

1. アユの重要性疾病予防対策試験費

1) 凍結病魚を用いた冷水病人為感染試験

山本充孝・二宮浩司

【目的】冷水病の人為感染においては注射法、浸漬法ともに安定的に死亡率、症状が再現できる方法が確立されていない。しかし、自然発病したアユから水を介して行う同居感染では安定的に自然発病と同様の状況を再現できることが知られている。そこで、アユを追加して常に病魚を維持しなければならない同居感染をより簡便に行うために凍結病魚を用いた人為感染方法を検討した。

【方法】

(1) 凍結病魚からの菌分離：冷水病死亡魚のうち新鮮なものを -30°C および -80°C で32日間(約1ヶ月)保存したものを解凍し、改変 *Cytophaga* 寒天培地を用いて鰓、尾鰭、患部、腎臓、脾臓からの細菌分離を試みた。培養温度は、鰓、尾鰭、患部は 5°C で、腎臓、脾臓は 15°C で行った。

(2) 凍結病魚を用いた冷水病人為感染試験：

①供試魚：冷水病発病歴のある魚群(試験1、平均体重 5.7g)とない魚群(試験2、平均体重 8g)を用いて2回行った。各区50尾の健康なアユを用い、試験1では対照区、病魚10尾区、病魚30尾区の3試験区、試験2では対照区、病魚10尾区、病魚50尾区、病魚10尾 \times 4回区の4試験区を設定した。

②飼育条件：水量を300Lに設定した500L円形FRP水槽に約 18°C の地下水を注水して流水飼育した。試験期間中の水温は、試験1は $18.4^{\circ}\text{C}\sim 19.0^{\circ}\text{C}$ 、試験2は $18.9^{\circ}\text{C}\sim 19.9^{\circ}\text{C}$ であった。

③病魚の添加方法：凍結病魚として冷水病発生中の飼育池の新鮮な死亡魚(魚体重約 2g)を -80°C で1ヶ月または2ヶ月保存したものをを用いた。病魚の添加は、約 2mm のメッシュの袋に病魚を入れ、それを池中に吊した。なお、試験1では、病魚は試験開始8日目に水カビが生えたため取り除き、試験2では、病魚10尾区と病魚50尾区の投入した病魚は試験開始5日目に取り除き、病魚10尾 \times 4回区は3日毎に病魚を取り替えた。

④死亡魚検査：新鮮な死亡魚に対しては検鏡を行うとともにハートインフュージョン寒天培地、改変 *Cytophaga* 培地にて細菌検査を行い冷水病による死亡かを判断した。

【結果】

凍結病魚からの菌分離：冷水病魚を -30°C および -80°C で凍結保存後、菌分離を行った結果および凍結保存を行わず検査した結果および外観上異常のないアユの保菌検査結果を表1に示した。どちらの温度で保存した場合にも冷水病菌は分離され、少なくとも1ヶ月の保存期間内であれば凍結病魚を用いた疾病検査が可能であることが示された。また、このことから凍結病魚を用い人為感染が不可能ではないことが示された。ただし、保存温度については、腎臓を除くすべての臓器で -80°C の陽性数が多く、また、ここには示さなかったが分離されたコロニー数も -80°C 保存の方が多いため保存温度は、 -80°C がより適当であると思われる。

凍結病魚を用いた冷水病人為感染試験：

試験1において凍結病魚を投入することにより冷水病を再現できた(表2、図1)。しかし、病魚10尾および30尾投入区ともに3週間後における死亡率は30%弱にとどまり死亡率は低かった。試験2では、凍結病魚を投入することにより80%程度の死亡率が得られ冷水病を再現できた(表3、図2)。死亡魚の投入方法による死亡率の差はあらわれなかったが、10尾投入区ではチョーチン病も併発したため死亡率が高くなったと思われる。50尾投入区と10尾 \times 4回投入区ではどちらも同程度の死亡率が得られた。試験1と比較して試験2の方が死亡率が高かったのは、試験2では冷水病発病歴のないアユを、試験1ではあるアユを用いたためと考えられる。発病歴のあるアユが冷水病に対して抵抗性を増強させている可能性が示唆される。

表 1. 凍結病魚からの冷水病菌分離

	鰓	尾鰭	腎臓	脾臓	患部
-30℃保存アユ	0/10	3/10	4/10	1/10	2/2
-80℃保存アユ	6/10	5/10	2/10	4/10	7/7
保菌検査	7/20	19/20	11/20	16/20	—
非凍結保存アユ	—	—	4/12	—	5/6

冷水病菌分離尾数/検査尾数

表 2. 凍結病魚を用いた冷水病人為感染試験結果-1

	対照区	病魚10尾区	病魚30尾区
收容尾数	50	53	49
死亡尾数	1	15	12
生残尾数	49	36	37
死亡率(%)	2.0	28.3	24.5

表 3. 凍結病魚を用いた冷水病人為感染試験結果-2

	対照区	病魚10尾区	病魚50尾区	病魚10尾 ×4回区
收容尾数	47	45	47	45
死亡数	0	34	41	37
生残尾数	47	11	6	8
死亡率(%)	0	75.6	87.2	82.2

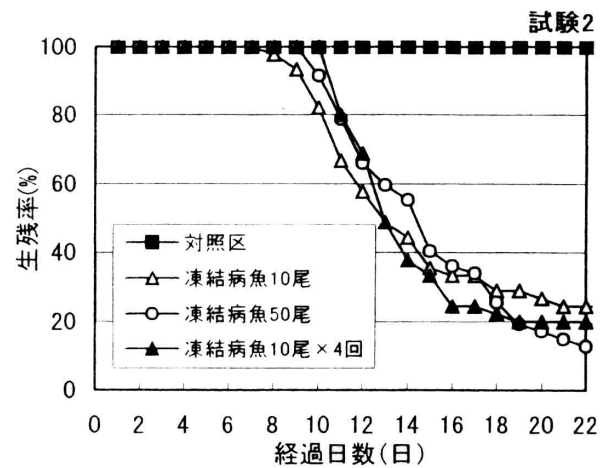
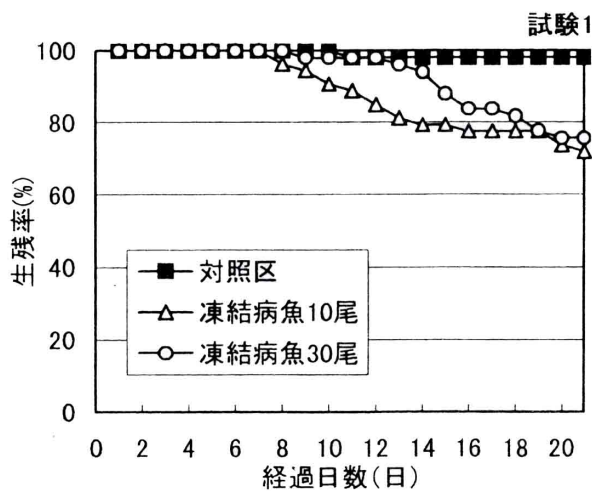


図 1. 凍結病魚による人為感染試験結果(試験 1) 図 2. 凍結病魚による人為感染試験結果(試験 2)