

6. 増養殖技術研究費

1) 養殖アユ病魚から分離したシュードモナス属細菌の性状および病原性

二宮浩司

【背景】近年、アユ種苗の歩留まりの低下が大きな問題となっており、その原因の一つとして、冷水病とともにシュードモナス病が関与していることがわかっている。

【目的】シュードモナス病原因菌については不明な点が多い。（原因菌が単一種かどうか。分類学的な位置等。）そのため、分離菌株の性状および病原性を調査した。

【成果概要】－分離菌株の性状（表1）－

1. 県内の11養魚場の病魚から分離したシュードモナス属細菌20株に対して、アピ20NE（腸内細菌以外のグラム陰性桿菌用簡易同定キット）を用いて、性状試験を行うとともに、平成5年度に現場が分離した菌株を免疫原とする抗血清（東大農学部作製）を使用して凝集反応を調べた。
2. 20菌株中18菌株は、糖の同化能に若干の違いがあったものの、ほぼ同じ性状を示した。また、性状試験の結果がほぼ同一と考えられた15菌株は凝集反応がすべて陽性であったが、他の2株は陰性であった。
3. 以上から、県内のシュードモナス病を引き起こしているシュードモナス属細菌は、ほぼ同一タイプのものであると考えられた。

－病原性－

4. シュードモナス属細菌の病原性を調べるため、1魚体あたり 3.8×10^7 CFU、 1.9×10^5 CFU、 1.9×10^3 CFUの菌量をアユの腹腔内に接種した。
5. 3.8×10^7 CFUでは翌日にすべてがへい死。 1.9×10^5 CFUでは、4日目までに100%へい死。 1.9×10^3 CFUでは8日目までに60%へい死した。へい死魚は、出血性の腹水貯溜や肛門の拡張・発赤を起こしており、シュードモナス病の典型的な症状が再現された。また、へい死魚すべてからシュードモナス属細菌（アユ病魚由来株）が回収されたため、病原性が確認された。

【成果の活用】本病に対する治療予防試験の基礎データが得られた。

表 1. アユ病魚から分離したシュードモナス属細菌の性状試験結果 (アピ20NE使用)

菌株名 試験項目	471																				
	950106 A	950208 A	950109 B	950110 C	950126 C	950214 C	950314 C	950127 D	950330 D	950710 D	950130 E	950224 E	950720 E	941219 F	941226 F	950622 G	950629 H	950831 I	950826 J	950927 K	
NO ₃	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TRP	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLU	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ADH	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
URE	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ESC	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GEL	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PNG	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ARA	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MNE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAG	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MAL	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GNT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CAP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ADI	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MLT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CIT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PAC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
OX	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
性状試験結果	①	②	※	①	③	①	④	①	⑤	※	①	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※
抗血清凝集能(注)	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

①: *Pseudomonas putida* %id=88.7 T=0.73 Ps. fluorescens %id=9.8 T=0.61
 ②: Ps. fluorescens %id=99.6 T=0.78
 ③: Ps. putida %id=82.4 T=0.75 Ps. fluorescens %id=16.6 T=0.67
 ④: Ps. fluorescens %id=88.7 T=0.73 ⑤: Ps. mendocina %id=99.1 T=1.00
 ※: 該当なし

A: A養魚場 B: B養魚場 C: C養魚場 D: D養魚場 E: E養魚場 F: F養魚場 G: G養魚場 H: H養魚場 I: I養魚場 J: J養魚場 K: K養魚場
 NO₃: (硝酸塩還元) TRP (トリプトファン産生) GLU (グルコース発酵) ADH (アミノ酸分解) URE (尿素分解)
 ESC (スクロース分解) GEL (ゲラチン分解) PNG (ペプトン分解) MNE (D-マニトール同化) MAN (N-アセチル-D-グルコサミン同化)
 ARA (L-アラニン同化) MAL (D-マラリン同化) CAP (α-カルピン同化) ADI (7-アミノイソインドール-3-ピルロール同化)
 MLT (L-リジン同化) CIT (クニシロイン同化) PAC (酢酸アセチル同化) OX (オキサリレート試験)
 (注)平成5年度に水試が分離した菌株を免疫原とする抗血清を使用し、スライド凝集反応で確認。