

[成果情報名] 山形県のアユから分離された冷水病菌のタイプ

[要 約] 平成 16 年に山形県内のアユから分離された冷水病菌 (*Flavobacterium psychrophilum*) 48 株について、PCR-RFLP 法(※1)によるタイプ分けを行った。山形県のアユから分離された冷水病菌は、アユ由来であると推定された。

[部 署] 内水面水産試験場 生産開発部

[連絡先] Tel. 0238-38-3214

[成果区分] 政

[キーワード] アユ、冷水病、PCR-RFLP 法

[背景・ねらい]

冷水病菌は、その血清型の違いや検出される魚種などにより、複数のタイプが存在することが報告されている。このなかで、PCR-RFLP 法によるタイプ分けを用いることにより、その菌がアユから多く検出されるタイプか、またはそれ以外の魚種から検出されるものかを分けることができる(Izumi et al 2003)。

一方山形県では、平成 15 年から県内の複数河川で冷水病菌が検出され始め、問題となっている。本県の河川にはアユ以外で冷水病に罹るような魚種も放流されており、これらが感染源になっている可能性も考えられる。

そこで、山形県のアユから分離される冷水病菌の由来を検討するため、PCR-RFLP 法によるタイプ分けを行った。

[成果の内容・特徴]

1. 平成 16 年 9 月～11 月にかけて、県内の河川で採捕したアユから分離された冷水病菌 48 株を用いた。
2. 市販の DNA 抽出キットを用いて DNA を抽出し、表 1 に示す 2 種類のプライマーセット及び制限酵素(※2)を用いて、PCR-RFLP 法による解析を行った。PCR の反応条件は泉らの方法に従った。
3. *Hinf* I による RFLP では A 及び B(写真 1)、*Rsa* I による RFLP では R 及び S(写真 2)のそれぞれ二つのタイプに分類し、これらの組み合わせで 4 つの群に分類した(表 2)。
4. AR 及び AS 型の割合が全体の 82%であり、アユに特異的なタイプである A 型の割合が高いことから、本県のアユから分離された冷水病菌は、アユ由来であると推定された。

※ 1 PCR-RFLP 法とは、ある DNA 領域を PCR により増幅し、これを制限酵素で切断したときに、塩基の組み合わせの違いがあると切断される長さに多型が生じる。これを電気泳動で検出する方法をいう。

※ 2 制限酵素とは DNA を構成する塩基(A;アデニン、G;グアニン、C;シトシン、T;チミン)のある一定の結合を切断する酵素で様々な種類が存在する(図 1)。

[成果の活用面・留意点]

- ・ 魚種の拡大も含め、感染原因のさらなる調査・検討が必要である。
- ・ 菌がアユ由来の可能性が高いことから、おとりアユなど県外から持ち込まれていることが考えられ、県外からのアユの移動を規制するなど、対策が必要である。

[具体的なデータ]

表1 PCR-RFLPに用いたプライマーセット及び制限酵素

プライマーセット	PCR産物	制限酵素名	バンドパターン
GYR 1、GYR 1R	1212bp、290bp	<i>Hinf I</i>	写真1
PSY G1F、PSY G1R	1017bp	<i>Rsa I</i>	写真2

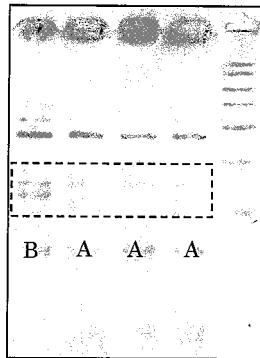


写真1 *Hinf I* 処理による泳動像

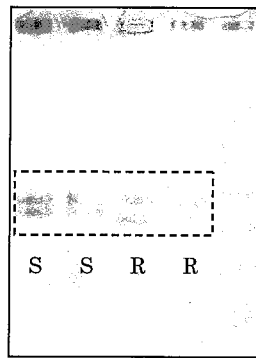


写真2 *Rsa I* 処理による泳動像

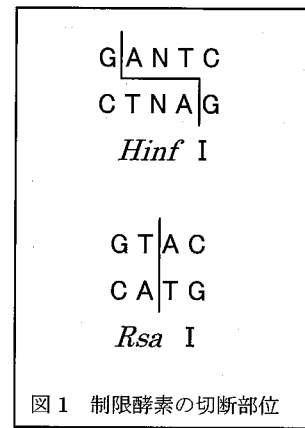


図1 制限酵素の切断部位

表2 平成16年に山形県内河川のアユから分離された冷水病菌のRFLPタイプ

魚種	タイプ					計
	AR型	AS型	BR型	BS型	不明	
アユ(山形県)	11 22.9%	28 58.3%	1 2.1%	5 10.4%	3 6.3%	48 100.0%
※ アユ(全国)	23 16.0%	82 56.9%	3 2.1%	28 19.4%	8 5.6%	144 100.0%
※ ギンザケ(外国)	0	0	1	2	0	3
ギンザケ(日本)	0	0	5	3	0	8
ニジマス(外国)	0	0	7	0	0	7
ニジマス(日本)	0	0	31	4	0	35
アマゴ	0	0	2	11	0	13
ヤマメ	0	0	0	4	0	4
イワナ	0	0	0	1	0	1
オイカワ	0	0	0	9	0	9
コイ	0	0	0	2	0	2
ウナギ	0	0	0	1	0	1
テンチ	0	0	0	2	0	2

※山形県以外のデータはアユ冷水病対策研究平成6～11年度の取りまとめを参照した

[その他]

研究課題名：アユ冷水病対策事業

予算区分：県単

研究期間：平成16年度(平成16～18年)

研究担当者：佐藤年彦

発表論文等：なし