

(技術名) <b>クルマエビ養殖場で観られるオレンジエビとビブリオ属細菌6種の関係について</b>							
(要約) <b>クルマエビ養殖</b> で問題となっている <b>オレンジエビ</b> について、病原性の高い <b>ビブリオ属細菌</b> 6種のプライマーを用いPCR検査したところ、 <b>ビブリオ属細菌</b> との関係性は <b>ない</b> 。							
海洋深層水研究所					連絡先	098-896-8655	
部会名	水産業	専門	養殖	対象	クルマエビ	分類	研究
普及対象地域							

#### [背景・ねらい]

近年、クルマエビ養殖池において体色がオレンジ色に変化した活力の弱いエビが度々観察される。また、夏季の高水温期にビブリオ病 (*V. penaeicida* を原因細菌) と思われるふらふらと遊泳する症状を呈するエビが観察されており、沖縄県車海老漁業協同組合や県内養殖場からビブリオ属細菌の検査に対する要望が出ている。そこで、クルマエビに対して病原性を有するとされるビブリオ属細菌6種 (*V. nigripulchritudo*、*V. rotiferianus*、*V. campbellii*、*V. haveyi*、*V. owensii*、*V. penaeicida*) に対して、種特異的なプライマーを用いてPCR検査することで、オレンジエビとビブリオ属の関係を調べる。

#### [成果の内容・特徴]

1. ビブリオ属全般および6種の種特異的なプライマーリストを表1に示す。PCRの条件は、参照論文を参考にする(表1)。
2. 正常な64個体から23回検出された。オレンジ11個体やその他の白色等4個体からは検出されなかった。(表2)。体色が正常ではないエビと、本試験で解析したビブリオ属6種との間に関係性は認められなかった。
3. 養殖池の水温別のビブリオ属6種の集計結果では、30℃以上の日に採取した56個体のエビでは22回、29.9℃以下では24個体中1回検出された(表2)。水温が上昇するとエビの活力が低下し、ビブリオ属細菌が増殖しやすい。
4. 池入れ後の稚エビの状態ごとのビブリオ属6種の集計結果では、活エビ61個体では12回、フラツキ状態のエビ32個体では10回、斃死直後のエビ16個体では2回検出された(表3)。体色異常と同様に、ビブリオ属6種とフラツキや斃死との間に強い関係性は見られなかった。

#### [成果の活用面・留意点]

1. ビブリオ属全般を対象としたPCRでは、病原性の有無に関わらず、ビブリオ属細菌を幅広く検出できるようになっており、クルマエビの魚病検査には適さない。有害無害を問わず、海域に常在する細菌であることから、エビからも高確率で検出される。
2. 斃死したエビは、斃死後にビブリオ属細菌が増殖した可能性があるため、斃死前の弱ったエビを検査に用いる事が望ましい。
3. ビブリオ属4種 (*V. rotiferianus*、*V. campbellii*、*V. haveyi*、*V. owensii*) については、マルチプレックスPCRを行うことにより、1回の反応で4種の検査を実施することができる。

## [具体的データ]

表1. ビブリオ属細菌のプライマーリスト。

種	プライマー名	塩基配列 (5'→3')	増幅サイズ (bp)	参照論文等
①ビブリオ属全般	V.16S-700F	CGGTGAAATGCGTAGAGAT	663	Tarr et al., 2007
	V.16S-1325R	TTACTAGCGATTCCGAGTTC		
② <i>V. nigripulchritudo</i>	Vnig-hlyF	CTAACAGCGTTACTCATGCGTTGG	450	東京海洋大学ゲノム科学 研究室提供
	Vnig-hlyR	GACAAGACCCGCAATATCCAATGAA		
③ <i>V. rotiferianus</i>	Vr.mreB-F	GTGCTATCCGTGAGTCAG	489	Cano-Gomez et al., 2015
	Vr.mreB-R	AGATGTCCGATGCTAGTT		
④ <i>V. campbellii</i>	Vc.ftsZ-F	AAGACAGAGATAGACTTAAAGAT	294	Cano-Gomez et al., 2015
	Vc.ftsZ-R	CTTCTAGCAGCGTTACAC		
⑤ <i>V. haveyi</i>	Vh.topA-F	TGGCGCAGCGTCTATACG	121	Cano-Gomez et al., 2015
	Vh.topA-R	TATTTGTCACCGAACTCAGAACC		
⑥ <i>V. owensii</i>	Vo.topA-F	TACCTCAACACTTCAGCAAGCG	85	Cano-Gomez et al., 2015
	Vo.topA-R	TTCATACAGACGCTGAGCCAG		
⑦ <i>V. penaeicida</i>	Vpen-hlyF	CCAATAGCATCACACATGCGCTAG	450	東京海洋大学ゲノム科学 研究室提供
	Vpen-hlyR	ACCAGACCACCCACATCGAGCGTG		

表2. クルマエビ養殖池の出荷サイズ以上のエビを対象とした体色ごと、養殖池の水温ごとのビブリオ属細菌のPCR結果。

種類	比較対象	サンプル数	①ビブリオ 属全般	② <i>V.</i> <i>nigripulch</i> <i>ritudo</i>	③ <i>V.</i> <i>rotiferianu</i> <i>s</i>	④ <i>V.</i> <i>campbellii</i>	⑤ <i>V.</i> <i>haveyi</i>	⑥ <i>V.</i> <i>owensii</i>	⑦ <i>V.</i> <i>penaeicid</i> <i>a</i>	②～⑦の合 計
体色	正常	65	64	12	0	2	6	3	0	23
	オレンジ色	11	11	0	0	0	0	0	0	0
	その他 (白色等)	4	3	0	0	0	0	0	0	0
水温	30.0度以上	56	54	12	0	2	5	3	0	22
	29.9度以下	24	24	0	0	0	1	0	0	1
成エビ合計	-	80	78	12	0	2	6	3	0	23

表3. 池入れ後1～2ヶ月以内の稚エビの状態ごとのビブリオ属細菌のPCR結果。

種類	比較対象	サンプ ル数	①ビブリ オ属全般	② <i>V.</i> <i>nigripulchritud</i> <i>o</i>	③ <i>V.</i> <i>rotiferianus</i>	④ <i>V.</i> <i>campbellii</i>	⑤ <i>V.</i> <i>haveyi</i>	⑥ <i>V.</i> <i>owensii</i>	⑦ <i>V.</i> <i>penaeicida</i>	②～⑦の合 計
状態ごとの 比較	活	64	61	0	6	0	0	0	6	12
	フラツキ	32	31	2	2	0	0	2	4	10
	斃死	16	13	1	1	0	0	0	0	2
稚エビ合計	-	112	105	3	9	0	0	2	10	24

## [その他]

課題 I D : 2020 深 002

研究課題名: クルマエビ養殖技術基盤強化事業

予算区分: その他 (沖縄県産業振興重点研究推進事業)

研究期間 (事業全体の期間): 2020～2021 年度 (2020～2024 年度)

研究担当者: 照屋清之介、廣野育生 (東京海洋大学)

発表論文等: 照屋清之介・寺本沙也加 (2022) 沖縄深層水研報、No. 22 (掲載予定)