

冷水病人為感染試験

奥山芳生, 宇野悦央

アユの冷水病は和歌山県では1992年以降多発して大問題となっている。本病に対しては様々な試験が行われているが、アユから分離された冷水病菌を用いて人為感染試験をする場合、同一の菌株であっても継代した場合や魚体を通過させた場合で病原性が変化する可能性がある。このことから、同一の菌株でその後継代や魚体を通過させた異なる3種の株を用いて接種による感染試験を行い致死率の差異についての検討を行った。

方 法

人為感染方法 使用菌株は'92年4月23日に養殖アユから分離された冷水病菌で、分離後'94年4月にグリセリン10%添加改変サイトファーガブイオンを用いて-80℃で凍結保存したもの(元株)、'97年6月から馬血清添加改変サイトファーガ培地で100回継代を繰り返した後、'99年1月にグリセリン10%添加改変サイトファーガブイオンを用いて-80℃で凍結保存したもの(継代株)、一度魚体を通過させた後再分離し'98年12月にグリセリン10%添加改変サイトファーガブイオンを用いて-80℃で凍結保存したもの(通過株)を用いた。各菌株は馬血清添加改変サイトファーガ培地を用いて18℃で4日間培養後、1ml当たり元株は 1.92×10^{10} CFU、継代株は 1.85×10^{10} CFU、通過株は 1.90×10^{10} CFUの菌液を調整した。このように調整された各菌液を'99年2月8日に供試魚の側線と背鰭後方との間の体側の筋肉内に1尾当たり0.05ml接種した。供試魚は平均体重が雄43.2g、雌45.5gの海産アユを用いた。

試験区 試験区は表1に示したとおりである。1区は元株を雄に接種、2区は元株を雌に接種、3区は継代株を雄に接種、4区は継代株を雌に接種、5区は通過株を雄に接種、6区は通過株を雌に接種した区とした。人為感染後各試験区10尾ずつをそれぞれの飼育水槽に収容した。飼育水槽は90リットルアクリル水槽で、換水率を0.7回転/時として2月8日から15日間無給餌飼育した。試験期間中の飼育水温は9.2~10.1℃の間で推移した。

表1 冷水病人為感染試験試験区

試験区	1区	2区	3区	4区	5区	6区
菌 株	元株		継代株		通過株	
接種菌量	9.6×10^8 CFU/尾		9.3×10^8 CFU/尾		9.5×10^8 CFU/尾	
性 別	♂	♀	♂	♀	♂	♀
尾 数	10	10	10	10	10	10
平均体重(g)	43.2	45.5	43.2	45.5	43.2	45.5
G S I	6.5	13.7	6.5	13.7	6.5	13.7
飼育日数	15	15	15	15	15	15

結果および考察

冷水病人為感染試験日別斃死尾数を表2に、斃死率の推移を図1にそれぞれ示した。斃死は1～

表2 冷水病人為感染試験日別斃死尾数

試験区	供試尾数	飼育日数															合計	斃死率 (%)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15			
1区	10				1		3	1	1	2				1				9	90
2区	10				1		5		2		1							9	90
3区	10				3		3		1			1	1					9	90
4区	10						1		2	3		1						7	70
5区	10					1	1	2	1			1		2	1			9	90
6区	10					1		4	2	2								9	90

3区で4日目、4区で6日目、5、6区で5日目から始まり試験終了時の斃死率は4区で70%となった他は残り全ての区で90%となった。また、斃死した全てのアユから冷水病菌が検出されたことから斃死の原因は冷水病であると考えられた。斃死率が低かった4区と他の区を比較すると斃死尾数では2尾の差であることから両者の斃死率には差がないと考え、全ての区で斃死状況は同様であると判断される。また、雄、雌についてみた場合も全ての区で斃死状況は同様であると判断されたことから、雌雄による差もないといえる。このことから、冷水病菌を魚体から分離後凍結保存しても、継代を繰り返しても、一度魚体を通過しても病原性は同様であり、アユの性別にも関係ないと思われる。

なお、今回はある程度成熟の進んだアユを用いて試験を行い以上のような結果になったが、成熟していないアユを用いた場合の3種の株間での斃死率の検討を行う必要があると思われる。飼育水温についても9～10℃で試験を行ったが、種々の水温での斃死率の比較検討も行う必要があると思われる。また、今回は斃死率が高すぎたので、低い菌濃度での試験も必要であると思われる。

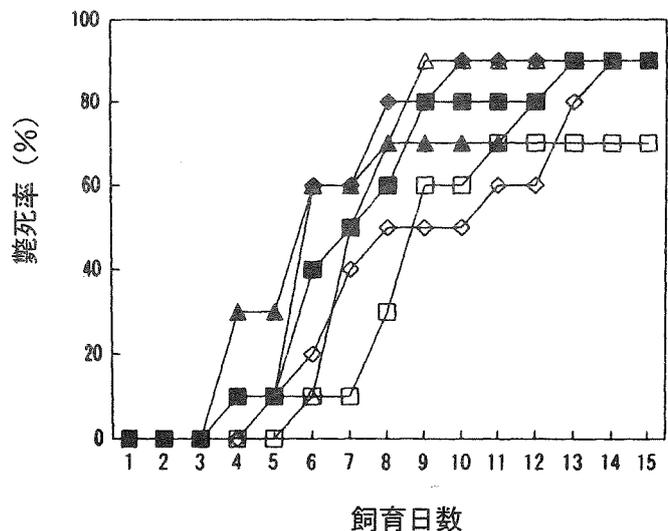


図1 冷水病人為感染試験斃死率の推移

■1区 ◆2区 ▲3区 □4区 ◇5区 △6区