

28) 培養菌攻撃と加温処理を併用した人工感染耐過魚の作出と 冷水病に対する抗病性

金辻宏明・二宮浩司・山本充孝・遠藤 誠

【目的】 これまでに我々は冷水病菌*Flavobacterium psychrophilum*の培養濃度が 2×10^7 CFU/ml以上で浸漬して生残したアユの再感染死亡率が通常攻撃耐過魚と同程度で、80%近くが生残することを明らかにした。しかし、培養菌浸漬による初期減耗は60%程度と高いことが明らかとなった。そこで本研究ではアユを培養菌浸漬したのち加温処理を併用することによって、抗病性を維持しつつ初期減耗が軽減されるかどうかについて検討した。

【方法】 供試魚には11月に琵琶湖で採捕され、冷水病経験のない平均体重3.7gの湖産アユを用いた。用いた供試菌株(SG990302株)および培養方法は前報¹⁾と同様とした。供試魚を培養液に浸漬攻撃後、加温処理の生残性におよぼす影響を図1の実験区およびスケジュールにしたがって以下のようにして調べた。実験区は2回攻撃加温区、1回攻撃加温区および1回攻撃無加温区の3区を設定した。攻撃は前述¹⁾と同様に培養液(1×10^8 CFU/ml)に15min浸漬して行った。加温処理は水温を約1°C/hの速度で23.5または27.5°Cまで上昇させ、3dayの間の水温維持したのち、約2°C/hの速度で地下水を注水して地下水温(18.6°C)まで冷却した。2回攻撃加温区は23.5°Cの加温終了1day後に2回目の攻撃を初回と同様にして行った。なお実験開始21day後までの生残状況およびAM9:00の水温を記録した。また21day後、生残魚の血清を採取し、凝集抗体価をマイクロタイター法で測定した。次に培養菌攻撃と加温を組み合わせて生残した耐過魚を冷水病発生飼育水導入法²⁾による攻撃(通常攻撃)で再感染性を次に示すようにして調べた。供試魚には上記試験で生残した魚を2回攻撃加温耐過区、1回攻撃加温耐過区、1回攻撃非加温区、全く無処理の非耐過無処理魚区およびFKC注射ワクチン処理21day後の魚を各区25尾用いた。再感染は通常攻撃³⁾で行い攻撃開始後21dayの間の死亡状況を調べた。

【結果】 供試魚を培養液に浸漬後、加温処理の生残性におよぼす影響を調べた結果を図1に示した。すなわち2および1回攻撃加温区は加温途中で僅かに死亡が認められたものの最終生残率は90.0および92.8%で、加温を行わない攻撃無加温区の39.2%を大きく上回った。このことは培養菌で生じる感染も加温処理によって治療可能であることを示唆している。次に2および1回攻撃区および1回攻撃無加温区の血清中の凝集抗体価の測定結果を表1に示した。各区でそれぞれ2.2、2.2および1.4とほとんど抗体価は上昇しなかった。つぎに培養菌攻撃と加温を組み合わせて生残した耐過魚を冷水病発生飼育水導入法による攻撃(通常攻撃)で再感染性を調べた結果を図2に示した。すなわち最終生残率は2回攻撃加温区で67.3%と非常に高い生残性を示し、FKC注射ワクチン接種魚の34.6%を大きく上回る結果であった。1回攻撃無加温耐過区で73.1%、その他の区では無処理魚とほぼ同じ7.1~9.1%の生残率であった。ゆえに培養菌浸漬による死亡は加温によって阻止可能で、さらに攻撃を2回行うことによってその後の抗病性は高位に維持されることが明らかとなった。また、その抗病性は血中抗体価が加温の有無にかかわらず高かったことから、凝集に関与する特異抗体以外の別の抗病性を発揮する要因の存在が示唆された。以上のことから、本技術によって冷水病対策は技術的に可能であると推察された。しかしながら、本法は培養菌の浸漬行為が伴うため、菌株の弱毒化を行って生ワクチンとする必要性があり、さらには対策を施したアユが冷水病菌を排菌するか、また水平感染を起こすかどうかについての詳細な検討が必要で、実用化は困難であると判断された。

-
- 文献 1) 金辻宏明：冷水病菌体を用いた免疫原性強化ワクチン作製方法の検討，平成14年度滋賀水試事報，in press (2003).
2) 金辻宏明：培養菌および冷水病発生飼育水導入法によるアユ冷水病攻撃における死亡魚の病徴の比較，平成14年度滋賀水試事報，in press (2003).
3) 金辻宏明：ハプテン化および免疫原性強化した冷水病菌体ワクチンの有効性，平成14年度滋賀水試事報，in press (2003).

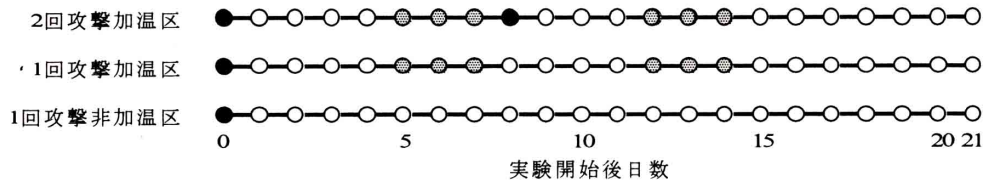


図1 攻撃および加温の実験区およびスケジュール

●: 攻撃, ⊙: 加温, ○: 通常飼育

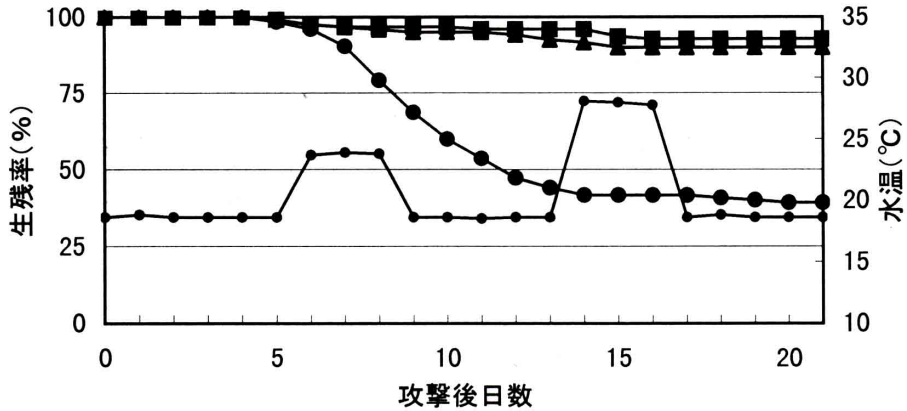


図2. 冷水病培養菌で攻撃後、加温処置を行ったときのアユの生存率と水温.

-▲-: 2回攻撃・加温区, -■-: 1回攻撃加温区, -●-: 1回攻撃無加温区,
-○-: 加温区の水溫.

表1 培養菌攻撃で生残したアユの血中凝集抗体価

	加温区		非加温区
	2回攻撃区	1回攻撃区	1回攻撃区
凝集抗体価(1:)*	2.2	2.2	1.4

※: 凝集抗体価は5個体の幾何平均値.

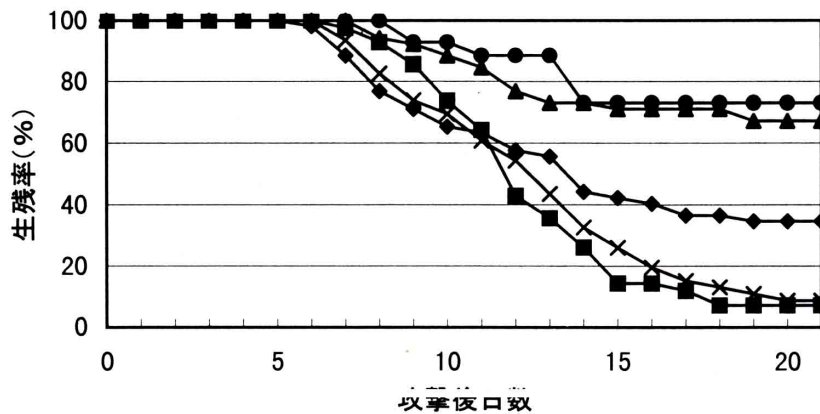


図3. 冷水病培養菌で攻撃・加温処置で耐過したアユの通常法による再感染における生存率の推移.

-▲-: 2回攻撃・加温耐過魚区, -■-: 1回攻撃・加温耐過魚区,
-●-: 攻撃無加温耐過魚区, -×-: 非耐過無処理魚,
-◆-: FKCVワクチン接種魚.