

アユの冷水病に対する加温処理の予防効果Ⅱ

酒井明久・二宮浩司・太田滋規・遠藤 誠

Efficacy of Elevated Water Temperature Treatment Against
the Bacterial Coldwater Disease in Ayu

Akihisa Sakai, Koji Ninomiya, Shigeki Ota, and Makoto Endo

Survival of *Flavobacterium psychrophilum*, causative agent of the bacterial coldwater disease in ayu *Plecoglossus altivelis*, was determined at 25°C and 30°C. This bacterium survived after 7 days in modified *Cytophaga* medium at 25°C, but died within 3 days at 30°C.

In order to prevent the bacterial coldwater disease, elevated water temperature treatment at 24-28°C were carried out on juvenile ayu. In the groups treated at 24-25°C, the disease occurred within 3 weeks after treatment. On the other hand, in the groups treated at 27-28°C, the disease did not occur.

Mass mortalities, caused by the treatment at about 25°C started 2-3 days in culture, occurred in the groups captured from winter to early spring. The treatment started 6 days in culture was able to reduce the mortality during the treatment period compared with the treatment started 2-3 days in culture.

キーワード：アユ，冷水病，加温処理，予防効果

アユ *Plecoglossus altivelis* の冷水病は、*Flavobacterium psychrophilum* を原因菌とする疾病¹⁾で、養殖用、放流用として利用されているアユ種苗に発生し、養殖業や内水面漁業に大きな被害を与えている。²⁾ 冷水病の治療には、飼育水温を数日間23°C以上に上昇させる加温処理が有効であることが報告されている。³⁾ ところが、加温処理による短時間の水温上昇が、アユの大量へい死を引き起こしたり、25°Cの加温処理を実施した後も冷水病が再発することが経験されている。⁴⁾ これらのことから、加温処理による冷水病予防対策は、技術的に十分とはいえない。このため本試験では、加温処理に伴うアユのへい死の特徴を明らかにするとともに、加温処理により水温を27°C以上にした場合の冷水病の予防効果を検討したので報告する。

試料と方法

加温処理の時期の検討 供試魚は1995年12月から1996年6月まで各月1回、琵琶湖でエリまたは沖曳網によって漁獲された7群のアユを用いた (Table 1)。漁獲されたアユは直ちに水産試験場に輸送し、水量

0.7 t の池にそれぞれ1.2~1.5kgずつ収容した。なお、漁獲アユの輸送と池への収容には、琵琶湖水との水温差を5°C以内に調整した地下水に、天然海水を原料とした塩 (商品名：白塩うず塩、鳴門塩業株式会社) を0.7%の濃度となるよう溶解したものを用いた。飼育池への注水は、地下水を収容した翌日から0.7 t / 日、2日目1.4 t / 日、3日目以降8.4 t / 日となるよう注入し、以降注水は8.4 t / 日とした。給餌は飼育2日目から市販配合飼料を与えはじめ、3日目以降は魚体重の1~3%量を与えた。実験期間中は毎日の飼育水温とアユのへい死魚数を記録し、収容数に対する1日のへい死魚数の割合 (日間へい死率) と加温処理期間中の累積へい死魚数の割合 (加温処理期間中のへい死率) を求めた。

飼育水の加温は、省エネ・チタン製海水加温冷却装置MCH-40T (宮原冷熱機工作所) を用いて行った。加温処理は開始時期の異なる2つの条件で行った。すなわち、処理Aは飼育開始時の注水時から約25°Cの処理水を注入して徐々に水温を上昇させ、2日目または3日目に25°C前後となるよう調整した。処理Bは飼育開始時の注水には19°Cの地下水を注入し、6日

Table 1. Conditions in elevated water temperature treatment of ayu

Group	Catch			Treatment		
	Date	W.T. ^{a1} (°C)	B.W. ^{a2} (g)	Date of period	Days of period	W.T. (°C)
1	5 Dec.	9.5	0.62 ± 0.317	(A) ^{a3} 7 Dec. - 11 Dec.	4	24.6 - 25.2
	"	"	"	(B) ^{a4} 11 Dec. - 15 Dec.	4	24.8 - 25.4
2	12 Jan.	8.6	0.33 ± 0.234	(A) 15 Jan. - 19 Jan.	4	25.2 - 26.0
	"	"	"	(B) 18 Jan. - 22 Jan.	4	25.6 - 26.1
3	8 Feb.	7.1	0.25 ± 0.133	(A) 11 Feb. - 15 Feb.	4	23.5 - 26.2
	"	"	"	(B) 14 Feb. - 18 Feb.	4	25.1 - 25.9
4	6 Mar.	4.7	0.25 ± 0.236	(A) 9 Mar. - 11 Mar.	2	25.9
	"	"	"	(B) 12 Mar. - 16 Mar.	4	25.1 - 25.4
5	22 Apr.	10.4	0.60 ± 0.377	(A) 25 Apr. - 29 Apr.	4	23.8 - 24.1
	"	"	"	(B) 28 Apr. - 2 May	4	23.8 - 24.2
6	29 May	19.0	0.80 ± 0.578	(A) 31 May - 5 June	5	24.1 - 24.4
	"	"	"	(B) 4 June - 13 June	9	24.0 - 27.8
7	27 June	22.1	3.94 ± 1.946	(A) 29 June - 3 July	4	24.6 - 25.0
	"	"	"	(B) 3 July - 9 July	6	24.4 - 26.9

^{a1} Surface water temperature of Lake Biwa when the fish were caught.

^{a2} Mean ± standard deviation in body weight.

^{a3} Treatment started 2 or 3 days in culture.

^{a4} Treatment started 6 days in culture.

目からは約25℃の処理水を注入した。2～9日間にわたり約25℃の加温処理を継続した後、再度19℃の地下水に切り替えた。実験に用いた7群の漁獲時の水温とアユのサイズ、処理AとBの条件をTable 1にまとめて示した。

原因菌の温度耐性 実験には1996年にアユから分離された冷水病原菌 *F. psychrophilum* 4株 (960509, 960523, 960613および960717) を用いた。これらの菌株をそれぞれ改変 *Cytophaga* 液体培地に懸濁させ、25℃および30℃で3～7日間培養した。生菌数を計数するため、培養開始後0、1、3、7日目に菌液を採集し、これの希釈液を作成した。これを改変 *Cytophaga* 寒天培地に塗抹した後15℃で培養し、コロニーを計数した。

加温処理による水温の違いと冷水病の予防効果 加温処理による水温の違いと冷水病の予防効果の関係を明らかにするため、以下の試験を行った。なお、供試魚の飼育方法は上記の「加温処理の時期の検討」と同様とした。

試験1 供試魚は1996年4月22日に琵琶湖で漁獲されたアユを用いた。飼育開始後6日目から約24℃の加温処理を4日間行った実験区 (24℃区) と、24℃区の加温処理4日目から約27℃の処理を3日間継続した実験区 (27℃区) で冷水病の発生状況を比較した。

試験2 供試魚は1996年6月27日に琵琶湖で漁獲されたアユを用いた。飼育開始後2日目から約25℃

の処理を4日間行った実験区 (25℃区) と、飼育開始後6日目から約25℃の処理を3日間の後、約27℃の処理を3日間行った実験区 (27℃区) で冷水病の発生状況を比較した。

試験3 供試魚は1997年5月27日に琵琶湖流入河川で漁獲されたアユを用いた。加温処理を実施せず約19℃で飼育した実験区 (未処理区) と、飼育開始後4日目から約28℃の加温処理を3日間行った実験区 (28℃区) で冷水病の発生状況を比較した。

各試験ともに加温処理終了後は19℃の地下水で飼育した。加温処理後3週間にわたり毎日のへい死魚数を記録し、加温処理終了時の収容数に対するへい死魚数の割合 (日間へい死率) を求めた。なお、改変 *Cytophaga* 寒天培地を用いて病魚の腎臓から細菌を分離し、冷水病原菌の有無を確認した。

結 果

加温処理の時期の検討 加温処理に伴うアユの急激なへい死は水温上昇時に起こり、水温が25℃に達して安定してからは少なかった。例えば、Group 5では処理Aにおいて水温が19.7℃から23.8℃上昇した4日目に、処理Bにおいて19.0℃から23.8℃に上昇した7日目にそれぞれ日間へい死率が78.3%と42.8%を示したが、これ以外に10%を超える日間へい死率はみられなかった (Fig.1)。漁獲時期の異なる7群では、加温処理期間中のへい死率に大きなバラツキが見られたが、Group 1以外は処理Aのへい死率が処理Bより有意に高かった (Fig.2)。また、漁獲時の水温が11℃以下、平均体重0.6g以下の群で加温処理期間中のへい死率が高かった (Fig.3, 4)。

原因菌の温度耐性 25℃の培養では、生菌数は培養時間の経過とともに減少傾向にあるが、7日後でもかなりの数が生存していた。一方、30℃の培養では生菌数は急激に減少し、4株中1株は2日目に、他の3株は3日目に死滅した (Fig.5)。

加温処理による水温の違いと冷水病の予防効果 飼育開始から加温処理終了までの飼育水温をFig.6、加温処理後のアユの日間へい死率の変化をFig.7に示した。試験1では、24℃区で加温処理後13日目頃から

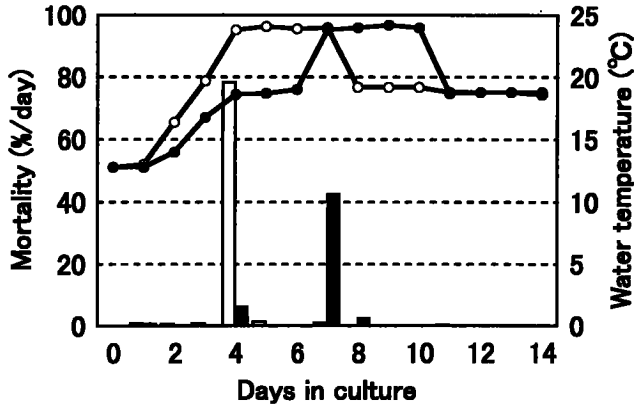


Fig.1 Changes in daily mortalities of cultured ayu in relation to water temperature of elevated water temperature treatment.
○, ●: Water temperature of the treatment A and B, respectively.
□, ■: Daily mortalities of cultured ayu on the treatment A and B, respectively.

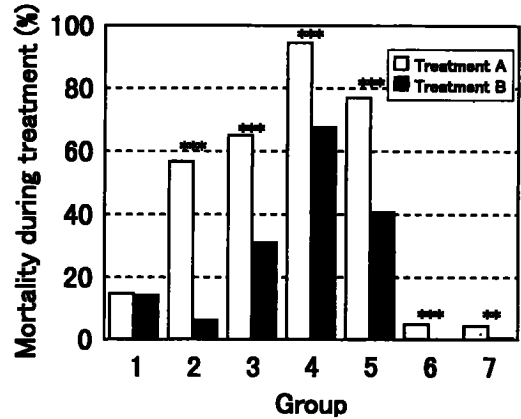


Fig.2 Mortalities during elevated water temperature treatment in cultured ayu.
**, *: Significantly different by χ^2 test at $p < 0.001$, $P < 0.01$, respectively.

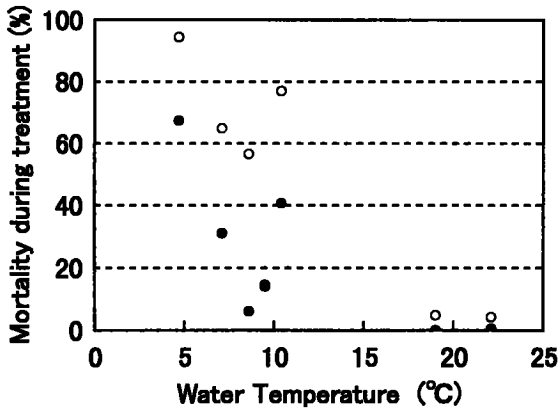


Fig.3 Relationships between mortality during elevated water temperature treatment of cultured ayu and surface water temperature of Lake Biwa when the fish were caught.
○: Treatment A, ●: Treatment B

冷水病が発生し、日間へい死率が急激に増加した。17日目以降の日間へい死率は約10%と高かった。一方、27℃区の日間へい死率は処理後17日目以降になって2%前後に増加したが、病魚から冷水病原因菌は検出されず、実験期間中に冷水病は発生しなかった。

試験2では、25℃区で加温処理後16日目頃から冷水病が発生し、日間へい死率が約2%に増加した。一方、27℃区の日間へい死率は実験期間を通じて0%で、冷水病は発生しなかった。

試験3では、未処理区で飼育開始直後から冷水病が発生し、日間へい死率は9日目に約13%でピークに達した後、5日間で1%未満に減少した。一方、28℃区の日間へい死率は実験期間を通じて0.1%以下で、この間に冷水病は発生しなかった。

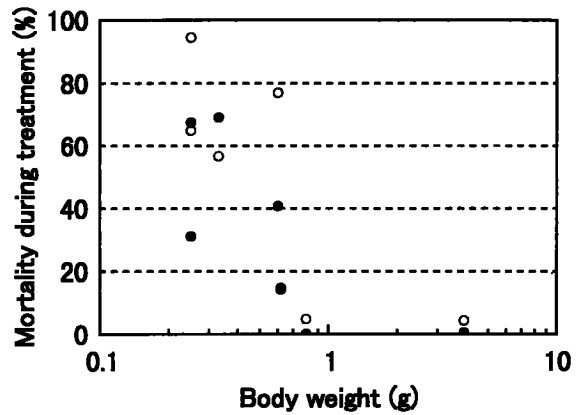


Fig.4 Relationships between mortality during elevated water temperature treatment of cultured ayu and mean body weight when the fish were caught.
○: Treatment A, ●: Treatment B

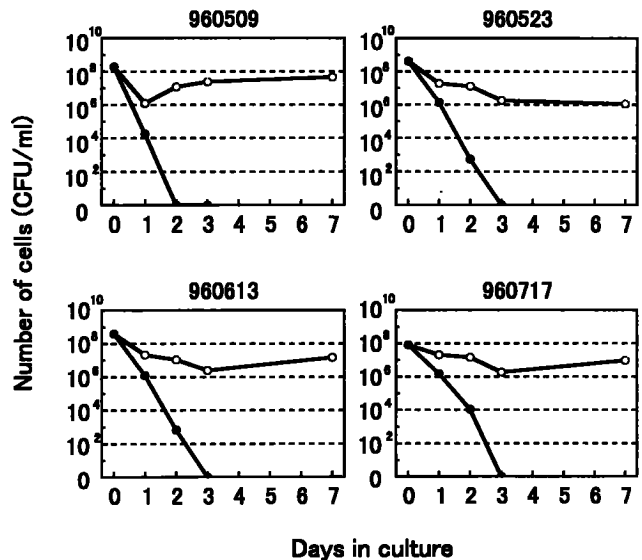


Fig.5 Changes in number of *F. psychrophilum* (960509, 960523, 960613 and 960717) in the modified *Cytophaga* medium at 25°C (○) and 30°C (●).

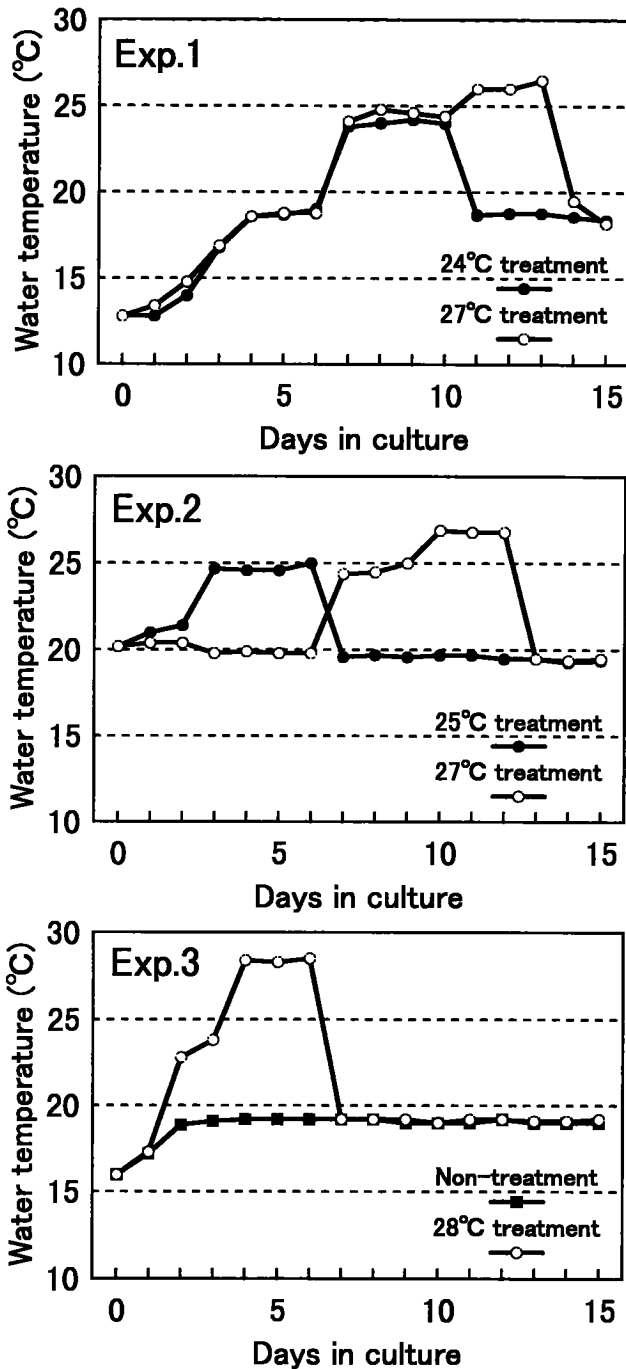


Fig.6 Changes in water temperature of elevated water temperature treatment in culture.

考 察

加温処理の時期の検討 漁獲アユに対して飼育開始後6日以内に実施する25℃数日間の加温処理は、アユのへい死率を大きく増加させることがあった。この現象は、琵琶湖の水温が低く、漁獲サイズが小さい4月以前の漁獲アユに起こることが多かった。アユのへい死は水温の上昇中に起こっていることから、この原

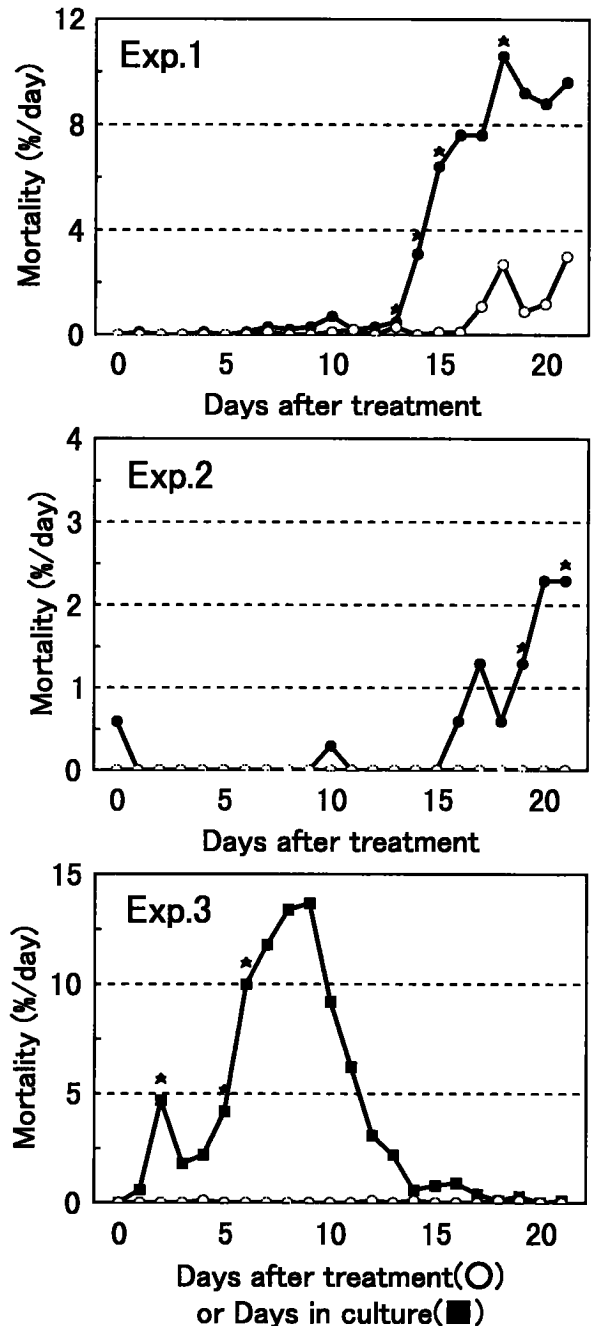


Fig.7 Changes in daily mortality in culture or after the treatment of cultured ayu.
★: *F. psychrophilum* were isolated from diseased ayu. The other symbols are the same as Fig.6.

因は急激な温度変化にともなうストレスと考えられる。

また、加温処理時のアユのへい死率は、漁獲後2～3日目に処理を開始したときより6日目に開始したときの方が低かった。

アユが飼育され始めるときは、漁獲、輸送、池への収容という短時間に大きな環境変化をともなう過程を経ることになり、この過程でアユはさまざまなストレスを受けている。飼育され始めたアユが平常状態に戻

るために必要な期間は明らかではないが、本試験で行った処理Aは、飼育開始2～3日目に25℃まで水温を上昇させており、漁獲から池への収容に至る過程で受けたストレスからアユが回復していない可能性がある。さらに、飼育開始から3日間は、漁獲時のストレス対策として0.7%に調整した飼育水の塩分濃度が注水に伴い低下する時期でもある。このような時期に急激な温度変化を与えたことが、6日目に加温処理を開始した処理Bより処理Aが高いへい死率をともなった原因と考えられる。

一方、異なる水温に馴致したアユ⁶⁾やブラウントラウト *Salmo trutta*⁷⁾の温度耐性を調べた実験では、低い水温に馴致していた魚の方が高水温に弱かった。琵琶湖の表層水温は時期的に変動し、1月～4月には10℃以下となる。⁸⁾ この時期の漁獲アユは、10℃以上の水温で馴致期間を持たない場合には、25℃の水温に対する耐性が低い可能性がある。

アユの温度耐性のサイズによる違いは明らかではないが、漁獲直後のへい死魚のサイズが生存魚より小さいことから(酒井、未発表)、小型魚が漁獲によるストレスに強く影響されたと考えられ、温度変化に対しても小型魚のほうが弱いのかもかもしれない。

これらのことから、漁獲後間もないアユに対して加温処理を行う場合には、漁獲された時の水温と漁獲サイズに注意する必要がある。特に、漁獲時の水温が10℃以下、平均体重が0.6g以下のアユに対しての加温処理は、25℃より低い水温で行うか、飼育開始後7日以上経過してから行うことが望ましい。

加温処理による水温の違いと冷水病の予防効果 冷水病原因菌 *F. psychrophilum*の発育は温度に大きく影響され、その至適温度は19℃前後とされている。⁹⁾ また、本菌の淡水中での生存性は、15℃では菌数が1日後に約1/10に減少した後ほぼ一定であるが、25℃では1日後に測定限界(10CFU/ml)以下になるという。¹⁰⁾ 培養液中での本菌の生存性を調べた今回の実験では、25℃では7日後でも菌数は減少するものの生存可能であるのに対し、30℃では3日以内に死滅した。

実験1と実験2において、24℃あるいは25℃の水温で4日間処理した区で処理後3週間以内に冷水病が発生した。一方、24℃および25℃の水温処理に続けて27℃3日間の処理をした区、および実験3の28℃3日間の処理をした区では、処理後21日以内に冷水

病が原因と思われるへい死は発生しなかった。

アユの体内に注射した冷水病原因菌の動態を調べた実験¹¹⁾では、飼育水温が10℃より25℃のほうが菌数の減少が多く、25℃では48時間後には鰓、腎臓および皮下の各部位で菌数が検出限界以下になったという。

ところが、本実験では25℃4日間の加温処理によって冷水病の予防はできなかった。また、冷水病を発病したアユに対して行われた25℃5日間の加温処理では、一時的な治療効果は認められるが再発を繰り返すことが観察されている。⁹⁾

すなわち、25℃4～5日間の加温処理では、冷水病に対する十分な予防・治療効果は期待できない。本研究における原因菌の温度耐性の実験で示されたように、25℃4～5日間の加温処理では、アユ体内の冷水病原因菌を減少させることはできるが、完全に排除することができないと考えられる。このため、加温処理終了後に本菌が増殖可能な水温でアユが飼育された場合には、ストレス等によりアユの生体防御能が低下すると再び菌数が増加して冷水病が発生すると考えられた。

一方、24～25℃から27℃に上昇させた6～7日間の加温処理、および28℃3日間の加温処理では冷水病の予防効果が高かった。この加温処理によってアユの体内から冷水病原因菌が排除されたかは明らかではないが、より高い水温下では菌数の減少速度が速いことから、25℃で処理した場合よりアユ体内の原因菌の菌数は少なくすることができ、冷水病の予防効果が持続したと考えられる。

以上のように、27℃以上の加温処理は冷水病の予防、治療に高い効果を持つことが明らかとなった。ただし、加温処理を実施する際には、以下の点に注意しなければならない。

前述のように、加温処理にともなう急激な水温変化は、アユのへい死を招く可能性がある。このため、琵琶湖の水温が低い時期に漁獲されたアユに対する加温処理は、一時的な冷水病予防措置として25℃未満で行うか、1週間以上経過してから行う方がよい。また、加温処理中は酸欠にならないよう爆気をするほか、カラムナリス病など細菌性疾病を引き起こすこともあるので¹²⁾慎重に行う必要がある。さらに、日照時間が短い時期の加温処理は、アユの性成熟を促進する可能性がある¹³⁾ので、電照などの成熟抑制措置が必要である。

摘 要

1. 冷水病原菌である *Flavobacterium psychrophilum* の培養液中での生存性を調べたところ、25℃では7日後にも生存していたが、30℃では3日以内に死滅した。
2. 冷水病の予防効果を水温の異なる加温処理について比較したところ、24～25℃ 4日間の加温処理では処理後3週間以内に冷水病が発生したが、27～28℃の加温処理では発生しなかった。
3. 琵琶湖の水温が低い時期に漁獲されたアユに対して飼育3日以内に25℃の加温処理を実施することは、昇温ストレスによる大量への死を引き起こす可能性がある。
4. したがって、冬から早春に漁獲されたアユに対する加温処理は、一時的な冷水病予防措置として25℃未満で行うか、1週間以上経過してから行う方がよい。

謝 辞

本研究を行うに当たり、有益なご助言をいただいた東京大学農学部若林久嗣教授に謝意を表す。

文 献

- 1) 若林久嗣 (1996) : サケ科魚類および淡水魚の細菌病, 魚病学概論 (室賀清邦・江草周三編), pp51-58, 恒星社厚生閣, 東京.
- 2) 井上 潔 (2000) : アユの冷水病, 海洋と生物, **22**(1), 35-38.
- 3) アユ冷水病対策研究会・水産庁 (1999) : アユ冷水病の現状と対策-上-, 養殖, **36**(8), 91-96.
- 4) 遠藤 誠・孝橋賢一・高橋 誓・岩崎治臣 (2001) : アユの冷水病に対する加温処理の予防効果 I, 滋賀県水産試験場研究報告, **48**, 1-4.
- 5) 福永 剛 (1996) : アユ冷水病の防疫技術に関する研究, 平成7年度魚病対策技術開発研究成果報告書, 日本水産資源保護協会, 東京, 175-181.
- 6) 岡部正也・西山 勝・佐伯 昭 (1999) : アユの高水温耐性系統作出技術の開発試験, 高知県内水面漁業センター事業報告書, **8**, 42-51.
- 7) Elliott, J. M. (1981): Some Aspects of Thermal Stress on Freshwater Teleosts, Stress and Fish (ed. by A. D. Pickering), pp.209-245, London and New York, Academic Press.
- 8) 太田豊三・森田 尚・里井晋一・二宮浩司・吉岡剛 (1998) : 琵琶湖定点定期観測 (平成7年度), 滋賀県水産試験場研究報告, **47**, 53-89.
- 9) Naim Uddin, Md. and H. Wakabayashi (1997): Effects of Temperature on Growth and Protease Production of *Cytophaga psychrophila*. *Fish Pathology*, **32**(4), 225-226.
- 10) 澤田健蔵・杉本善彦 (1998) : 冷水病菌の水中での生存性, 徳島県水産試験場事業報告 (平成8年度), p 186.
- 11) 馬久地隆幸 (1999) : アユ冷水病、特にその病原菌 *Cytophaga psychrophila* に関する研究, 平成10年度魚病対策技術開発研究成果報告書, 日本水産資源保護協会, 東京, 157-165.
- 12) Takahashi, S. and K. Ogawa (1997): Efficacy of Elevated Water Temperature Treatment of Ayu Infected with the Microsporidian *Glugea plecoglossi*. *Fish Pathology*, **32**(4), 193-198.
- 13) 高橋 誓 (1998) : 昇温処理によるアユの性成熟への影響について, 滋賀県水産試験場研究報告, **47**, 124-125.