

1 4) アユ冷水病発生水槽中の冷水病菌の消長

金辻宏明・遠藤 誠

【目的】 これまでに我々は冷水病原菌*Flavobacterium psychrophilum*の培養菌を間接蛍光抗体法で検出する方法および冷水病が発生しているアユ飼育水槽水中の菌数測定法を開発した。そこで本研究では冷水病被害の対策を確立する一環として、間接蛍光抗体法で冷水病を発生させた水槽内冷水病菌数の消長について検討した。

【方法】 供試魚には平均体重2.8gの冷水病経験のない湖産アユ200尾を用い、90×45×45cmの亚克力水槽で地下水(17.5℃)を通水(約0.5/min:5回転/day)して飼育した。冷水病は本病と診断されたアユの-85℃凍結保存魚(平均0.66g×5尾)を3dayの間投入して発生させた。つぎに冷水病を発生させたアユ飼育水槽水中の冷水病菌を凍結病魚投入直後から21day後まで毎日サンプリングし、ポリカーボネートフィルターを用いた間接蛍光抗体法で冷水病菌の菌数を測定した。また、実験期間中は死亡魚数を計数するとともに冷水病菌体の形態変化についても観察した。

【結果】 冷水病菌の形態変化について観察した結果は図1に示した。投入24h後は菌体表面にいぼ状または突起状のものが認められたが、2day目はその形態を呈する菌は減少し、3day後以降はすべての菌体で表面が滑面となっていた。この形態変化は、Kondoら^{文献)}が分離菌の培養時間によって生じると報告しているが、本研究の結果から凍結病魚を投入した場合(自然発生とする)でも同様の菌体変化をする可能性が示唆された。この形態変化と病原性の関係は今後検討する必要があると考えられた。次に冷水病を発生させたアユ飼育水槽内の冷水病菌の消長を調べた結果を図2に示した。同様の実験を2回繰り返して調べたところ、その菌数は1回目の結果(図2A)では凍結病魚を投入して3dayの間に6,800cells/mlに増加し、病魚を除去すると5day後には217cells/mlにまで減少した。またアユの死亡は9day後から認められ、菌数も同様に9day後から増加し、その後4dayの間は菌量が多かった。増加のピークは11day後で74,100cells/mlと測定され、2回目の実験(図2B)時と比較するとピークはほぼ同一の傾向を示したが、ピーク時菌量は2,360cells/mlと大きく異なっていた。ピーク時の菌量と最終累積死亡尾数との間には正の相関はなく、その病原性が菌数のみで規定されるかどうかは判断できなかった。このことは蛍光抗体法で感染力のない死菌についてもカウントしている可能性もあることから本病発生水を用いて規定菌量、規定時間でアユを攻撃したときの病原性を調べる必要がある。さらに冷水病による死亡が認められる期間開始3~5dayの間は排菌量は多いが、その後排菌量が低下すると死亡が終息する21day後まで菌量は非常に低位であった。このことは死亡期間前期に死亡するアユと後期に死亡するアユで死因に違いがある可能性も考えられた。以上のことから、凍結病魚を用いて冷水病を発生させる場合、実験ごとに菌量は異なるものの、一定の時期に菌量のピークがあり、死亡期間後期には菌量が非常に低位になることが明らかとなった。

文献) M. Kondo, K. Kawai, K. Yagyu, K. Nakayama, K. Kurohara and S. Oshima: Changes in the Cell Structure of *Flavobacterium psychrophilum* with Length of Culture, *Microbiol. Immunol.*, **45** (12), 813-818 (2001).

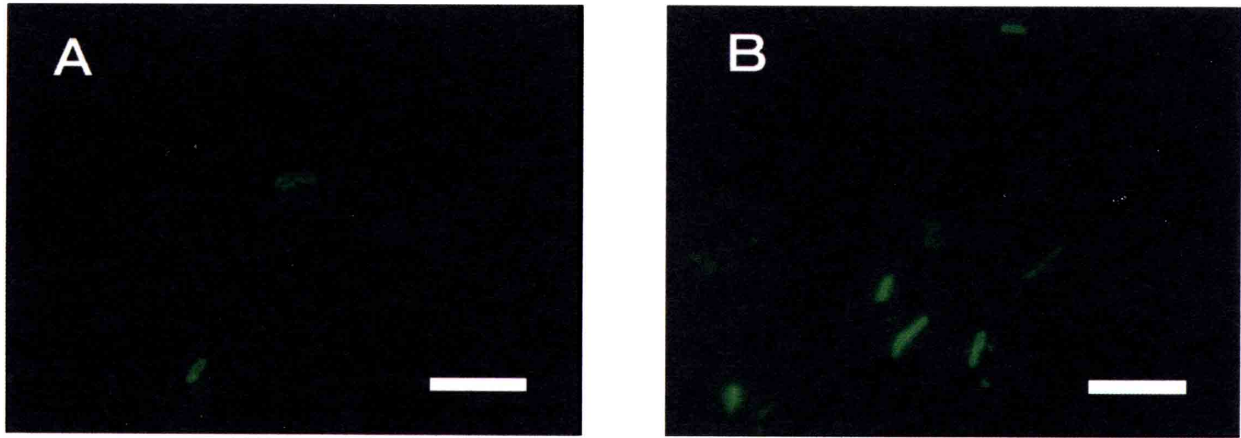


図1 間接蛍光抗体法による冷水病発病水槽水中の菌体蛍光像
 A: 凍結病死魚投入24h後. B: 凍結病死魚投入3日後. Bar: 10 μ m.

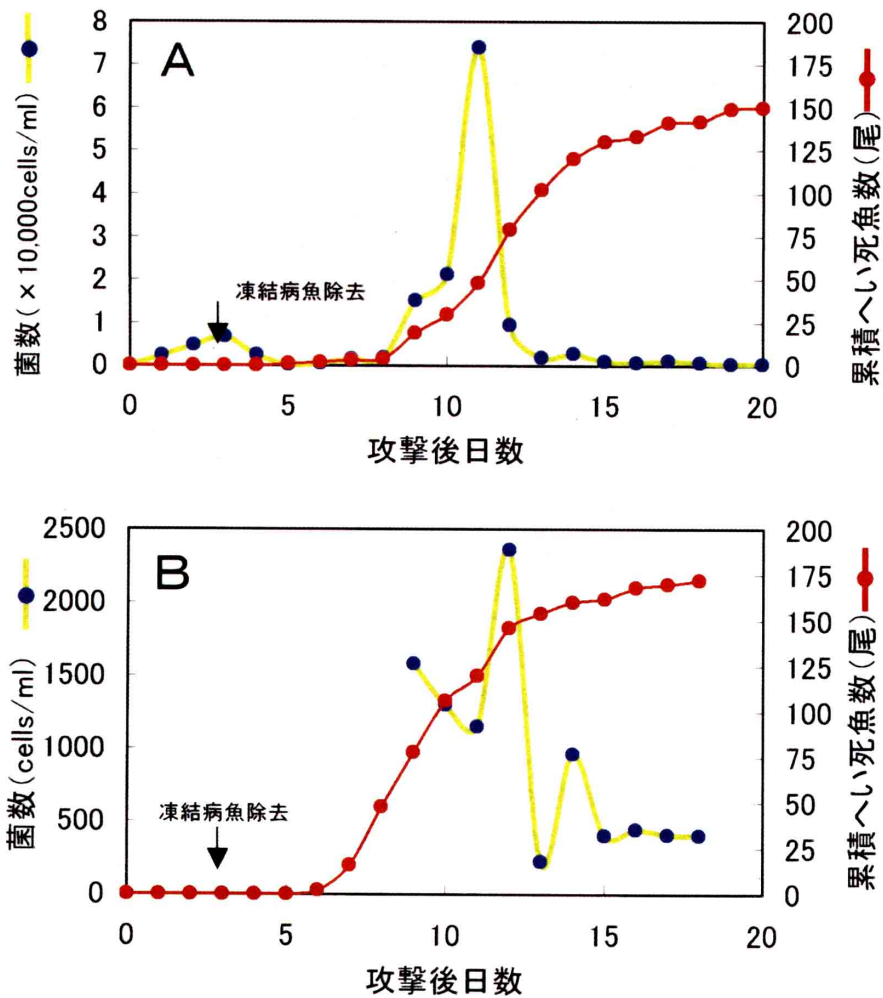


図2 間接蛍光抗体法による冷水病発生水槽水中の菌数変化と累積へい死率
 A: 冷水病菌が多く検出された事例. B: 冷水病菌の検出が少なかった事例.