

アユ冷水病感染試験

嶋村 一郎, 福永 稔

目的

近年, アユ養殖等で問題となっている冷水病は, 実験室内での人為感染が難しく, 冷水病研究を進めていく上で大きな障害となっているが, 網揉みにより魚体にストレスを与えてから $10^7 \sim 10^8$ CFU / ml の菌液に 10 分間浸漬することにより高い死亡率が得られるという報告(宇野 1994)がある。

そこで今回は高い死亡率が得られる網揉み法を若干修正した方法により, より低濃度の浸漬感染試験をおこない, より低濃度での感染成立の可能性を検討した。

材料と方法

供試魚は本県栽培漁業センター産の人工種苗(平均魚体重 9.3g)を使用した。試験供試 2 週間前から投げ込み式冷却器を用いて 15 ~ 18 (平均水温 17.3)に調整した飼育水で馴致した。

攻撃菌株は県内養魚場で発生した冷水病罹患魚から分離した冷水病菌株 PT98099 を使用し, 網揉み処理をした供試魚を菌浴することにより攻撃をおこなった。

前処理法は水切りバットの内側に 10mm 目合いの網を張り, その中に供試魚を投入し, 所定の時間, 所定の回数振とうすることによりおこなった。

感染方法は冷却した飼育水(18.5)により所定の濃度に調整した冷水病菌液に供試魚を 10 分間浸漬することによりおこなった。感染試験後, 投げ込み式冷却器で平均水温 16.2 に調整した飼育水で 2 週間飼育し, 経過観察をおこなうとともに死亡魚を取り上げ, 症状の観察および細菌検査を実施した。また, 攻撃菌の調整は改変サイトファーガ寒天培地で 5 日間培養した冷水病菌を白金耳で掻き取り, 滅菌生理食塩水に懸濁したものを 10 倍階段希釈により調整した。調整した菌液を飼育水により希釈し, 試験に使用した。正確な攻撃菌数の計測は, 10 倍階段希釈した菌液 0.1ml を 1 濃度あたり 3 枚の寒天平板に塗抹し, コロニーを計数した。

定法では 2~3 分間の網揉みの後, 10^8 または 10^7 CFU / ml の菌液に浸漬することが適当とされている。1 区ではそれに従い, 10^6 CFU / ml 以下の濃度の試験区(2 区, 3 区)では網揉み回数を 2 倍にして感染試験をおこなったが, 10^7 CFU / ml の菌数を得ることができず, すべての実験区で予定していた菌数より 1 オーダー低い濃度で実施した。

試験区の詳細については表 1 に示した。

結果

結果を表2に示した。対照区では全く死亡が認められず，網揉みをおこなった試験区では全試験区で死亡が認められた。また，攻撃菌数の高い1区よりも攻撃菌数は低い網揉みを激しくした2区，3区の方が高い死亡率を示し，全く網揉み処理をおこなわなかった対照区では死亡が認められなかった。死亡魚の外観症状は大部分の個体で背鰭，胸鰭および体表のスレを伴う発赤や鰓の貧血が認められた。また，一部の個体では冷水病罹病魚に特徴的に認められる下顎の発赤や，鰓蓋下部の出血が確認された。また，死亡魚の大半から冷水病菌が分離され，死亡原因は冷水病によるものと判断された。

表1 試験区

実験区	供試尾数	攻撃菌数 (CFU/ml)	前処理方法	攻撃方法
1区	25	7.7×10^6	2分間網揉み 50~60 往復/分	10分間菌液に浸漬
2区	25	7.7×10^5	2分間網揉み 100~120 往復/分	10分間菌液に浸漬
3区	25	7.7×10^4	2分間網揉み 100~120 往復/分	10分間菌液に浸漬
対照区	25	4.8×10^6	なし	10分間菌液に浸漬

表2 試験結果

実験区	攻撃菌数 (CFU/ml)	供試尾数	経過日数														計	死亡率
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
1区	7.7×10^6	25				1	2	3	3	1		2		2			14	56
2区	7.7×10^5	25					5	5	4	3		1		2			20	80
3区	7.7×10^4	25					4	3	3	5	2	2		1			20	80
対照区	4.8×10^6	25															0	0

考察

これらのことから，今回の網揉み法による感染試験では振とう回数を増やし，ストレスを増大させることにより，より低濃度の菌量でも感染が成立することが確認された。また結果からある程度の菌数では攻撃菌数の高低ではなく，魚体に対するストレスにより死亡率は左右されると考えられる。ただし，網揉みのストレスによる影響についても検討する必要がある。

網揉み法はアユ冷水病の人為感染法の一つとして利用できる可能性があると考えられるが，今後再現性について検討する必要があると思われる。