

河川における冷水病原因菌 *Flavobacterium psychrophilum* 保菌状況調査（平成 29 年度）

西村友宏・酒井忠幸・武田維倫

目的

アユの冷水病は *Flavobacterium psychrophilum* (以下、冷水病菌) を原因とする細菌性疾病であり、解禁日前後の発症事例も多く、アユ漁業に深刻な被害をもたらしている。¹⁾ そのため、近年では河川環境中やアユ以外の魚種が保菌する菌について遺伝子型まで含めた調査が行われるようになり、結果複数の感染経路が推測されている。¹⁻³⁾ そこで本試験では、県内における冷水病の感染経路および発生条件の解明に向けて、天然遡上魚の保菌状況調査を行った。

材料および方法

調査は平成 29 年 4 月および 5 月の那珂川アユ遡上・放流状況調査の際に採捕した天然遡上魚 (p20-21 参照) を対象とした。各個体から鰓弁を摘出後、MightyPrep reagent for DNA (TaKaRa) を用いて total DNA を抽出し、PCR 用のテンプレートとした。PCR は吉浦ら⁴⁾ がロタマーゼ遺伝子上に設計し、冷水病菌の検出に利用されるプライマー (表 1) を用いて行った。PCR には KAPA2G Fast HotStart ReadyMix with dye (KAPA BIOSYSTEMS) を用いた (表 2)。

表 1 試験に使用したプライマー配列

プライマー名	配列
FPS-1F	5'-GTACCATGATACAGTCAGGTTTTATACCA-3'
FPS-1R	5'GCGTTTTAAATCCAACCTTGCTTCG-3'

表 2 FPS-1 を用いた PCR の反応液組成および反応条件

Sample DNA	1 μl	温度	時間
ReadyMix	5 μl	95°C	1 min
F+R primer (10 μM each)	0.5 μl	95°C 60°C	10 sec 10 sec
DDW	3.5 μl	72°C	10 sec

結果および考察

検査は 4 尾から 6 尾を 1 Lot とし、計 160 尾を分析した (表 3)。すべてのサンプルで外観上冷水病の症状を示す個体は確認されなかった。しかし PCR 検査の結果、4 月 11 日に 1 Lot, 5 月 16 日に 1 Lot, 5 月 22 日に 2 Lot で陽性が確認された。各時期の水温は、4 月 11 日が 15.0 °C, 5 月 16 日が 22.0 °C, 5 月 22 日が 26.1 °C であった。冷水病の発症水温については過去に 10°C から 25 °C での発症事例が報告されており、¹⁾ 本調査にお

いても発症条件を満たしているといえる。ただし、冷水病菌にはアユに対して病原性を示す菌株と示さない菌株があることが知られているが、²⁾ 今回陽性が確認された菌株の種類は不明である。

冷水病の主な発症時期はアユ釣りが盛んな 6 月から 7 月であるが、本調査ではアユの遡上が本格化する前である 4 月上旬には保菌していることが明らかとなった。今後は、アユへの病原性の有無に着目し、遺伝子型を含めたより詳細な解析を行う必要がある。

表 3 天然遡上魚の保菌検査結果

採取日	検査尾数(尾)	平均魚体重(g)	PCR (陽性/陰性)
4月4日	20	3.9	0/4
4月11日	20	5.3	1/3
4月25日	20	6.4	0/4
4月28日	11	3.8	0/2
4月28日	9	11	0/2
5月9日	20	7.5	0/4
5月16日	20	5.3	1/3
5月22日	20	4.5	2/2
5月30日	20	7.1	0/4

引用文献

- 1) アユ冷水病対策協議会. アユ冷水病対策協議会とりまとめ. 2008; 1-9.
- 2) 小原昌和・沢本良宏・熊川真二・傳田郁夫・川之辺素一・小川滋・築坂正美. 淡水魚から分離された冷水病菌の遺伝子型. 長野県水産試験場研究報告 2009; 11: 1-3.
- 3) 谷本剛. アユ冷水病の感染経路の解明と防疫対策. 徳島水研だより 2007; 61.
- 4) 吉浦康寿・釜石隆・中易千早・乙竹充. (2006) Peptidyl-prolylcis-trans isomerase C 遺伝子を標的とした PCR による *Flavobacterium psychrophilum* の判別と遺伝子型. 魚病研究 2006; 41 (2) : 67-71.

(水産研究部)