

せっそう病とさけます増殖事業

野村哲一

はじめに

さけます資源は北日本の主要な水産資源であるが、資源の維持のため行われている増殖事業については紹介される機会が少ないようである。北海道と東北では増殖事業の運営方法も歴史的に異なり、ローカル色が強いため、話題となることも少なかったのかもしれない。さらに、資源の量的確保が優先されたこともあり、増殖事業に関連する病害の問題に注目されることは少なかった。本稿では著者がさけ・ますふ化場、さけ・ます資源管理センターに在勤中に検討したせっそう病の病原体である *Aeromonas salmonicida* の増殖事業との関連について紹介したい。

Aeromonas salmonicida とせっそう病

魚類病原細菌の一つである *Aeromonas salmonicida* (以下本菌とする) は世界中に分布し、サケ科魚類に大きな被害を及ぼす“せっそう病”の病原体として古くからよく知られている。せっそう病は18世紀の末にドイツで報告されてから、病気と本菌に関する報告が数多く発表されており、おそらく魚病研究の中では最も知見の集積された病気である。

我が国におけるさけます増殖事業

さけます増殖事業は1888年に官営の千歳ふ化場が開設され、それまでの種川制度などの繁殖保護を主体とした増殖事業から、人工管理下での採卵・ふ化・稚魚の生産・放流を行う人工増殖事業へと大きく変化した。サケおよびカラフトマスでは河川に遡上した親魚が成熟した後に採卵する方法で種卵を確保している。社会状況の変化や、遡上親魚に対する密漁防止対策などのため、親魚を捕獲する場所は河口部に移動することとなった(図1)。このことにより、増殖事業の推進に必要な親魚数は確保できるようになったが、捕獲した時点では成熟に至っていない個体が増加し、成熟までの期間を池で管理する、いわゆる催熟蓄養の必要性が増加した(図2)。

さけます増殖事業とせっそう病

せっそう病を増殖用サケ科魚類に限って見ると、小林ら(1963)は実験的に飼育したサケ稚魚に発生したせっそう病について、細菌学的、組織学的検討を行い、我が国では最初と思われる原因菌の性状や病理学的変化を報告している。西野(1967)は北海道東部十勝川で催熟蓄養中のサケ親魚の死亡原因について調査し、2か所の催熟蓄養池で死亡した親魚のそれぞれ72.7%と45.4%にせっそう病の症状が見られたことを報告している。



図1 親魚捕獲のため一般的に使用されるウライと呼ばれる捕獲装置。竹製のフェンスで河口近くの川を仕切り、一部の開口部から魚槽へ親魚を誘導する。魚槽の内部では親魚は蓄養池に活魚輸送されるまで高密度の状態に置かれる。



図2 催熟蓄養池。稚魚の飼育池を秋季には催熟蓄養池として使用している。成熟した個体を採卵舎に輸送するためのベルトコンベアーや防鳥網が設置されている。

また、木村(1970)は北海道オホーツク海沿岸の渚滑川で催熟蓄養中のサクラマス、カラフトマスに発生したせっそう病様疾病について報告し、*A. salmonicida*の一亜種である *A. salmonicida* subspecies *masoucida* を原因菌として報告している。催熟蓄養中のカラフトマスの30%、サクラマスの40%が本亜種の感染により死亡したと報告している(図3)。このように、増殖用のサケ科魚類には以前からせっそう病の被害があることが報告されていたが、西野(1967)や木村(1970)の報告以後は被害の報告は見られない。



図3 カラフトマスに見られたせっそう病の特徴的患部である皮膚の膨隆。内部には、筋肉の溶解物や血液が貯留している。現在、このような典型的なせっそう病の症状はまれにしか観察されない。

サケ、カラフトマス、サクラマス親魚の本菌保有状況

前記の報告から10年余りが経過した後、著者らは北海道のさけます増殖事業の主要な河川に遡上した外観上せっそう病の症状が見られない、サケ、カラフトマス、サクラマスの親魚について本菌の保有状況を調査した(図4)。西野(1967)や木村(1970)の報告と異なるのは、せっそう病の症状のない個体を任意に抽出して調査したことである。

調査の開始時点では他の細菌の混入が少ないと推定される腎臓を供試した(吉水・野村, 1989)。1979年から1992年までの結果を示すと、サケでは調査した30河川中19河川、カラフトマスでは19河川中11河川、サクラマスでは11河川中7河川の親魚から本菌が検出された。60尾を供試した1回の調査で検出率が80%にも及ぶ河川も存在した。合計12,374尾を供試したサケでの検出率は11.9%、4,785尾を供試したカラフトマスでは4.8%、3,383

尾を供試したサクラマスでは 1.8% となった。本菌が検出されたサケでは本菌生菌数が腎臓 1g あたり 10 万菌体も存在する個体もあったが、本菌以外の細菌は検出限界以下または数個であった。体腔液からも本菌は検出され、生菌数は体腔液 1 ml あたり 100 万菌体と高い数値を示した。これらの結果は、多くの河川でせつそう病の症状を示さない多くの親魚にも腎臓や体腔液に大量の本菌が存在していること示した(野村・木村, 1981、野村ら, 1991a, 1991b, 1992)。

近年は北海道大学の水産科学研究院が北海道内の主要河川のサケについて同様の調査を実施しているが、検出の傾向は前記したものと同様である。



図4 本菌の保有状況調査風景。左側；供試魚に個体識別のため番号札をつけ、鰓、腸管、腎臓の標本を採取する。右側；同時にウイルスや他の病原細菌についても調査を行うため、種々の用具を準備する。

河川で成熟した親魚と催熟蓄養親魚における本菌検出率の差

石狩川を遡上したサケは 76 km 上流の支流千歳川に設置した捕獲装置で捕獲される(図 5)。北海道内では親魚の遡上距離がもっとも長い河川ではあるが、1980 年と 1981 年に増水などにより一部の親魚が捕獲場より上流に遡上し河川内で成熟した。河川で成熟した個体と催熟蓄養した個体との検出率を比較すると、前者では 1980 年が 3.9%、1981 年が 5.8% であったが、後者ではそれぞれ 25.8%、41.2% と高い値を示した(野村ら, 1983)。



図5 左；千歳川で用いられている捕魚車。画面下側から遡上してきた親魚を水力で動く水車を用いて捕獲する。捕獲した親魚は、木製のデッキ下の魚槽にためられ、活魚輸送車で催熟蓄養池に輸送される。右；魚槽内は右側の図のように高密度の状態となる。

蓄養密度と検出率

催熟蓄養池における親魚の密度と本菌検出率の間には関連が見られる。河川を遡上するサケ親魚は遡上期の後半では成熟度合いの進んだ個体が多くなる。そのため催熟蓄養池の密度は、河川に親魚が遡上する時期の前期には高く、後期になるにしたがい低下する。9月末では約10日間の催熟蓄養が必要であるが、それ以後は河川内で成熟する個体が増加するため、蓄養の期間も催熟蓄養を必要とする個体も減少を示す。千歳川の蓄養池における調査では蓄養池の密度の増加に伴い検出率は増加し、密度の低下に伴い検出率も低下した(野村ら, 1983)。

条件性病原性と絶対性病原性

病原細菌はその病原性の強さから、宿主である魚類の生理状況が変化したり、免疫力が低下したりすると“火事場泥棒”的に体内で増殖する条件性病原性菌と、宿主の生理状況にかかわらず感染すると体内で増殖し病原性を示す絶対性病原性菌に区分される。魚類の病原細菌は条件性病原性菌が多いが、本菌はアマゴではわずか1個の細菌が体内に侵入すると発病するとの報告があり、絶対性病原性菌の性格が強い細菌とされている。さらに、本菌のうち自発凝集を示すものは病原性が強いとされているが、前記の調査で親魚から分離されたものはいずれも強い自発凝集性を示し、菌体外毒素の産生も確認されている強病原性株であった。

なぜ絶対性病原性の細菌が高率で腎臓にいるのか？

西野(1967)や木村(1970)の報告以後、北海道内のサケ、カラフトマスでせつそう病の症状を示す親魚が多数死亡したとの報告もなく、稚魚においてもせつそう病の発生の記録も見当たらない。報告がないことと、その病気が存在しないことは必ずしも同義ではないが(調査が実施されていなければ報告もない)、前記した結果は強病原性を示す本菌が被害を起こさず、症状も示さず、広くサケ科魚類親魚に静かに分布していることを示していた。また、催熟蓄養が本菌の保有に影響を与えていることも示唆された。親魚に高率で保有されている本菌が危機的な大流行を起こさなかったのは、人工増殖事業の推進上は幸運なことであるが、将来再興感染症として大きな被害を与える可能性が大きく、いわゆるリスク管理上は大きな問題である。なぜ、本菌がこのように広範な地域で親魚の腎臓や体腔液から検出されるのかは、この段階では答えは出せなかった。

高率に検出される本菌はどこから来たのか？

感染経路が不明のままでは対策を立てることもできないが、せつそう病の症状を示していない成熟後の親魚の腎臓や体腔液から検出された本菌は、いったいどこから来たのだろうか？

せつそう病の感染経路を考えるとときには、病気の症状は呈さず一見正常に見えるが体内に病原体を保有している、「キャリアー」と呼ばれる不顕性感染魚の解明がつねに課題となっている。不顕性感染の状態を引き起こすことも本菌の特徴でもある。

不顕性感染魚とCBB培地

本菌は培養が簡便であると言われているが、これは病魚の患部を材料としたときのこと

である。不顕性感染の個体から本菌を検出することは、砂浜で小さなダイヤモンドを見つけるような困難さが伴う。本菌の魚体への侵入門戸として、鰓や腸管を指摘する報告がある。腸管や鰓などの腎臓以外の部位を調査しようとする、調査対象部位に多くの種類の細菌が多数存在するため、培地上に多くの細菌のコロニーが出現する。シャーレ内に出現した多数のコロニーから形状によって本菌を見つけることは多大の労力を必要とする。本菌に対する強い選択性のある培地を開発することが理想であるが、本菌にはそのような選択性を示す培地はない。

本菌の菌体表面には色素の一種であるクマシー・ブリリアント・ブルー（CBB）を強く吸着するタンパク質が存在する。CBBを培地に少量添加しておく、本菌のコロニーは増殖に伴ないCBBを吸着して周辺部が濃紺に輝くようになり、他の細菌との区別が容易となる(野村・吉水, 2006)。CBB培地の採用により、鰓表面や腸管内における本菌の存否の検討が飛躍的に進んだ(図6)。

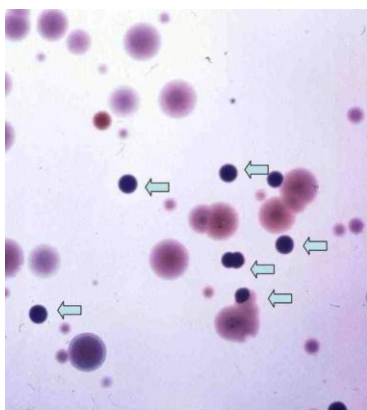


図6 CBB培地で培養した、サクラマス(サケ)の鰓表面から採集した材料。図の矢印で示した濃紺色のコロニーが本菌のコロニー。確認のため純粋培養を行い、水溶性褐色色素の産生(図8)と性状検査を実施する。

催熟蓄養と水平感染

千歳川におけるサケ親魚の捕獲は、捕魚車と呼ばれる水車(図5左)により行われるため、河川から捕獲した直後の個体を供試することが可能である。同一群の親魚を捕獲直後から採卵まで追跡した。CBB培地を用いて検討したところ、表1に示したように、捕獲直後でも50%の個体の鰓表面から本菌が検出されたが、腎臓、腸管内からは検出されなかった。捕魚車下部の魚槽(図5右)で24時間管理した個体では20%の個体の鰓表面から検出されたが、蓄養3日後や5日後では腎臓、および腸管内からも本菌が検出されるようになった(野村ら, 2002)。この結果から、本菌は鰓表面に付着したものが体内に侵入し、血液に乗って腎臓に到達して増殖しているものと推察された。

表1 CBB培地によるサケ親魚の鰓表面、腸管内および腎臓からの *A. salmonicida* の検出

時期	供試尾数	検出尾数 (%)		
		鰓表面	腸管内	腎臓
捕獲直後	60	30 (50.0)	0 (0)	0 (0)
捕獲装置で24時間経過後	60	12 (20.0)	0 (0)	0 (0)
蓄養3日後の採卵親魚	60	15 (25.0)	2 (3.3)	6 (10.0)
蓄養5日後の採卵親魚	60	15 (25.0)	2 (3.3)	9 (15.0)

標津沿岸での調査結果

従来から高率で本菌が検出される河川として標津川がある。標津漁業協同組合の加工場の協力をいただき沿岸と河川で捕獲された親魚の本菌検出率を比較したところ、河川では腎臓で40%にも達する高い検出率が観察されたが、沿岸で漁獲された親魚の腎臓からはまっ

たく検出されなかった。しかし、鰓表面からは低率であるが検出された(野村ら, 2002)。

最初の保菌はどのようにして起こるのか？

CBB 培地を用いて調査した結果、本菌は症状を呈さないサケ親魚の鰓表面、腸管内からもよく検出され、特に鰓表面からは従来腎臓からは検出されなかった捕獲直後の個体や、河口部で採取された個体からも検出された。海産魚からの感染や放流前の稚魚の段階からの本菌の保有等が可能性として指摘されるが、最も可能性が大きいのはサケが河川に遡上した時点で淡水域に分布している本菌に感染し、捕獲や活魚輸送、催熟蓄養、選別などの一時的に高密度の人為的環境におかれることで水平感染が起き、さらに成熟に伴う親魚の免疫力や抵抗力の低下のため急速に体内で本菌が増殖したのではないかと推察している。

淡水域に存在する本菌はどこから供給されているのであろう？

親魚からの採卵は腹部を切開する開腹法で行われているため、体腔液に含まれる本菌は採卵場所の床に落ちてしまう(図7)。採卵後の親魚もそのまま積み上げられたり、洗浄されたりして、結果的に親魚が保有していた本菌はほぼ全量が環境水中に放出される。また、本菌はその表面に 50Kd の分子量をもつ A-layer または S-layer と呼ばれるタンパク質が存在する。これらのタンパク質は他の物に付着しやすい性質を有しているため、本菌は卵表面にも付着する。しかし、受精後の卵は約 1 時間、卵膜の硬化を図るため流水中におかれ、この間に卵表面に存在した本菌もほぼ全てが環境水中に流出する(図7)。



図7 採卵風景

左上;採卵には専用の台が使用される。体腔液は網目状のところから、台の下に流出するようになっている。

右側:採卵。開腹後、卵は網で受け、受卵盆に入れられるが、この時体腔液は流出する。

左下;受精後の卵は、流水中で1時間以上洗浄される。この過程で卵表面の本菌は流出する。

本菌は魚類から離れて水中や環境中では長期生存しないとされている。ここで問題となるのは NCBV (Non-Culturable But Viable;培養はできないが、生きています) 状態の本菌の存在である。この生きていますが培養できない冬眠状態にあるような菌は、生死はもちろん、感染性を有しているかについても培養や分子生物学的な手法ではわからない状態である。本菌が NCBV 状態で池の底質中に 6 ヶ月以上も生存していたとする報告もあり、驚くほど長期に生存し感染の機会をうかがっていると想像できる。本菌は様々な生物がベクター(媒介者)となって魚への感染を起こすことが明らかになっており、NCBV の状態から種々のベクターを介して新たに遡上してくる親魚に感染していく可能性が推定される。

対策はあるのか？ 千歳川における蓄養池の整備と検出率の変化

千歳川の親魚は催熟蓄養の開始された当初は素掘りの池に河川水を導入し、簡便な覆いをした程度の池で催熟蓄養されていた。その後ふ化施設の改良に伴い、稚魚の給餌飼育のために建築された大型のコンクリート製池を秋季に使用することになり、蓄養密度の低減が図られた。また、低水温の湧水の使用も可能になった。これに伴い千歳川の検出率は過去には80%にも及んだものが10%以下の低い値に低下している。前記した西野(1967)や木村(1970)での十勝川や渚滑川の蓄養池は旧河川の一部を仕切ったものであり、現在の改良された蓄養池に比べると環境的にも劣悪なものであった。河川で成熟したサケ親魚の本菌保有率は低い値ではあるが、ゼロではない。しかし、保有率をゼロとすることは困難であっても、蓄養条件の改善によって水平的な感染の拡大を防止し保有率を低減させることは可能であろう。

IHN とポピドンヨード剤による全卵消毒

体腔液中に存在する本菌は菌体表面に存在する A-layer の存在により卵表面等に付着する。しかし、1992 年にサケ親魚から伝染性造血器壊死症 (IHN) ウイルスが検出されたことを受けて、この年以降北海道内の全てのサケ、カラフトマス、サクラマス卵を対象に、発眼後、あるいは一部の卵では受精後にポピドンヨード剤による卵消毒が実施されている。ヨード剤による卵消毒により卵表面のウイルスだけではなく、本菌も殺菌することができ、この時点で親魚から稚魚への感染環は遮断されていると思われる。

いままで分かったこととこれからのこと

本菌は魚病細菌の中でも長い研究の歴史があり、多くの科学的知見の集積されている細菌であり、我が国のさけます増殖事業もまた 1888 年の近代的増殖事業の開始以来長い歴史の上に確立されてきた技術である。病魚から離れては長期には生存しないし、感染するとかならず発病に結びつくと言われていた本菌が、これも営々と継続されている増殖事業のなかで姿を表したり隠れたりしながら我々の眼に触れず生き続けているのであろう。筆者は長年研究にたずさわったが、サケの生活史のところどころで、その姿を培地の入ったシャーレのなかに見つけることができた(図8)。また、見つけるための技術的な改良もわずかではあるが進めることができたように思う(吉水・野村, 1989、野村・吉水, 2006)。しかし、大量に本菌を保有する親魚が河川から姿を消すと、本菌もまた姿を消し我々の目に触れることは再びなくなる。遺伝子の断片さえ見えなくなる(野村, 1998)。NCBV を代表とする忍者

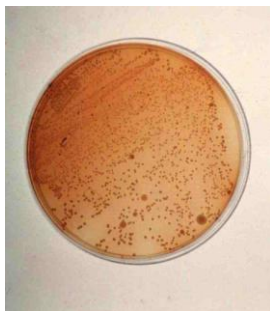


図8 普通寒天培地にサケ親魚の腎臓を塗抹し 20℃・72 時間培養した後出現した *A. salmonicida* のコロニー。通常肌色の培地が、本菌の産生する褐色水溶性色素によりチョコレート色に変化している。

のように変装し“七変化”とさえ表現される細菌を効率よく検出する技法を開発し、広く環境中での本菌の動態を明らかにすることは、増殖事業における防疫対策技術の確立に最も有効な知見となるのであろう。

幸いなことに放流用種苗には大きなせつそう病の被害は確認されていない。しかし、サケが本菌に感受性を有していることは明らかであり、せつそう病に対してより感受性の高

いサクラマスのスモルト化幼魚(森川, 1989)の生産拡大を図る上でも、親魚の体内に存在する大量の病原体を放置することは大きなリスクを持っている。同様の調査を他の病原細菌について行うなら、冷水病や細菌性腎臓病の病原体に関してもほぼ同様の現象となることが徐々に明らかになっている。

最後に本菌と催熟蓄養の関連から、催熟蓄養や、ひいては人工増殖事業そのものを否定する意図はない。我が国の状況からサケ資源の安定維持に果たす人工増殖事業の役割を否定することはできない。施設や卵の有効な消毒方法の確立や、親魚の催熟蓄養施設や管理技術の改善により、親魚に与えるストレスの低減を総合的に図るべきであろう。このことは、単に本菌の保有率を下げるだけではなく、他の病害に対する有効な防止効果を発揮するし、放流種苗の生産効率の向上にもつながる。そのためには魚病分野ばかりではなく広範な分野の人々の協力が必要とされている。

本稿をまとめるにあたり、貴重なご助言と丁寧なご指導をいただいた北海道大学水産科学研究院 吉水 守教授、当協会理事長 原 武史博士、同理事 嶋津靖彦博士に深く感謝の意を表します。 (元(独)養殖研究所札幌魚病診断・研修センター長)

参考文献

- 木村喬久 (1970). 催熟蓄養中のサクラマスならびにカラフトマス親魚に発生した細菌性疾病に関する研究. さけますふ研報, **24**, 9-100.
- 小林哲夫・栗倉輝彦・本間 馨・田村 正 (1963). サケの飼育に関する研究. 孵化場研究報告, **18**, 11-26.
- 西野一彦 (1967). 蓄養サケ親魚に発生した細菌性疾病について. 魚病研究, **2**, 73-74.
- 野村哲一・木村喬久 (1981). 北海道内の主要河川に溯上するサケ (*Oncorhynchus keta*) カラフトマス (*Oncorhynchus gorbusha*) サクラマス (*Oncorhynchus masou*) ヒメマス (*Oncorhynchus nerka*) 親魚における *Aeromonas salmonicida* の保有状況. 魚病研究, **16**, 69-74.
- 野村哲一・木村喬久・清水幾太郎・奈良和俊 (1983). 千歳川におけるサケ (*Oncorhynchus keta*) 親魚からの *Aeromonas salmonicida* の検出 催熟蓄養による検出率の変動. さけますふ研報, **37**, 53-61.
- 野村哲一・吉水 守・木村喬久 (1991a). 外観上正常なサケ, カラフトマス及びサクラマス成熟親魚の *Aeromonas salmonicida* 保有状況. 魚病研究, **26**, 139-147.
- 野村哲一・吉水 守・木村喬久 (1991b). サケ及びサクラマスの各生活期における *Aeromonas salmonicida* 保有状況. 魚病研究, **26**, 149-153.
- 野村哲一・吉水 守・木村喬久 (1992). サケ, カラフトマス及びサクラマス成熟親魚体腔液からの *Aeromonas salmonicida* の検出. 魚病研究, **27**, 69-72.
- 野村哲一 (1998). サケ科魚類の細菌病. 月間海洋, **14**, 20-25.
- 野村哲一・本間裕美・笠井久会・吉水 守 (2002). CBB 培地による河川および沿岸で採集されたサケ (*Oncorhynchus keta*) からのせつそう病原菌 *Aeromonas salmonicida* の検出. 北大水産彙報, **53**, 45-50.
- 野村哲一・吉水 守 (2006). サケ・マス採卵親魚からのせつそう病原菌 *Aeromonas salmonicida* *subsp. salmonicida* の検出法. さけ・ます資源管理センター技術情報,

172, 25-29.

- 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.
- 森川 進 (1989). せっそう病に関する研究-XVII サクラマスおよびアマゴのスモルトおよびパーの細菌性疾病に対する感受性の差異. 岐水試研報, **34**, 9-15.