

29) 培養菌攻撃と加温処理を併用して作出した 人工感染耐過魚の飼育水の感染能

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*の培養菌液にアユを浸漬したアユが冷水病に対し非常に高い抗病性を有し、培養液浸漬後の歩留まりを加温処理によって向上させる方法を開発した。しかし、この冷水病抗病性アユは一度冷水病に罹患させることから排菌の有無が問題となる。そこで、本研究では冷水病に抗病性を示すアユが排菌、水平感染をおこす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。供試菌には*F. psychrophilum* SG990302株を用いた。培養は供試菌を改変サイトファーガ液体培地を用いて15°Cの条件で行った。次に、供試魚を培養液に浸漬し、図1のスケジュールにしたがって攻撃および加温を行った。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、培養液を 1×10^8 CFU/mlの菌濃度になるように地下水で希釈して10ℓ調製し、菌液に供試魚100尾を投入して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間の水温維持後約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。また、これら3区の飼育水を初回攻撃12day後(排水A)および20day後(排水B)にそれぞれ別水槽に導入し、健常アユをそれぞれ25尾投入して冷水病が発症するかどうかを観察した。なお、排水Aは2回目の加温処理が27.5°Cに達してから排水を健常アユ飼育水槽に導入した。

【結果】 供試魚を培養液に浸漬後、加温処理および非加温魚飼育水を健常アユ飼育水槽に導入し、その生残率を調べた結果を図2に示した。12day後の飼育水を導入した排水Aでは、2、1回攻撃加温区排水飼育アユに死亡は認められず、1回攻撃非加温区排水飼育アユで最終生残率が40%と死亡が多かった。20day後の排水Bでは1回攻撃非加温区排水飼育アユに僅かな死亡が認められ、最終生残率は95%であった。なお2、1回攻撃加温区排水飼育アユに死亡は認められなかった。またデータは示していないが試験終了時に生残していた両加温区の供試魚は保菌検査では冷水病菌は検出されず、終了2ヶ月後も冷水病は発生していない。排水Aを導入し、死亡魚が認められた1回攻撃非加温区排水飼育アユの死亡状態は図3の写真に示すとおりで、無症状で死亡するタイプと下顎部などが欠損するタイプが認められた。ゆえに本結果では培養菌浸漬魚を加温処理することによって死亡を引き起こす排菌はないと推察された(今後、実際の現場規模で再現性試験を行って排菌の有無を検討する必要がある)。また加温処理を行わないと、ある時期までは死亡を引き起こす排菌があると考えられ、さらに死亡魚のなかに下顎部欠損個体が含まれることからその病原性は魚体通過によって回復傾向にある可能性も示唆された。このことは冷水病菌で生ワクチンを開発する場合、生ワクチン処理魚から分離される冷水病菌の毒力、感染力回復の可能性が考えられ、病原性の変化を詳細にチェックする必要があることを示唆している。

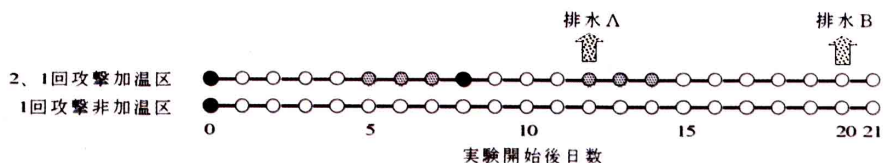


図1 攻撃および加温試験飼育排水導入スケジュール

●: 攻撃, ◐: 加温, ○: 通常飼育

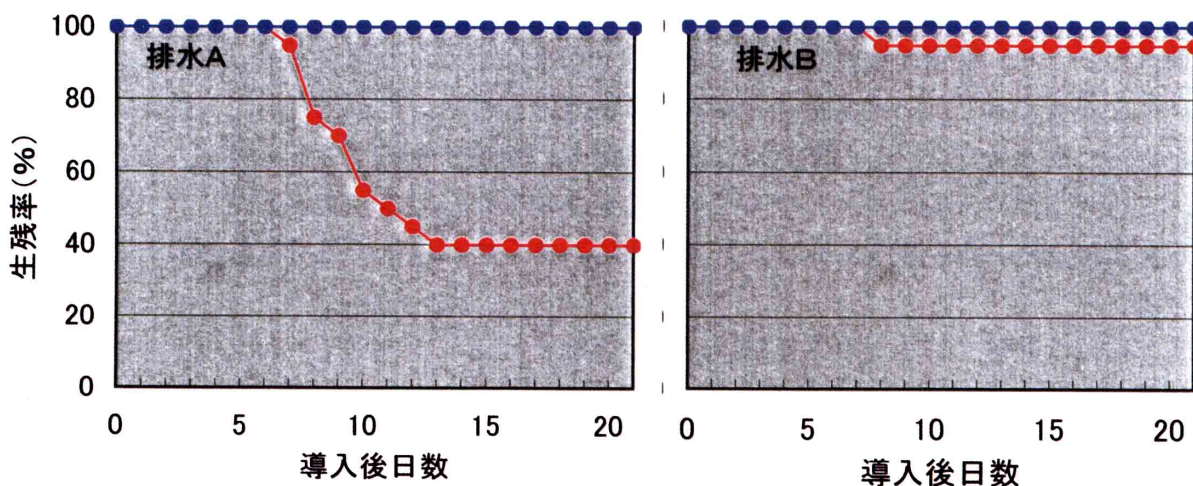


図2. 培養菌浸漬したアユの飼育排水を健常アユ飼育水槽に導入したときの生存率の推移.

A: 攻撃12日後(排水A)の排水, B: 攻撃20日後(排水B)の排水
 -●-: 2、1回攻撃加温区, -●-: 1回攻撃非加温区.

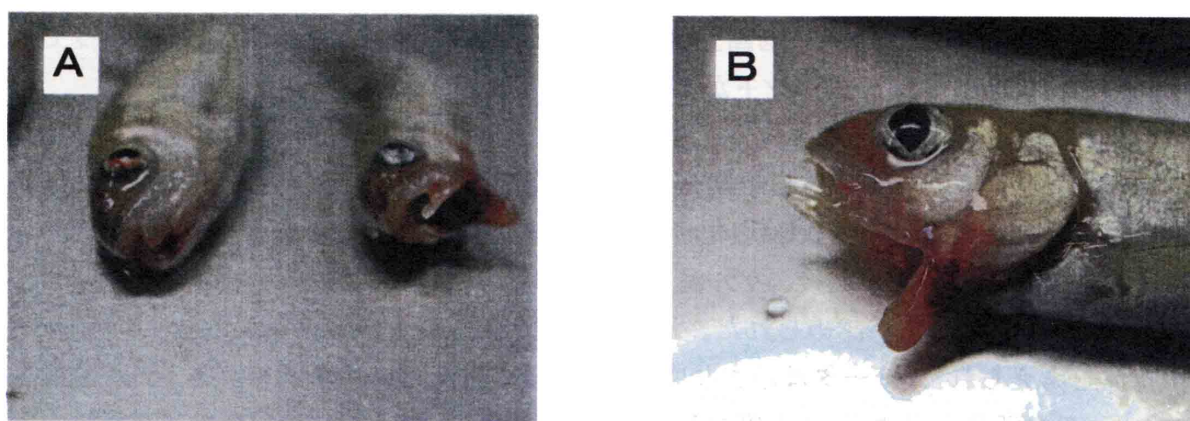


図3. 培養菌浸漬(非加温)12日後のアユ飼育排水導入による冷水病発病死亡魚写真.

A: 無症状死亡魚(左)と下顎部欠損魚, B: 下顎部欠損魚.