

## 養殖アユから分離された冷水病菌の病原性について

宇野悦央, 辻村明夫

養殖アユの冷水病は、本県では1985年頃から発生していたものと推測され、1992年には最も多い疾病となっている。<sup>1)</sup> 発生は周年みられるが、12月の早期湖産種苗を導入した頃から4月頃までが多い。<sup>2)</sup> 病勢の進行は急激な場合と緩やかな場合があり、急激な例では3日間で全滅したことがある。冷水病菌の病原性については、若林ら<sup>3)</sup>によりギンザケ稚魚由来株を用いてニジマス稚魚で調べられているが、アユについては報告されていない。このため、アユから分離された冷水病菌を用い、各種の方法によりアユに対する病原性を検討した。

### 材料および方法

**供試菌株** 1992年4月に養殖アユの腎臓から分離された冷水菌株(92F 1-0423株, 以下A株と称す), A株を一度魚体通過させた株(92F 1-0608株, 以下A'株と称す)および1992年6月に養殖アユの鰓蓋下部出血部から分離された冷水菌株(92F 4-0626株, 以下B株と称す)を使用した。

**病原性試験 (1) 腹腔内接種** A株を馬血清10%加改良サイトファーガ寒天培地で3日間培養し、0.85%滅菌生理食塩水で所定の濃度に希釈した菌液を、アユ(平均体重15g)の腹腔内に0.1mlずつ接種した。1尾当りの接種菌数は $10^6$  cells,  $10^5$  cells,  $10^3$  cells,  $10^1$  cellsの4段階で、各10尾を用い90ℓアクリル水槽にそれぞれ収容した。換水率は0.7回/時とし、無給餌で38日間(1992年5月23日~6月29日)飼育した。飼育水温は13.8~15.0°Cであった。

(2) **同居感染** 同居感染は菌を接種した魚と別の魚を同一水槽に収容して行った。用いた菌株はA, A', Bの3株で、各株とも1尾当り $10^7$  cellsを(1)と同様にして腹腔内に接種した。供試魚は平均体重11gのアユで、菌接種魚(識別のため脂鱗切除), 同居魚ともに各10尾とし、90ℓアクリル水槽に収容し14日間(1993年7月6日~19日)飼育した。換水率は0.9回/時とし、飼育水温は17.8~18.8°Cであった。

(3) **排泄菌による攻撃** A', B株を用い、ともに1尾当り $10^8$  cellsを(1)と同様にしてアユ(平均体重9g)の腹腔内に接種した。尾数は各10尾として70ℓアクリル水槽に収容し、この水槽の排水をアユ20尾(平均体重9g)を収容した別の90ℓアクリル水槽に注水した。換水率は0.2~0.3回/時とし24日間(1993年6月3日~26日)飼育した。飼育水温は菌接種魚水槽で16.6~20.0°C, 排泄菌添加水槽で17.2~19.3°Cであった。

(4) **菌浴攻撃** A株を改良サイトファーガブイオンで2日または3日間培養し、飼育水で所定の濃度に希釈して菌液を作製した。菌液の濃度は $10^6$  cells と  $10^5$  cells / ml とし、アユ(平均体重20g)を10尾ずつ10分間浸漬し、90ℓアクリル水槽に収容した。換水率は0.8回/時とし23日間(1993年8月25日~9月16日)飼育した。給餌は11日目までは無給餌とし、以後は日間給餌率1%で行った。菌浴中の水温は20.3~20.7°C, 菌浴後の飼育水温は18.8~20.1°Cであった。

## 結 果

**腹腔内接種** 腹腔内接種後のへい死率の変化を図1に示した。 $10^6$ cells接種区では、接種後4日目からへい死が始まり、9日目には60%のへい死率を示した。へい死魚は鰓や肝臓の貧血、腹腔内出血および胃の膨満を伴うことが多く、脱鱗や接種部位の穴あき症状もみられた。 $10^5$ cells以下では、接種後8日目以降からへい死が始まり、へい死率は接種菌数の多い順に20、50、30%であった。へい死魚は脱鱗や体の穴あき症状を示すことが多く、背部の潰瘍、鰓や肝臓の貧血および接種部位の穴あき症状もみられた。

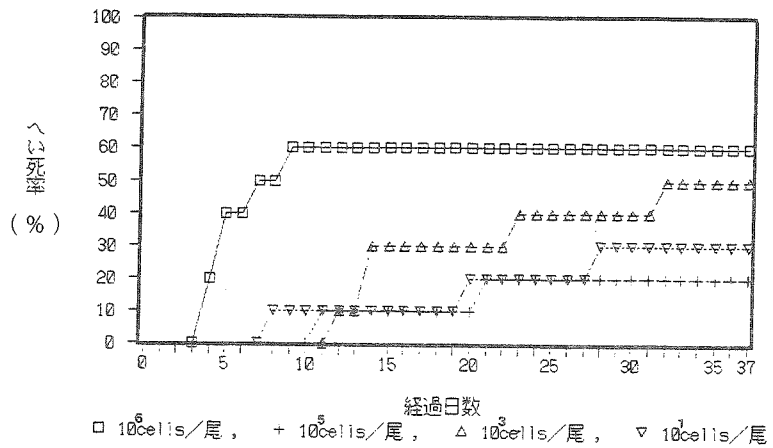


図1 冷水病菌株の腹腔内接種による病原性

なお、各区のへい死魚からは供試菌が再分離でき、生残魚の一部からも供試菌が再分離された。

**同居感染** 同居魚はいずれの菌株でもへい死はみられなかったが、終了時には表1に示したように背部の潰瘍や体の穴あき症状がみられ、患部から供試菌が再分離できることが多かった。

表1 同居感染の終了時における同居魚の症状

菌株	尾数	背部の潰瘍	体の穴あき
A	10(2)* <sup>1</sup>	1(0)* <sup>2</sup>	1(1)
A'	10(4)	4(4)	1(1)
B	10(2)	2(1)	0

\* ( )は症状がみられた尾数

\*<sup>2</sup> 尾数, ( )は供試菌が分離された尾数

なお、比較のために行ったビブリオ病原菌である *Vibrio anguillarum* の場合は、1尾当り  $10^3$  cells の腹腔内接種で接種魚 (10尾) は4日目までにすべてへい死し、同居魚 (10尾) も30%がへい死した。

**排泄菌による攻撃** 排泄菌添加水槽でのへい死は攻撃後13日目にB株で1尾あり、へい死魚には鰓や肝臓の貧血、背部の潰瘍、吻の欠損等の症状がみられ、患部と腎臓から供試菌が再分離された。生残魚に背部の潰瘍や体の穴あき症状がみられることがあったが、患部は治癒の状態では菌は分離されなかった。

**菌浴攻撃**  $10^5$  cells 菌浴区で攻撃後8日目にへい死が1尾あり、肝臓の貧血、咽峡部の部分欠損がみられ、患部および肝臓から供試菌が再分離できた。生残魚は表2に示したように、尾鰭のびらんまたは潰瘍や脱鱗がみられた。そこから供試菌が再分離されることが多かったが、腎臓や肝臓からは再分離できなかった。

以上、養殖アユから分離された冷水病菌のアユに対する病原性について、腹腔内接種、同居感染、排泄菌による攻撃および菌浴攻撃の4種類の方法により検討した。

腹腔内接種は腎臓からの分離菌 (A 株) を用いて行い、1尾当り $10^1 \sim 10^6$  cells の接種で20~60%のへい死率があり、へい死魚には冷水病の特徴\*である鰓や肝臓の貧血、体の穴あき症状等がみられ、病原性が認められた。同居感染は、A 株の他にA 株を一度魚体通過させた株 (A' 株) と鰓蓋病変部からの分離菌 (B 株) の3株を用いて行ったが、へい死はいずれも全くみられなかった。また、A'、B 株を用いた

排泄菌による攻撃とA 株を用いた菌浴攻撃では、へい死率は各5%と10%でありへい死魚には同様な症状がみられた。なお、これらの生残魚の一部には、同居感染の場合を含め冷水病の症状がみられた。

次に、同居感染と排泄菌による攻撃における菌接種魚のへい死状況を参考までにみると、へい死率は、同居感染ではA 株70%、A' 株30%、B 株50%であり、へい死魚にはいずれも総体に冷水病の症状がみられた (図2)。さらに、これと腹腔内接種の状況とを合わせて、供試菌株間のへい死率を比較すると、A 株は1尾当り $10^7$ 、 $10^6$  cells の接種で70%と60%、A' 株は $10^8$ 、 $10^7$  cells でともに30%、またB 株は $10^8$ 、 $10^7$  cells で50%と80%であった。これからみると、A 株とB 株の病原性はあまり差はないようであるが、A 株を一度魚体通過させたA' 株はそれよりも弱かった。

また、冷水病菌と *V. anguillarum* の病原性を同居感染により比較したところ、病原性は冷水病菌の方が明らかに弱かった。

表2 菌浴法の終了時における生残魚の症状

菌液濃度 (cells / ml)	尾 数	尾鰭のびらん または潰瘍	脱 鱗
$10^6$	10(3)* <sup>2</sup>	2(1)* <sup>3</sup>	1(0)
$10^6$	10(5)	1(0)	4(2)
$10^5$	9(3)	3(3)	0

\* 飼育水に食塩1%添加

\*<sup>2</sup> ( ) は症状がみられた尾数

\*<sup>3</sup> 尾数, ( ) は供試菌が分離された尾数

## 文 献

- 1) 宇野悦央, 辻村明夫, 見奈美輝彦: 魚類防疫対策. 平成4年度和歌山県内水面漁業センター事業報告, 27-28 (1994)
- 2) 宇野悦央, 辻村明夫, 見奈美輝彦: 魚病対策指導. 平成3年度和歌山県内水面漁業センター事業報告, 33-34 (1993)
- 3) 若林久嗣, 堀内三津幸, 文谷俊雄, 星合愿一: 日本で発生したギンザケ稚魚の冷水病. 魚病研究, 26, 211-212 (1991)

\* 若林久嗣, 沢田健蔵: 平成4年度日本魚病学会春期大会講演要旨, p.5 (1992)

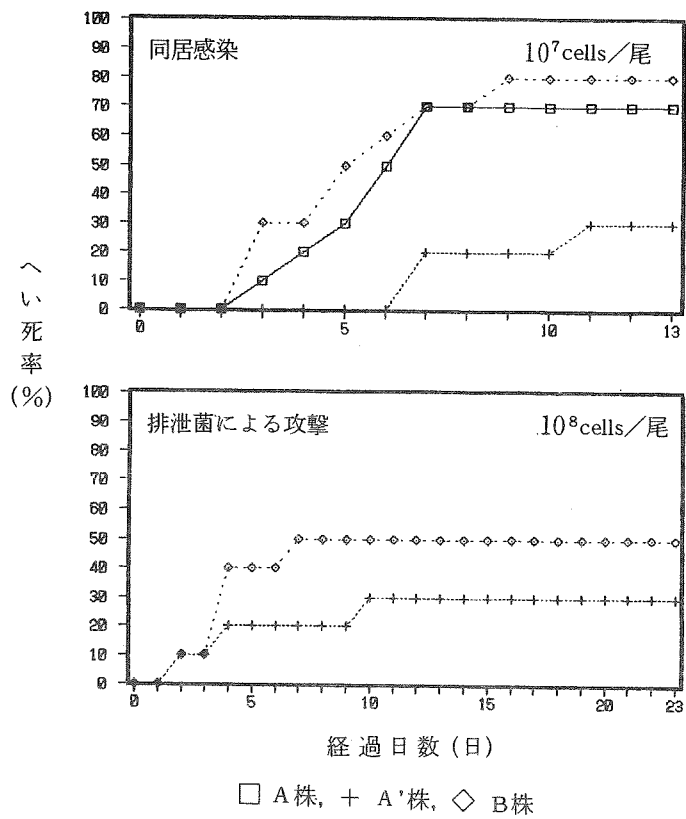


図2 同居感染および排泄菌による攻撃における菌接種魚のへい死状況