No. of strains	Location	Data	Temp. of sea water (°C)	Media for isolation	Organ	Assumed mortality (%)
1~7	7	Shizugawa	'77. 7. 18	20~21	Sea water agar* ¹	Kidney	
8~12	5	Kirittapu	'78. 7. 28	12~18	Nutrient agar	"	19
13~22	10	Otsuchi Bay	'79. 7. 13	19~20	Sea water agar* ² BTB Teepol agar BS medium base A	Kidney Spleen etc.	
23~27	5	Kirittapu	'79. 8. 25	13~17	Sea water agar* ² BHI (1.5% NaCl)	Kidney	9
28~30	3	"	"	"	Sea water agar* ²	"	"
31~33	3	Otsuchi Bay	'79. 11. 21	17~18	Sea water agar* ²	Kidney Skin lesion	
34~38	5	Abuta	'79. 8. 24	19~20	Sea water agar* ²	Kidney	8

*¹ polypeptone 0.5%
yeast ext. 0.25
beef ext. 0.25
glucose 0.1
Art. sea water 750 ml
Dist. water 250 ml

*² polypeptone 0.5%
yeast ext. 0.1
meat ext. 0.1
protease
pepton No. 3 0.1
Art. sea water 750 ml
Dist. water 250 ml

Table 2. Clinical sign of the diseased fishes

Strain No.	Location	Clinical sign of the diseased fishes		Mean body weight (g)	Mean body length (cm)
		Superficial	Autoptical		
1~7	Shizugawa	petechial haemorrhage at the lateral of the body. haemorrhage at the ventral fin. epidermal ulcer and desquamation.	swelling of the spleen. anaemia of the liver. haemorrhage of the abdominal region.	541	33
8~12	Kirittapu	haemorrhage at the lateral and the ventral region			
13~22	Otsuchi Bay	swelling around the dorsal fin. haemorrhage at the lateral and the ventral region.	swelling of the spleen. haemorrhage of the abdominal region. congestion of the pyloric region.	1620	44
23~27	Kirittapu	abrasion at the ventral region. congestion around the vent and the base of the pectoral fin. petechial haemorrhage at the ventral region.	swelling and necrosis of the spleen.	84	18
28~30	"	abrasion and petechial haemorrhage at the ventral region. congestion around the vent.	"	377	27
31~33	Otsuchi Bay	haemorrhage at the lip, ventral region and the lateral. congestion of the eye. petechial haemorrhage at the lateral.	swelling of the spleen. anaemia of the liver. haemorrhage at the intestinal tract.	145	21
34~38	Abuta	abrasion at the dorsal, the ventral region and the lateral. cataract.	swelling of the spleen.	75	18

Table 3. Reference strains used

Strain	Species name	Donor
NCMB 6	<i>V. anguillarum</i>	NCMB ^{*1}
NCMB 829	"	"
NOAA V-775	<i>V. anguillarum</i> biotype 1	M.H. SCHIEWE ^{*2}
NOAA V-1669	<i>V. anguillarum</i> biotype 2	"

^{*1} National Collection of Marine Bacteria, Aberdeen, Scotland

^{*2} Northwest and Alaska Fisheries Center, NOAA, Washington, U.S.A.

発育塩分濃度: 1% ペプトン水に食塩を 0, 0.5, 5, 7% および 10% (w/v) 加えた培地に前述した懸濁液を 1 白金耳接種し, 発育の有無を観察した。

塩類の要求性: 日高らの方法¹³⁻¹⁵⁾に従い, 寒天を除いた ZoBell 2216E¹³⁾培地の各成分の 1/10 量を蒸留水, 0.5% NaCl, 3% NaCl, 1/6 人工海水および人工海水を溶媒として 5 種の液体培地を調製し, それぞれに前述の懸濁液を 1 白金耳接種し発育の有無を観察した。

薬剤感受性: 海水培地平板上に 前述の懸濁液 0.2 ml 塗抹し, ノボビオシンおよび Vibriostatic agent o/129 の 1 濃度ディスクを置き, 阻止円の有無により検査した。

生化学的性状検査 オキシダーゼ試験 (KOVACS 法¹⁷⁾): 1% tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride 水溶液に浸した何紙上に 24 時間斜面培養菌を塗抹し, 塗抹部が紫色を呈した場合, 陽性と判定した。

O-F 試験: Difco-OF 基礎培地に 1% ブドウ糖を加えた培地を用い, 好氣的ならびに嫌氣的条件下で培養し, 酸およびガス産生の有無を観察した。

インドール産生能: トリプトファンを 0.1% (w/v) の割合に添加したペプトン水に培養して, KOVACS の方法¹⁸⁾により検査した。

MR 試験: ブドウ糖リニン酸ペプトン水に培養後, メチルレッド試薬を滴下して検査した。

VP 反応: ブドウ糖リニン酸ペプトン水に培養後, BARRITT の方法¹⁹⁾により検査した。

クエン酸塩の利用性: SIMMONS のクエン酸塩培地で培養後, 発育および培地の色の变化で判定した。

硫化水素の産生能: SIM 培地に培養して検査した。

ゼラチン液化性: ゼラチン培地高層穿刺培養法により, ゼラチン液化の有無を観察した。

カゼイン水解性: 1% 脱脂乳加海水培地に培養後, 透明帯の形成の有無を観察した。

脂質の分解能: 1% ツーシン 80 加海水培地に培養後, 集落周囲の不溶性 oleate 沈着の有無を観察した。

デンプンの水解性: 0.5% 可溶性デンプン加海水培地に培養後, ルゴール液を注加して, 透明帯の有無を観察

した。

炭水化物の分解性: Difco-OF 基礎培地に各種糖類を 0.5% 加えた培地で培養して, 酸の産生の有無を観察した。

溶血性: 血液加海水平板培地で培養後, 溶血環の形成の有無を観察した。

アミノ酸の脱炭酸試験: MØLLER の方法²⁰⁾により L-リジン, L-アルギニンおよび L-オルニチンに対するデカルボキシラーゼ産生の有無を検査した。

血清学的検討 常法に従いホルマリン抗原により作製した 3 種の *V. anguillarum* ウサギ抗血清²¹⁾ (抗 J-O-1, 抗 J-O-2, 抗 J-O-3) に対し, 供試菌加熱死菌を抗原として凝集反応をみた。

シロサケに対する病原性 体長 15~19 cm, 体重 40~100 g の 9 ケ月令の白サケ 17 尾を用い供試菌の代表株 (No. 1 株) について約 10^8 cells/ml の菌懸濁液に 10 分間の菌浴を行い, その後約 15°C の流水で飼育し, その病原性を検討した。

結果および考察

分離菌の性状 分離菌 38 株の性状検査の結果は Table 4 に示した。分離菌はグラム陰性桿菌で, 単極毛を有し, オキシダーゼ陽性, Vibriostatic agent o/129 に対し感受性を有し, グルコースを発酵的に分解し, ガス非産生であることから, すべてビブリオ属に包含し得るものであつた。なお虹田での分離株を除いた 33 株は, No. 17 株の 0°C での発育陰性を除いたすべての性状で一致した結果を示した。虹田の 5 株 (No. 34~38 株) は相互にはば一致した性状を示すものの, No. 1~No. 33 株とは, VP 反応, MR 試験, Tween 80 の分解, 5°C, 37°C での発育およびアルギニンのアルカリ化反応等の性状で明らかに異なつた結果を示した。

分離菌の同定 No. 1~No. 33 株は病魚の症状および諸性状から *V. anguillarum* であることが推察されたため, Bergey's manual 8th ed. に記載されている *V. anguillarum* の性状および *V. anguillarum* の標準株である NCMB 6, NCMB 829 ならびに米国ギンサス由来の NOAA V-775, NOAA V-1669 との性状を比較した結果 (Table 5), これらはクエン酸塩の利用性および 0% NaCl での発育以外の性状は Bergey の記載性状に合致し, さらに標準株の NCMB 6, NCMB 829 および対照株の NOAA V-775 とほぼ一致した性状を示した。このことから No. 1~No. 33 株は *V. anguillarum* と同定した。さらにこれら 33 株について *V. anguillarum* の 3 種の抗血清 (抗 J-O-1, 抗 J-O-2, 抗 J-O-3) との凝集反応の結果, すべて抗 J-O-3 血清との凝集陽性を示した (Table 6)。

Table 4. Main characteristics of the isolates from diseased fishes

Characteristics	Strain	Shizugawa						Kirittapu						Otsuchi Bay						Kirittapu						Otsuchi Bay						Abuta						
		No. 1	2	3	4	5	6	7	No. 8	9	10	11	12	No. 13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	No. 23	24	25	26	27	No. 28	29	30	No. 31	32	33	No. 34	35	36	37
Gram		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Single polar flagellum		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O/F		F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	
Gas from glucose		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Indol		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
MR		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
V P		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Citrate utilization		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Sensitivity to O/129		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Novobiocin		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Gelatin liquefaction		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Casein hydrolysis		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Tween 80		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Starch		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Hydrogen sulfide		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Acid from arabinose		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
mannose		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
sucrose		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
mannitol		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
inositol		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
salicin		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
0% NaCl		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
7% NaCl		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
10% NaCl		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Growth at 0°C		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
5°C		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
15°C		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
25°C		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
30°C		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
37°C		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
42°C		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Arginine alkaline		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Lysine decarboxylase		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Ornithine		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
MHT type		H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H			
Hemolysis of horse blood		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Luminescence		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
GC mole %								45.0						45.4																								

Table 5. Main characteristics of the isolates (No. 1~33) and reference strains

Characteristics	Strain	Bergey's manual 8th ed.	NCMB 6	NCMB 829	NOAA V-775	NOAA V-1669	No. 1~33
Single polar flagellum		+	+	+	+	+	+
Indol		+	+	+	—	—	+
MR		d*	—	—	—	+	—
V P		d	+	+	—	—	+
Citrate utilization		—	+	+	+	—	+
Sensitivity to O/129		+	+	+	+	+	+
" Novobiocin		+	+	+	+	+	+
Gelatin liquefaction		+	+	+	+	+	+
Casein hydrolysis		+	+	+	+	+	+
Tween 80 "		d	+	+	+	—	—
Starch "		+	+	+	+	+	+
Hydrogen sulfide		—	—	—	—	—	—
Acid from arabinose		—	—	—	—	—	—
" mannose		+	+	+	+	+	+
" sucrose		+	+	+	+	+	+
" mannitol		+	+	+	+	+	+
" inositol		—	—	—	—	—	—
" salicin		—	—	—	—	+	—
0% NaCl		+	—	—	—	—	—
7% NaCl		d	—	—	—	—	—
10% NaCl		—	—	—	—	—	—
Growth at 5°C		+	+	+	+	+	+
" 37°C		d	—	+	+	—	+
" 42°C		—	—	—	—	—	—
Arginine alkaline		+	+	+	+	—	+
Lysine decarboxylase		—	—	—	—	—	—
Ornithine "		—	—	—	—	—	—
Hemolysis of horse blood		d	+	+	+	—	+
Luminescence		—	—	—	—	—	—
GC mole %		44~45	44.0	43.5	44.1	44.5	

* different reaction given by different strain.

Table 6. Slide agglutination tests of the isolates and reference strains against anti-*V. anguillarum* sera* J-O-1, J-O-2 and J-O-3

Serum	Antigen	NOAA V-775	NOAA V-1669	No. 1~33	No. 34~38
J-O-1		—	+	—	—
J-O-2		—	—	—	—
J-O-3		—	—	—	—

* EZURA et al.: Fish Pathology, Vol. 14, No. 4 (1980)

ところで前述したように、我が国のサケ科魚類のビブリオ病は、これまでエジマス、ヤマメ、アマゴ等の淡水飼育魚に限られており、その原因菌も *V. anguillarum* とは多少異なった性状を示し、O 血清型別ではすべて

J-O-1 型に型別され、対照株の NOAA V-1669 とほぼ一致した性状を示すものであつた²¹⁾。これに対し本報でのギンマスからの分離株 (No. 1~No. 33) は前述したように *V. anguillarum* と同定されたことから、我が国

Table 7. Main characteristics of the isolates (No. 33~38) and *Vibrio* sp. reported by several workers

Characteristics \ Strain	No. 34~38	V-288 (KN-21)	V-289 (KN-22)	V-134	<i>Vibrio</i> sp. (HATAI, 1975 ¹)	<i>Vibrio</i> sp. (group II) (KUSUDA, 1979 ²)	<i>Vibrio</i> sp. (group III) (KUSUDA, 1979 ²)	<i>Vibrio</i> sp. (YASUNAGA, 1977 ³)	<i>Vibrio</i> sp. (MC CARTHY, 1976 ^{2,3})	<i>Vibrio</i> sp. (MUROGA <i>et al.</i> , 1976 ^{2,3})
Single polar flagellum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indol	+ ⁶⁰	+	+	+	+	+	+ ⁸³ * ¹	+	-	+
MR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrate utilization		+	+	+	+	+	- ⁶⁷	+		
O/129 sensitivity		+	+	+	-	-	+	+	+	+
Novobiocin "		+	+	+	+	+ ⁶⁰			+	+
Gelatin liquefaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Casein hydrolysis	+	+	+	+		+	+ ⁸⁰		+	
Tween 80 "	+	+	+	+		+	+			
Starch "	+	+	+	+	+	+	+		+	+
Hydrogen sulfide		+	+	+	-	+	- ⁶⁷	+	-	-
Acid from arabinose		-	-	-	-	-	-		-	+ ⁸⁰
" mannose	-	+	+	+	+	+	+			+
" sucrose	+ ⁶⁰	+	-	+	+	-	- ⁶⁷	-	-	-
" mannitol	+	+	+	+	+	+ ⁸⁰	+ ⁸⁰		-	-
" inositol		+	+	-	-	-	- ⁸⁰	-	-	-
" salicin	-	-	+	+	+ ⁸²	+ ⁶⁰	-		+	+
0% NaCl	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
7% NaCl		+	+	+	+ ⁶⁷	- ⁸⁰	+ ⁸³	-		-
10% NaCl		-	-	-	-	-	-			
Growth at 5°C	-	-	-	-		- ⁸⁰	-			
" 37°C	-	-	-	+	+	+	-			+
" 42°C	-	-	-	-		+ ⁸⁰	-			
Arginine alkaline	-	-	-	-	-	-	- ⁸⁰		-	-
Lysine decarboxylase	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Ornithine "		+	+	-	+	+ ⁶⁰	-		+	-
Hemolysis: horse blood		+	+	-	+ ^w	+	+			
Luminescence		-	-	-		-	-			

*¹ percent of strains giving positive or negative reaction.*² weak positive.Table 8. Results of the artificial infection with a representative isolate No. 1 on the chum salmon *O. keta**² with immersion method*³

Fish number died											
Days after exposure											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	14	
0/17* ¹	0/17	0/17	0/17	3/17	6/17	8/17	8/17	8/17	9/17	9/17	

*¹ number died/number tested.*² mean body length 16.6 cm, mean body weight 61.2 g.*³ ca. 10⁵ cells/ml.

Table 9. Clinical signs of fishes died by artificial infection with a representative isolate*

Fish No.	Clinical signs of fishes died	
	Superficial	Autoptical
1	congestion around the anal fin haemorrhage at the ventral region	haemorrhage in the muscle and the abdominal region
2	swelling and congestion at the base of the dorsal fin, petechial haemorrhage at the pectoral region	slight discoloration of the liver
3	congestion at the base of the dorsal fin	haemorrhage at the abdominal region slight discoloration of the liver
4	congestion around the jaw, the vent, the anal fin and at the base of the ventral fin	haemorrhage at the abdominal region slight swelling of the spleen
5	congestion around the jaw, the vent, the anal fin and at the base of the pectoral fin	slight discoloration of the spleen
6	congestion at the base of the caudal fin discoloration of the gill	marked discoloration of the liver
7	congestion of the pectoral and the ventral fin spotted haemorrhage at the ventral region	spotted haemorrhage and discoloration of the liver
8	congestion around the jaw, the vent and the anal fin, haemorrhage at the base of the ventral fin	discoloration of the liver
9	congestion at the base of the caudal fin haemorrhage of the pectoral fin swelling around the vent	haemorrhage in the muscle of the abdominal region

* see Table 10.

Table 10. Slide agglutination tests of the reisolates from artificial infected fish*1 against anti-*V. anguillarum* sera*2

Antigen	Antisera		
	J-O-1	J-O-2	J-O-3
No. 1	—	—	+
2	—	—	+
3	—	—	+
4	—	—	+
5	—	—	+
6	—	—	+
7	—	—	+
8	—	—	+
9	—	—	+

*1 see Table 8.

*2 EZURA et al.: *Fish Pathology*, Vol. 14, No. 4 (1980).

の海中養殖サケ科魚類における真性 *V. anguillarum* 感染の最初の例と思われる。

一方虹田において分離された 5 株 (No. 34~No. 38) について Table 4 に示した性状の検査結果より *Vibrio* 属菌株とは同定されるものの *V. anguillarum* と同定された前述の No. 1~No. 33 株とは明らかに異なつた性状を示した。さらに *V. anguillarum* の 3 種抗血清とも凝集陰性であつた (Table 6)。そこでこの 5 株について既往のビブリオ病原菌ととの性状を比較検討した結果 (Table 7)、虹田の 5 株は楠田ら²²⁾が group III と分類

している冬期マダイからの分離株と若干の相違はみられるものの類似の性状を示した。

シロサケに対する病原性 供試菌代表株 No. 1 株のシロサケに対する病原性試験の結果は Table 8 に示したごとく、供試魚は菌浴後 5 日目と 6 日目にそれぞれ 3 尾ずつ、7 日目に 2 尾、11 日目に 1 尾の計 9 尾斃死し、以後 14 日目まで斃死はみられなかつた。斃死魚の症状は Table 9 に示した。主な症状としては背鰭、胸鰭、腹鰭等各鰭基部の充血、肛門の充血、腫脹、頰周辺の充血、腹腔内出血、肝臓の貧血等いわゆる自然感染魚の症状と類似の症状を呈した。さらに各斃死魚の腎臓からはほぼ純粋に分離された菌株は菌浴に用いた菌株に対応する抗血清 (抗 J-O-3 血清) とすべて凝集陽性であつた (Table 10)。なお生残した 8 尾は外観的には正常であつたが、肝臓の貧血が観察された。

一方虹田において分離された 5 株のうち No. 37 株についてエジマス 1 年魚での腹腔内接種 (4.5×10^4 cells/尾) 或いは 2.5 ヶ月令ギンマスをを用いた菌浴 (9.4×10^4 cell/ml) 攻撃では何ら異状を示さなかつたことから、虹田における分離菌は二次感染菌とも考えられ、さらに検討を要するものと思われる。

要 約

東北地方および北海道のギンマス海中養殖場においてビブリオ病と思われる病魚より分離した 38 菌株について検討を行った結果、

1. No. 1~No. 33 の 33 株は *V. anguillarum* と同定された。また 3 種の *V. anguillarum* ウサギ抗血清 (抗 J-O-1, 抗 J-O-2, 抗 J-O-3) との凝集反応の結果, すべて抗 J-O-3 血清と凝集陽性であった。

2. *V. anguillarum* と同定された中から No. 1 株について, 菌浴攻撃 (約 10^8 cells/ml) によりシロサケに対する病原性を検討した結果, いわゆる自然感染魚の症状と類似の症状を呈し斃死した。

3. 缸田において分離された 5 株 (No. 34~No. 38) は, vibrio 属菌株とは同定されるものの, *V. anguillarum* とは明らかに異なつた性状を示し, *V. anguillarum* のいずれの抗血清とも凝集陰性であった。また病原性も確認し得なかつたことからこれらは二次感染菌と推察された。

文 献

- 1) 室賀清邦・江草周三: 魚病研究, **5**, 16-20 (1970).
- 2) 若林久嗣・塩瀬淳也・江草周三・富永正雄: 魚病研究, **9**, 199-203 (1975).
- 3) K. MUROGA, S. TAKAHASHI, H. YAMANOI, and M. NISHIBUCHI: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **45**, 829-834 (1979).
- 4) 城 泰彦・室賀清邦: 魚病研究, **6**, 117-119 (1972).
- 5) 室賀清邦・城 泰彦・西岡光昭: 魚病研究, **11**, 141-145 (1976).
- 6) 楠田理一: 京都水試業績, **25**, 1-116 (1965).
- 7) 畑井喜司雄・岩橋義人・江草周三: 魚病研究, **10**, 31-37 (1975).

- 8) 安永統男・山元宣征: 魚病研究, **12**, 209-214 (1977).
- 9) T. HOSHINA: *J. Tokyo Univ. Fish.*, **43**, 59-66 (1957).
- 10) Y. SAITO, M. OTSURU, T. FURUKAWA, K. KANDA, and A. SATO: *Acta Medica et Biologica*, **11**, 267-275 (1964).
- 11) 大西圭二・室賀清邦: 魚病研究, **11**, 159-165 (1976).
- 12) M. WEST, N.M. BURDASH, and F. FREIMUTH: *J. Clin. Microbial*, **6**, 414-419 (1977).
- 13) 日高富男: 鹿児島大学水産学部紀要, **12**, 135-152 (1964).
- 14) 日高富男・坂井 稔: 食衛誌, **6**, 235-241 (1965).
- 15) T. HIDAKA and M. SAKAI: *Bull. Misaki Mar. Biol. Inst. Kyoto Univ.*, **12**, 125-149 (1968).
- 16) C. H. OPPENHEIMER and C. E. ZOBELL: *J. Mar. Res.*, **11**, 10-18 (1952).
- 17) N. KOVACS: *Nature, Lond.*, **178**, 703 (1960).
- 18) 坂崎利一: 増地学各論 (1), 納谷書店, 東京, 1967, p. 89.
- 19) 坂崎利一: 増地学各論 (1), 納谷書店, 東京, 1967, p. 173.
- 20) 坂崎利一: 増地学各論 (1), 納谷書店, 東京, 1967, pp. 120-122.
- 21) 絵面良男・田島研一・吉水 守・木村喬久: 魚病研究, **14**, 167-179 (1980).
- 22) 楠田理一・佐古 浩・川合研児: 魚病研究, **13**, 123-137 (1979).
- 23) D. H. MCCARTHY: *J. Fish. Biol.*, **8**, 317-320 (1976).
- 24) 室賀清邦・城 泰彦・西岡光昭: 魚病研究, **11**, 141-145 (1976).