

# クルマエビ稚仔から分離された *Vibrio* 属 細菌の病原性ならびに性状<sup>\*1</sup>

高橋幸則・名古屋博之<sup>\*2</sup>・桃山和夫<sup>\*3</sup>

Pathogenicity and Characteristics of *Vibrio* sp.  
Isolated from Diseased Postlarvae of Kuruma Prawn,  
*Penaeus japonicus* BATE

By

Yukinori TAKAHASHI, Hiroyuki NAGOYA and Kazuo MOMOYAMA

In April 1981, an epizootic occurred among postlarvae of cultured kuruma prawn, *Penaeus japonicus* BATE, in Yamaguchi Prefecture. The typical external symptom of the diseased kuruma prawn was cloudiness of midgut gland. A bacterium was isolated from the midgut gland of all the diseased kuruma prawn. By inoculation experiments the bacterium was proved to be pathogenic to kuruma prawn. These organisms were gram-negative, nonsporring rods with a single polar flagellum, and usually 0.5 to 1.0 by 1.0 to 2.0  $\mu$ m in size. Growth on nutrient agar was observed at 15 to 37°C. Growth was obtained in media with NaCl concentrations of 0.5 to 5.0%, but no growth occurred in the medium with 6.0%. The organisms gave positive oxidase and catalase reaction, utilized glucose fermentatively in Hugh-Leifson's medium and did not produce gas from carbohydrates. Some distinguishing features of the organisms were the decarboxilization of lysine and ornithine, positive to Voges-Proskauer test and KP-citrate test, negative to arginine hydrolytic test and swarming test, growth on brilliant agar, utilization of formate, acetate, alginate, lactose and melibiose. The organisms were sensitive to the vibrio static agent 0/129 and novobiocin. The above-mentioned properties suggest that the organisms should be identified as *Vibrio* sp..

---

\*1 水産大学校研究業績番号第1004号, 1983年10月5日受理  
Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No. 1004. Received Oct. 5, 1983.

\*2 高知大学農学部栽培漁業学科  
Department of Cultural Fisheries, Faculty of Agriculture, Kochi University, Nangoku.

\*3 山口県内海水産試験場  
Yamaguchi Prefectural Naikai Fisheries Experimental Station, Yamaguchi.  
本報告の一部は昭和57年度日本水産学会中四国支部例会(於水大校)で発表した。

## 1. 緒 言

1981年4月に山口県下のクルマエビ養殖場において、Postlarva 期の稚仔に中腸腺が白濁し、斃死する疾病が発生した。

病エビの細菌学的検査を行ったところ、いずれの個体からも純培養に近い状態で細菌が分離された。

そこで、分離菌のクルマエビに対する病原性と再現性の有無を確認し、菌の形態学的、生物学的ならびに生化学的性状を調べ、分類学的位置を検討したので報告する。

## 2. 材料および方法

### 2・1 供試罹病エビ

1981年4月6日に山口県吉敷郡秋穂町のクルマエビ養殖場において、Postlarva 期の稚エビに発生した疾病群のうち、斃死直前の個体10尾(体長7~8 mm)を用いた。供試稚エビには中腸腺の白濁(Plate I, A)が認められたほか、成長が悪く、行動不活発であった。

### 2・2 細菌の分離

上記の稚エビを滅菌海水中で十分洗浄したのち、滅菌海

水を盛ったスライドグラス上で、その中腸腺を滅菌針で穿刺した。その流出液を普通寒天培地(2% NaCl 加、以下略す)に塗抹して、25℃、24時間培養後、出現したコロニーから無作為に10株(AO-1~10と呼称)を選び、以下の試験に供した。

### 2・3 再現性試験

分離菌を普通寒天培地で25℃、24時間培養後、滅菌生理食塩水に懸濁したのち、クルマエビ(平均体重21g)の第2腹節筋肉内に体重gあたりの生菌数が $4.8 \times 10^5$ 、 $9.5 \times 10^6$ 、 $4.8 \times 10^7$ および $1.4 \times 10^{10}$ 細胞の4段階となるように接種した。接種後20日間、症状ならびに斃死の有無を確認して、BEHRENS = KÄRBER の法に基づき、クルマエビに対する分離菌のLD<sub>50</sub>値を求めた。また、斃死したクルマエビはDAVIDSON 固定液で固定したのち、ヘマトキシリン・エオシン二重染色法によって染色し、病理組織学的検索を行った。

### 2・4 細菌学的性状検査

分離菌の各種性状は、普通寒天培地に25℃、20~24時間培養した菌を用いて、常法にしたがって検査した。有機化

Table 1. Reference strains used in this study

Strain No.	Species name
P7-1~7*	<i>Vibrio</i> spp.
NCMB6**	<i>V. anguillarum</i>
NCMB828**	"
NCMB829**	"
TUF**	<i>V. piscium</i> var. <i>japonicus</i>
NCMB407**	<i>V. ichthyodermis</i>
K-3**	<i>Vibrio</i> sp.
Km-37**	"
M1625-6**	"
V-30**	"
6330-42**	" (Marine vibrio, biotype 6330-63)
6330-43**	" ( " " )
6330-62**	" ( " " )
127-71**	<i>V. parahaemolyticus</i> , biotype I (human)
15-71**	" , biotype II ( <i>V. alginolyticus</i> )
NCMB1281**	<i>V. fischeri</i>
I-2**	<i>photobacterium phosphoreum</i>

\* Supplied by Dr. N. YASUNAGA of Aquaculture Research Laboratory, Nagasaki Prefectural Institute of Fisheries.

\*\* Supplied by Dr. R. KUSUDA of Kochi University.

化合物の炭素源としての利用性試験は、SIMMONS のアンモニウム寒天培地に各種の有機化合物を0.05~0.5%の割合に加えて検査した。炭水化物の分解性は、糖分解試験用半合成基礎培地（日水）に1%の炭水化物を添加して検査した。また、対照菌株としては Table 1 に示す23株を用い、分離菌と同一条件下での性状検査を行った。

### 2・5 分類学的検討

検査した100項目の性状をもとにして、SOKAL and MICHENER<sup>11)</sup>の式により、全菌株間の S-value を求めた。また、各種性状を Bergey's manual 第8版<sup>12)</sup>、坂崎<sup>13)</sup>および楠田ら<sup>14)</sup>の記載と比較した。

## 3. 結 果

### 3・1 分離菌の病原性ならびに再現性

分離菌のクルマエビに対する病原性試験の結果を Table 2 に示した。1.4×10<sup>10</sup> (細胞/g 体重) の分離菌を接種したクルマエビは、接種後3日以内に100%が斃死し、9.5×10<sup>6</sup> (細胞/g 体重) 接種群は6日後までに20%が斃死した。分離菌のクルマエビに対する LD<sub>50</sub> 値は4.0×10<sup>7</sup> (細胞/g 体重) であった。また、斃死したクルマエビの心臓および中腸腺からは、例外なく接種菌と同一性状の菌が再分離された。

分離菌の接種によって斃死したクルマエビには外観上、

中腸腺の白濁など自然発病エビと同様の症状が発現した (Plate I, B)。また、病理組織学的には、中腸腺上皮細胞における核の濃縮、脱落および崩壊がみられたほか、間質および内腔に菌集落が認められた (Plate I, C)。さらに、リンパ様器官には結節と核濃縮が認められ、壊死が生じているほか、無数の菌集落が観察された (Plate I, D)。

### 3・2 分離菌の形態学的ならびに生物学的性状

分離菌 AO-1~10株の形態学的ならびに生物学的性状検査の結果を、それぞれ Table 3, 4 に示した。分離菌はいずれもグラム陰性で、端在性の単鞭毛を有し、活発に運動する。大きさは通常0.5~1.0×1.0~2.0 μm の短桿菌であるが、まれに1.0×5.0 μm 程度の長桿状のものもみられる。

分離菌は遊走発育をせず、SS 寒天、BTB ティポール寒天、MACCONKEY 寒天、ARONSON 寒天およびプリリアント寒天培地上に発育する。普通寒天培地上における発育温度は、15~37℃でよく発育するが、5℃および42℃では発育しない。塩分濃度は0.5~5%で発育し、0%および6%以上では発育しない。pH は5~10の範囲内で発育する。Vibrio static agent 0/129ならびにノボビオンには感受性を有する。

Table 2. Pathogenicity of the isolates to kuruma prawn, *Penaeus japonicus*

Group	Inoculated number of viable cells/g(B.W.)	Number of prawn challenged	Number of deaths	Mortality (%)
1	1.4 × 10 <sup>10</sup>	10	10	100
2	4.8 × 10 <sup>7</sup>	10	7	70
3	9.5 × 10 <sup>6</sup>	10	2	20
4	4.8 × 10 <sup>5</sup>	10	0	0
5	Control*	10	0	0

\* Injected with physiological saline only.

Table 3. Morphological characteristics of the isolates

characteristics	
Cell-form	Short rods
Size	0.5-1.0×1.0-2.0 μm
Gram stain	Negative
Spore	Non
Motility	Active
Flagella	A single polar flagellum
Agar colonies	Circular, Light yellow, Moist Glistening, Slightly raised

Table 4. Comparison of biological characteristics between the isolates(A0-1~10) and other strains

Characteristics	A0-1~10	P7-1~3	P7-4~7	NCMB6	NCMB828	NCMB829	TUF	NCMB407	K-3	Km-37	M1625-6	6330-42	6330-43	6330-62	V-30	127-71	15-71	I-2	NCMB1281
Swarming	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Growth on inhibitory media:																			
SS Agar	(±)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(±)	-	-	+	+	+	+	+
BTB Teepol Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MacConkey Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aronson Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Brilliant Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temperature for growth:																			
5° C	-	-	-	-	+	+	+	(±)	-	-	-	-	-	-	(±)	-	-	-	-
15° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
42° C	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl tolerance:																			
0 %	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5 %	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4.5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6 %	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7 %	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(±)	+	+	+	+	+	+	+
7.5 %	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH for growth:																			
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sensitivity to:																			
0/129	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-	+	(+)	-	+	-	+	+
Novobiosin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+): Weak or delayed positive.

Table 5. Comparison of biochemical characteristics between the isolates (A0-1~10) and other strains

Characteristics	A0-1~10	P7-1~3	P7-4~7	NCMB6	NCMB828	NCMB829	TUF	NCMB407	K-3	Km-37	M1625-6	6330-42	6330-43	6330-62	V-30	127-71	15-71	I-2	NCMB1281
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O-F test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indole	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MR test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP reaction	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrate(Simmons)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hydrogen sulfide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(±)	-	(±)	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MB reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gluconate oxidized	-	+	+	+	+	+	(±)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Chorela red	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P.P.A. test	-	-	-	-	-	-	-	-	(±)	(±)	-	-	-	-	(±)	-	-	-	-
Ammonium production	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rennet production	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2, 3-butandiol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arginine hydrolysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gelation liquefaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Casein digestion	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tributyrin digestion	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tyrosine dissolution	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xantine dissolution	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hide powderlysis	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Chitin decomposition	-	-	-	-	-	-	(±)	(±)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Haemolysis rabbit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lysine decarboxylase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+
Arginine decarboxylase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ornithine decarboxylase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KP-citrate	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+): Weak or delayed positive.

3・3 生化学的性状

生化学的性状検査の結果を Table 5 に示した。分離菌はカタラーゼおよびオキシダーゼを産生し、ブドウ糖を発酵的に分解する。IMV iC 反応は (+, +, -, +) である。硝酸塩ならびにメチレンブルーを還元し、コレラ赤試験、アンモニア産生性は陽性である。凝乳酵素および2,3-ブタンジオール脱水素酵素を産生するが、アルギニンを加水分解しない。でん粉加水分解性、ゼラチン液化性、カゼインならびにトリプチン消化性は陽性であるが、キサンチン溶解性およびキチン分解性は陰性である。リジンならびにオルニチンを脱炭酸するが、アルギニンは脱炭酸しない。ウサギ血液に対して溶血性 (β型) を示す。

生化学的性状のうち、唯一の炭素源としての有機化合物の利用性ならびに炭水化物からの酸産生性試験の結果を

Table 6 に示した。分離菌は酢酸、乳酸、コハク酸、リンゴ酸、ピルビン酸およびアルギン酸を利用するが、フェノール、安息香酸、カテコール、トリプトファン、マロン酸および酒石酸は利用しない。また、ガラクトース、トレハロース、セロビオース、メリビオース、でん粉、グリコゲン、グリセリン、マンニットおよびソルビットなどを分解するが、ガスは産生しない。アラビノース、キシロース、ラムノース、白糖、ラフィノースおよびイノシットなどは分解しない。なお、分離菌 AO-1~10株はすべて同一性状を示した。

3・4 数値分類

分離菌と対照菌株との間の S-value を Table 7 に示した。

Table 6. Comparison of utilization of organic compounds and carbohydrates between the isolates(A0-1~10)and other strains

Characteristics	A0-1~10	P7-1~3	P7-4~9	NCMB6	NCMB828	NCMB829	TUF	NCMB407	K-3	Km-37	M1625-6	6330-42	6330-43	6330-62	V-30	127-71	15-71	I-2	NCMB1281
Utilization of a sole carbon source :																			
Formate	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetate	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lactate	+	+	+	(+)	+	(+)	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxalate	(+)	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Succinate	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Malate	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyruvate	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Alginate	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phenolate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzoate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catechol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tryptophan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tartrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid from:																			
Arabinose	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galactose	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	(+)	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibiose	+	-	+	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Starch	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycogen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycerol	+	(+)	-	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicin	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+	-	-	+
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dextrin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+): Weak or delayed positive.

Table 7. S-value among A0-1 strain and other strains used in this study

Strain No.	Species name	S-value (%)	Classification based upon Kusuda et al.(1979)
A0-1	<i>Vibrio</i> sp.	100	—
M1625-6	"	85.9	Group II
P7-4~7	"	82.8	—
6330-43	" (Marine vibrio, biotype 6330-63)	82.8	Group II
K-3	"	76.6	"
6330-42	" (Marine vibrio, biotype 6330-63)	75.0	"
P7-1~3	"	75.0	—
V-30	"	75.0	<i>V. parahaemolyticus</i> and allied organisms
Km-37	"	73.4	Group II
127-71	<i>V. parahaemolyticus</i> , biotype I	70.3	<i>V. parahaemolyticus</i> and allied organisms
6330-62	<i>Vibrio</i> sp.(Marine vibrio, biotype 6330-63)	68.9	"
15-71	<i>V. parahaemolyticus</i> , biotype II ( <i>V. alginolyticus</i> )	67.2	"
NCMB828	<i>V. anguillarum</i>	65.6	Group I
TUF	<i>V. piscium</i> var <i>japonicus</i>	65.6	"
NCMB6	<i>V. anguillarum</i>	64.1	"
NCMB829	"	62.5	"
NCMB407	<i>V. ichthyodermis</i>	60.9	"
NCMB1281	<i>V. fischeri</i>	50.0	Others
I-2	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	48.4	"

#### 4. 考 察

クルマエビ稚仔の中腸腺が白濁する疾病の原因について論じた既往の報告は、細菌説とウイルス説とに大別される。

安永・山元<sup>6)</sup>は病エビの中腸腺から *Vibrio* 属細菌を分離し、分離菌が病エビ斃死の直接的原因の一つであることを報告している。山本ら<sup>7)</sup>は飼育水にニフルスチレン酸ナトリウムを加えることによって、本病の予防が可能であることを明らかにし、発生原因に *Vibrio* が大きく関与していると述べている。

一方、SANOら<sup>8)</sup>は病エビの中腸腺上皮細胞の核内および中腸腺の内腔に、*Baculovirus* の一種と断定できるウイルスを、電顕によって確認している。桃山<sup>9)</sup>は病エビの中腸腺上皮細胞の核内に封入体が多数認められる場合があること、また、病エビのホモジネート濾液によって、本病が再現されることを明らかにし、ウイルスが一次的原因であることを示唆する結果を報告している。

著者らは本研究において、中腸腺が白濁して斃死する Postlarva 期のクルマエビから分離した菌を、健康なクルマエビに接種した結果、中腸腺の白濁など自然発病エビと同様の症状が発現し、斃死したエビの心臓および中腸腺からは例外なく、接種菌と同一性状を示す細菌が再分離された。また、今回の自然発病の際に、抗菌剤で薬浴した群はすみやかに治癒している。

以上の結果から、今回クルマエビ稚仔に発生した疾病の原因の一つとして、分離菌が大きく関与したことは疑いないものと推察される。また、本病の原因として、細菌とウイルスとが論議されているが、中腸腺が白濁する外観症状のみで、同一原因による疾病と考えること自体に問題があるように思われる。今後、多くの症例について、病理組織学的検討を行い、中腸腺や各組織における病変の差異を明確にしたのち、原因を究明する必要がある。

つぎに、分離菌の形態学的、生物学的ならびに生化学的性状を Bergey's manual 第8版<sup>2)</sup>および坂崎<sup>3,4)</sup>の記載と比較した結果、分類学上の位置としては、*Vibrio* 属に同定するのが妥当であると思われる。

すなわち、分離菌はグラム陰性、無芽胞の桿菌で端在性の単鞭毛をもち、運動性がある。ブドウ糖を発酵的に分解するが、ガスは産生しない。オキシダーゼを産生し、0/129 およびノボピオシンに対して感受性があるなどの性質を示し、Bergey's manual および坂崎による *Vibrio* 属細菌の定義と完全に一致した。

さらに、Bergey's manual では *Vibrio* 属を *V. cholerae* (biotype *cholerae*, *eltor*, *proteus*, *albensis*), *V. parahaemolyticus* [biotype I (*parahaemolyticus*), biotype II (*alginolyticus*)], *V. anguillarum*, *V. fischeri* および *V. costicola* の5種に分類している。分離菌とこれら5種の性状を比較すると、*V. anguillarum*, *V. fischeri* および *V. costicola*

*cola* とは 5°C での発育性、クエン酸塩利用性およびオルニチン脱炭酸性など、多くの性状が異なることから、同一種とは考え難い。また、*V. cholerae*, biotype *cholerae* とは比較的近似の性質を示したが、白糖およびサリシン分解性、0% NaCl での発育性などの性質が異なる。*V. parahaemolyticus*, biotype I (*parahaemolyticus*) とも比較的類似するが、サリシン分解性および 7% NaCl での発育性などの性質が異なる。

したがって、分離菌は Bergey's manual に記載された 5 種の菌の、いずれに該当させるにも無理があるように思われる。

楠田ら<sup>9)</sup>は病魚から分離された *Vibrio* 属細菌について分類を試みた結果、*V. anguillarum* に包括される I 群と、遊走発育性およびアルギニン加水分解性が陰性、リジン脱炭酸性が陽性などの性質で特徴づけられる II 群と、VP 反応および 2, 3-ブタンジオールからのアセトイン産生性陰性の III 群とに大別されると述べている。

分離菌の性状を上記の楠田らの分類と比較した結果、II 群との間に高い類似性が認められた。この II 群は種の決定がなされていない群で、著者らが、今回、対照菌株として用いた M 1625-6 株および Marine vibrio biotype 6330-63 も、この中に包括されている。

つぎに、分離菌と病エビ、病魚およびその他から分離された *Vibrio* 属細菌 23 株との性状を比較し、S-value を求めたところ、分離菌は安永<sup>10)</sup>がマダイから分離した M 1625-6 株と、類似度 85.9% の最も高い値が得られた。次いで、安永・山元<sup>9)</sup>が中腸腺白濁症状をともなうクルマエビ稚仔から分離した P 7-4~7 株および坂崎<sup>1)</sup>の 6330-43 株 (Marine vibrio biotype 6330-63) との間に、いずれも S-value 82.8% の高い類似性が認められた。しかし、*V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum* および *V. fischeri* に同定されている菌株とは、S-value が 50.0~70.3% であり、いずれも類似性が低かった。

以上のことから、今回、病エビから分離された細菌は、楠田らの分類に基づく II 群に包括され、種が決定されていない安永の M 1625-6 株および坂崎の 6330-43 株 (Marine vibrio, biotype 6330-63) と同種か、近似の種であると推察された。

したがって、分離菌のもつ DNA の G+C 含量が検討されていない現状においては、本菌を *Vibrio* sp. としておくのが妥当と思われる。

## 5. 要 約

1. 1981年4月に山口県下のクルマエビ養殖場において、Postlarva 期の稚仔に中腸腺が白濁して斃死する疾病が発生した。病エビの細菌学的検査の結果、純培養状に細菌が分離されたので、その細菌のクルマエビに対する病原性と分類学的位置を検討した。

2. 分離菌を接種したクルマエビは、中腸腺の白濁など自然発病エビと同様の症状を呈して斃死した。斃死したエビの心臓および中腸腺からは接種菌と同一性状を示す細菌が再分離された。したがって、本分離菌はクルマエビ稚仔に発生した疾病の原因の一つと考えられた。

3. 分離菌の分類学的位置としては、*Vibrio* 属に同定された。しかし、Bergey's manual 第8版に記載されたいずれの種にも該当せず、種が決定されていない安永の *Vibrio* sp. M 1625-6 株 および 坂崎の 6330-43 株 (Marine vibrio, biotype 6330-63) との類似性が高かった。したがって、分離菌のもつ DNA の G+C 含量が検討されていない現状においては、本菌を *Vibrio* sp. としておくのが妥当と考えられた。

終わりに、本研究を行うにあたり、貴重な菌株の分与と有益なるご助言を賜った高知大学農学部教授 楠田理一博士ならびに長崎県増養殖研究所 安永統男博士に深謝し上げる。また、種々の便宜とご助言を賜った水産大学校教授 小林博博士、同教授 網尾勝博士ならびに同助教授 林健一博士に衷心から感謝し上げる。

## 文 献

- 1) R.R. SOKAL and C. D. MICHENER: *Univ. Kansas Sci. Bull.*, 38, 1409~1438 (1958).
- 2) R. E. BUCHANAN and N. E. GIBBONS: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1974, pp. 1246.
- 3) 坂崎利一: 腸炎ビブリオとその類似細菌 (藤野恒三郎・福見秀雄編), 納谷書店, 東京, 1967, pp. 83-115.
- 4) 坂崎利一: *モダンメディア*, 18(4), 25~32 (1972).
- 5) 楠田理一・佐古浩・川合研児: *魚病研究*, 13(3), 123~137 (1979).
- 6) 安永統男・山元宣征: *長崎水試研報*, (4), 71~76 (1978).
- 7) 山本博敬・北田哲夫・山元宣征・安永統男: *長崎水試研報*, (3), 10~15 (1977).

- 8) T. SANO, T. NISHIMURA, K. OGUMA, K. MOMOYAMA and N. TAKENO : *Fish Pathol.*, 15 (3/4), 185-191 (1981).
- 9) 桃山和夫 : 山口内水試報告, (9), 1~20 (1981).
- 10) 安永統男 : 魚病研究, 7 (1), 67~71 (1972).

#### Explanation of Plate

##### Plate I

- A. The typical external symptom of the diseased postlarva of kuruma prawn, showing the cloudiness of midgut gland.
- B. Midgut gland and muscle lesions of artificially infected kuruma prawn (AO-1), showing the cloudiness of midgut gland and muscle.
- C and D. Photomicrographs obtained from kuruma prawn, fixed in DAVIDSON'S solution and stained with haematoxylin-eosin. C; Lesion of midgut gland,  $\times 200$ . D; Lesion of lymphoid organ,  $\times 200$ .



