

サケ科魚類を守る取り組み—冷水病原菌の保有状況調査—

おおせこ のりひさ
大迫 典久 (養殖研究所 札幌魚病診断・研修センター)

はじめに

平成 18 年春に道立水産孵化場より、北海道の河川に遡上するシロサケ親魚から冷水病原菌が検出されることが初めて報告された(Misaka and Suzuki 2007). この報告まで知られていなかったのは、この病原菌が通常の細菌分離用培地では検出する事が難しかったためと考えられる。冷水病原菌を保有した魚類を食べても人体には影響はないが、原因菌がさけます増殖事業に与える影響については現在不明である。そのため、まずは北海道内における病原体の分布状況を把握する事が急務であると思われた。そこで平成 18 年度秋期から2年間かけて北海道内の河川に遡上してくるサケ科魚類親魚について原因菌の保有状況の調査を実施してきた。

冷水病とは

日本では“アユの冷水病”としてよく知られる冷水病であるが、もともと欧米諸国ではサケ科魚類の病気である。この病気はフラボバクテリウム属の *Flavobacterium psychrophilum* という細菌により引き起こされる病気で、フラボバクテリウム属には細菌性鰓病の原因菌としてよく知られる *Flavobacterium branchiophilum* が属している。海外では冷水病は古くから知られており、1940 年代にはニジマス、ギンザケでの発生が報告されている(Cipriano and Holt 2005). これらの他にマスノスケ、ベニザケ、シロサケ、サクラマス、大西洋サケ、ブラウントラウトなどほとんどのサケ科魚類が宿主となるが、中でもニジマス及びギンザケでの被害が大きく、重要な疾病として恐れられている。サケ科魚類以外でもアユを初めコイ、ウナギ、ウグイ、ヨシノボリなど広範囲の宿主域を示すが、サケ科魚類の冷水病原菌はアユで病気を引き起こす菌と遺伝子型が異なっており、その病原性にも違いがある。原因菌の *F. psychrophilum* は長く細い形状(直径 0.2-0.75 μm , 長さ 1.5-7.5 μm)をしたグラム陰性桿菌(図 1)で、改変サイトファーガ寒天平板培地上で湿潤した黄色くて薄いコロニー(菌の集落)を培養後 3 から 5 日目に形成する(図 2)。さけます類の冷水病では、その名前の由来通り 4~10 $^{\circ}\text{C}$ という明らかに低い温度で発生し、ギンザケでは卵黄吸収前の仔魚で 50% 以上、池入れ後摂餌を開始する時期の稚魚で 5-20% の死亡率を示す。一方、ニジマスでは RTFS (Rainbow Trout Fry Syndrome) とも呼ばれ、魚体重が 0.5-5.0 g の時に発生する。一般的な症状は、はじめに脂びれ周囲、又は脂びれから尾柄部全体

が白色化し、その後脂びれや尾柄部外皮の壊死・下部筋肉組織の出現が見られ、顕著になると尾柄部の白骨化症状を示す。また、腹水貯留による腹部膨満、平衡感覚の消失による異常な旋回遊泳が観察される。冷水病が発生した場合はウイルス、細菌、寄生虫との混合感染を引き起こしている場合が多く、ニジマスでの IPN、ニジマス・ベニザケの IHN、ギンザケ・マスノスケの EIBS 又は BKD、ギンザケのせつそう病などとの混合感染、その他ミズカビ、イクチオボドやギロダクチルスなどといった外部寄生虫との混合感染がよく認められる。この病気は浸漬・接触感染による水平感染により伝播するが、もともとは体表に存在する細菌群の一種である。劣悪な環境下など魚体の体調が落ちたときに全身感染を引き起こすとも言われており、特に皮膚のスレが浸漬、同居感染による病原体の侵入を促進させる。ニジマス感染魚での報告では排菌量(菌数/尾/時間)が生存魚の場合 10^3 - 10^6 であるのに対し、死亡魚では 10^4 - 10^8 と 10 から 100 倍と増加するため死亡魚、瀕死魚の取り上げが感染の低減に繋がる。冷水病で問題となるのは親魚

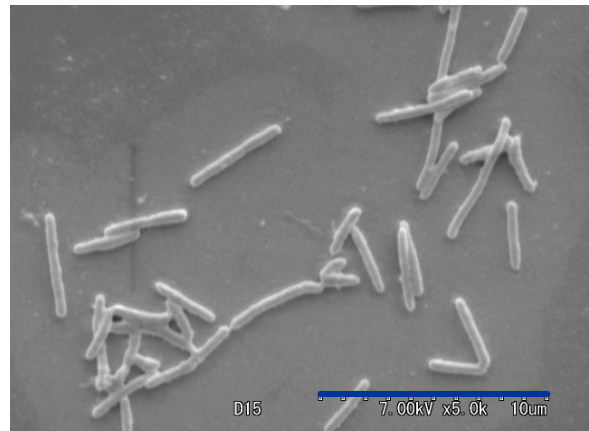


図1. *F. psychrophilum* の走査型電子顕微鏡写真。長く細い形状を示している。(バーの長さは 10 μm)

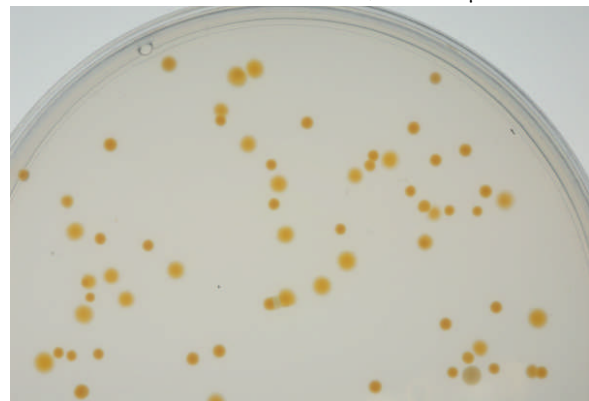


図2. 改変サイトファーガ寒天平板培地上で形成した *F. psychrophilum* のコロニー。黄色くて薄いコロニーを形成する。

から卵への垂直感染である。成熟した親魚の体腔液又は精子の中には、原因菌が頻りに検出され時にはかなりの量が存在し、これらの菌は卵表面に吸着して孵化の際に仔魚に感染を引き起こすと考えられる。卵内への菌の侵入については、一般的には考えられないが卵外の周囲に菌量が極端に多い場合侵入することがあるという報告もある (Kumagai *et. al.* 2000)。菌が卵内に侵入した場合に消毒剤の効果は期待できないが、卵表面についた病原菌については現在実施されているイソジン消毒でも十分効果があるため、現在最善の対処策としては、現行のイソジン消毒をしっかりと行うことであろう。

冷水病原菌の調査方法

冷水病原菌の調査は、さけ類及びます類のモニタリングで実施している魚類病原ウイルスの検出を目的とした病原体保有状況調査とあわせて実施している (図 3)。その方法については吉水・野村 (1989) で詳細が述べられているが、腎臓及び体腔液を検査対象とし、まず、蓄養している採卵親魚 60 検体について採卵時に取り上げて台上に並べ、生殖孔をアルコール綿 (70%エタノールに浸した脱脂綿) でよく拭き、滅菌チップをつけたマイクロピペット (1 ml 用) を差し込み、体腔液を吸引する (図 4)。採集後の体腔液は氷冷保存しておき、マイクロピペット (200 μ l 用) を用い 100 μ l を冷水病原菌の調査に供試し (残りは病原体保有状況調査のウイルス検査に使用)、改変サイトファーガ寒天平板培地上に滴下して、コンラージ棒により平板一面に塗り広げて菌培養を行う。一方、体腔液を採取した採卵親魚は採卵後再び台上に並べ、ペーパータオルで良く腹腔内部をぬぐって清掃した後に、ピンセットで鰓をはがし、滅菌した綿棒を腎臓 (めふん) に差し込んで組織を採取する。採取した組織は、直ちに改変サイトファーガ平板培地に塗抹して菌培養に供する (図 5)。菌培養は 15 $^{\circ}$ C で 5~14 日間培養して黄褐色のコロニー形成の有無を確認する。形成したコロニーは少量を蒸留水入りのチューブに入れ、100 $^{\circ}$ C 20 分処理の熱抽出法により核酸を抽出し、冷水病原菌の特異遺伝子を増幅する PCR 法により菌の同定を実施する。現在までの調査状況として、平成 18 年度は全道 10 河川のシロサケ、3 河川のサクラマス、1 河川のベニザケについて調査し、平成 19 年度には対象河川を組み替えながら 8 河川のシロサケ、3 河川のサクラマス、5 河川のカラフトマス、1 河川のベニザケについて採卵親魚 (雌) について調査を実施した。

病原菌の保有状況

体腔液又は腎臓の少なくともどちらか一方から



図3. さけます類親魚の冷水病保有状況調査。さけます孵化放流事業をおこなう、さけますセンター事業所において、事業所のスタッフと共に調査を実施する。



図4. 成熟親魚からの体腔液の採集。マイクロピペットを用い、体腔内より直接採集する。



図5. 腎臓の *F. psychrophilum* 検査。滅菌した綿棒を用いて直接無菌的に組織を採取し、現場で改変サイトファーガ平板培地に塗抹する。

検出された場合を、冷水病原菌の保菌魚とした場合、北海道内のシロサケ親魚の保菌状況は、平成 18 年では 53.3~100%、平均 85%、平成 19 年は 75~98.3%、平均 91.1% となり、全ての河川でシロサケ親魚からは高い率で原因菌が分離され、保有率が高いことが明らかとなった。平成 18 年

度はオホーツク海区での検出率が低い傾向が見られたが、平成19年はその傾向は見られなかった。一方、シロサケ以外のサケ科魚類のサクラマス、ベニザケ、カラフトマスにおいてもシロサケとほぼ同様な結果となり、サクラマス親魚の場合、平成18年では31.7～91.7%，平均59.4%，平成19年度は48.3～95%，平均72.9%，カラフトマスでは平成19年で70～96.7%，平均80.7%，ベニザケは平成18年及び19年がそれぞれ55%及び78.3%の保有率を示した。これらのことから冷水病原菌は河川遡上するサケ科魚類の種類を問わず、北海道内全域で採卵親魚が既に原因菌を保有していることが明らかとなった（図6）。

おわりに

病原菌の保有状況調査の結果、想像していた以上に病原菌が広範囲に分布していることが明らかとなった。冷水病が今まで知られていなかったのは、この菌の検出が容易でなかったため、病原菌が存在していなかったわけではない。欧米では冷水病が古くから存在していたことを考えると、わが国の病原菌も海外から持ち込まれた可能性があるが、これだけ分布していることを考慮するとかなり以前から既に北海道内で蔓延していたものと推察される。一方、さけます増殖事業が壊滅的な被害を受けていないのは、一つにはこの菌の病原性が比較的強く日和見感染する傾向があること、一つにはイソジンによる卵消毒や塩水処理などのウイルスや寄生虫対策が結果として冷水病による稚魚への被害を抑制していることが考えられる。親魚が冷水病にどこで感染するのかはまだ解明されていないが、河川に遡上してきた際に感染するものと考えられ、保有状況も採捕時期や蓄養状況によって相異していく可能性がある。本菌は環境水中でも長期間生存することが可能であり、現状を考えるとこの菌を排除することは極めて困難と思われる。したがって、冷水病への対策としては、現行のイソジンや塩水処理を継続することが最善であろう。感染経路や病原性、今後の

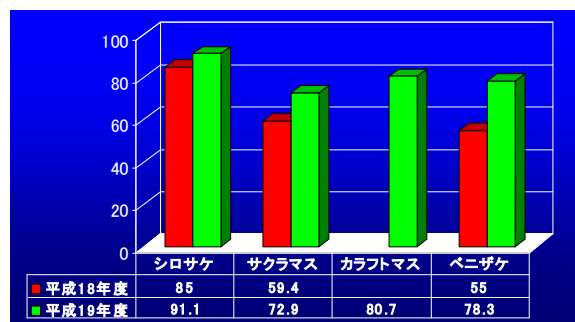


図6. 北海道内の河川遡上サケ科魚類親魚からの *F. psychrophilum* の平均検出率。

分布状況の推移などまだまだ不明な点も多く、本年度も前年度に引き続き冷水病原菌の保有状況についての継続調査を実施している。

引用文献

- Cipriano R.C., and R. A. Holt. 2005. *Flavobacterium psychrophilum*, cause of Bacterial Cold-Water Disease and Rainbow Trout Fry Syndrome. Fish Disease Leaflet No.86, 44 p.
- Kumagai A., S. Yamaoka, K. Takahashi, H. Fukuda, and H. Wakabayashi. 2000. Waterborne transmission of *Flavobacterium psychrophilum* in coho salmon eggs. Fish Pathol., **35**: 25-28.
- Misaka N., and K. Suzuki. 2007. Detection of *Flavobacterium psychrophilum* in chum salmon *Oncorhynchus keta* and virulence of isolated strains to salmonid fishes. Fish Pathol., **42**: 201-209.
- 吉水 守・野村哲一. 1989. サケマス採卵親魚の病原微生物検査法. 魚と卵, **158**: 49-59.