

エドワジェラ・イクタルリ菌体を投与したアユの免疫応答

金辻 宏明

1. 目的

本研究では本病の基礎的知見を収集する一環として、いくつかの方法でアユに本菌の死菌を投与し、その後に生菌で浸漬攻撃して、その後の死亡率について調べた。

2. 方法

供試菌には平成20年に本県河川で死亡したアユから分離されたエドワジェラ・イクタルリ冷凍保存菌株(SG080912A)を用い、培養はHI培地で24時間、25°Cで振とうして行った。投与用の死菌はホルマリン不活化菌液(FKC)およびアセトン乾燥菌体(ADC)の2種類を調製した。FKCは供試菌の24時間培養した培養液に0.3%量のホルマリンを添加して不活化させて調製した。ADCは培養菌を遠心して集菌し、アセトンを加えて脱水・不活化させる方法(金辻ら, 2006)*により調製した。供試魚は病歴のない、平均体重3.0gの琵琶湖産アユを用いた。投与試験区は浸漬区、注射区および経口投与区を設定し、各区にそれぞれ30尾を用いた。浸漬区はFKC原液を地下水で希釈した菌液(10^8 CFU/mL)にエアレーションしながら供試魚を60分間浸漬して行った。注射区はFKCとISA760アジュバント(Seppic社製)を3:7の割合で混合した乳濁菌液を供試魚の腹腔内に50 μ L (6×10^7 CFU/fish)注射接種した。経口投与区は、金辻らの方法(2006)と同様にしてADCを餌に添着させて経口投与した。また投与2週間後に再度ADCを投与した。次に、投与4週間後に免疫付与されるかどうかを、無処理対照区を加えて浸漬攻撃を行って評価した。攻撃は培養液を地下水で 10^8 CFU/mLに希釈した菌液に各区の供試魚を60分間浸漬して行った。攻撃後は60cm水槽(55L)で地下水を通水(17.5°C、65回転/日)して飼育し、生残率を調べた。

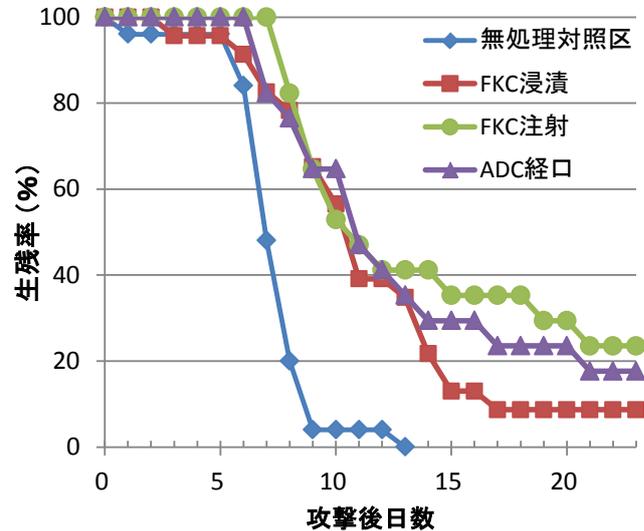


図1. エドワジェラ・イクタルリ死菌を投与したアユを培養菌で浸漬感染攻撃した時の生残率の推移。

3. 結果

浸漬区、注射区、経口投与区および無処理対照区の攻撃後の生残率を図1に示す。その結果、最終生残率はそれぞれ8.7、23.5、17.6および0%となり、注射区および経口区で無処理対照区と比較して有意($P < 0.05$, Fisherの直接確率計算法)に高かった。また、各区の生残魚の多くは体表に本病の症状である潰瘍を多数形成していた。

今回の菌体投与試験で感染強度の高い攻撃に対して生残率の上昇が認められたため、本菌に対する免疫を獲得できることが明らかとなった。しかし、対照区が攻撃13日後に全滅したことおよび各区の生残魚の多くは体表に多数の潰瘍を形成していたことから、感染強度が河川や養殖現場よりかなり高かったと考えられるため、さらに弱い感染強度での攻撃試験を行って、潰瘍の形成や生残魚の保菌率の消長を検討する必要がある。