

(3) アユ放流種苗の冷水病検査

海洋センターでは平成10年以降毎年、府内河川で放流される種苗の健苗性を確認するため、全てではありませんが、放流アユにおける冷水病菌の保菌状況を調べています。できるだけ新鮮なアユを検査する必要があること、また、検査の仕方を放流される漁協の方にも知っていただきたいという思いもあって、放流現場近くに臨時に場所を借りて検査をしています(写真3)。



写真3 現場での検査風景

冷水病菌に感染しているかどうかは、まず、先に述べました外観症状を観察し、次に解剖して内臓の様子を調べます。アユの消化管を開くと餌が出てくることがあります。輸送中の水質悪化はアユにとって大きなストレスとなり冷水病を発症させる要因ともなりますので、一般的には水質悪化を防ぐため輸送前には餌止めをするのが良いとされています。

冷水病菌の検出(分離といいます)は、アユの体表に傷があればその患部、細菌の付着しやすい鰓、細菌が体内にまん延している可能性があれば腎臓などの部位を対象にします。この菌はアユにとっては非常に恐ろしいのですが、通常の細菌分離に用いる培地には生えません。以前から冷水病菌用の培地はありましたが、一部の菌株は生えませんでした。そこで海洋センターではより多くの冷水病菌株が生育できるよう培地の改良を試みました。その結果、少量のトリプトン(たんぱく質の分解物)と酵母抽出物に牛胎児血清を加えた比較的単純な組成で冷水病菌が良く生えることを発見しました(※1)。これ以降、海洋センターではT Y F B Sと名付けたこの培地を冷水病の検査に使用しています。

魚体の検査部位のごく一部をこの培地に塗りつけます。やや低めの18°Cで、早ければ3日ぐらい培養すると冷水病菌は寒天上に透明で光沢のある濃黄色の特徴的なコロニー(菌の塊り)を作ります(写真4)。アユ体表の傷の部分には冷水病

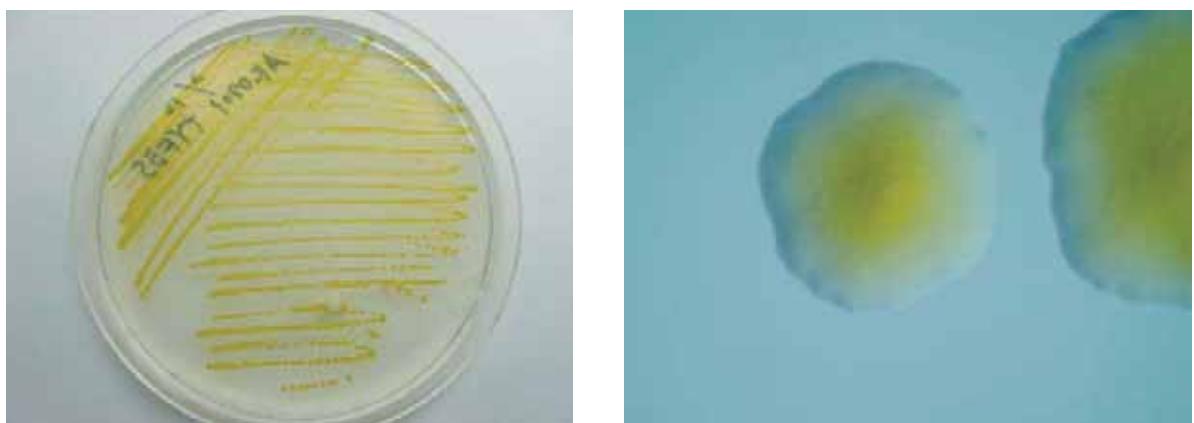


写真4 冷水病菌のコロニー

菌以外の菌も多数付着しています。T Y F B S 培地は冷水病菌専用というわけではありませんので、種々雑多なコロニーが出現します。その中から冷水病菌の

※1 海洋センター研報 第28号. p.33-37. 2006.

コロニーを探し、その一部を生理食塩水に懸濁して顕微鏡で見ると、長さ2~7μmほどの小さなマッチ棒の様な形をした菌が多数見えます(写真5)。

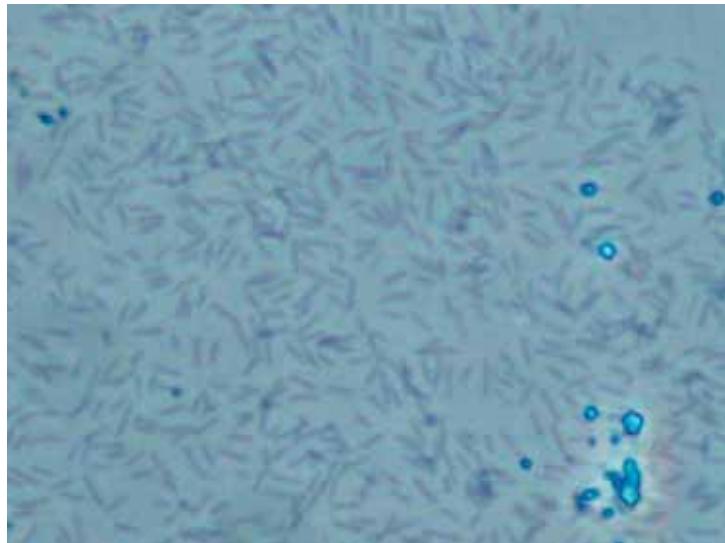


写真5 冷水病菌 フラボバクテリウム・サイクロフィラム
(*Flavobacterium psychrophilum*)

Flavobacterium という名称は黄色の小桿菌という意味で、黄色色素を産生する特徴を表しています。ちなみに *psychro-* は冷たいという意味で、この菌は25°C以上ではほとんど発育しません。

培地上のコロニーの色や形状の特徴と、細菌の顕微鏡観察で冷水病菌であることはほぼ推定できますが、海洋センターでは、コロニーから菌のDNAを抽出し、冷水病菌に特有のDNAの一部分を大量に増幅して検出するPCR法(ポリメラーゼ連鎖反応法)を用いて最終確定しています。

また、最近は培地による培養を省略して、魚体の組織(体表、鰓、腎臓など)に含まれる菌を直接検出することのできる感度の高いPCR法が開発されてきています。

府内で放流されるアユの冷水病菌保菌率の近年の推移を表1に示しました。毎年120~240尾の放流アユを1尾ずつ、先に述べました方法で検査しています。年ごとの保菌率(保菌魚/検査魚)は検査したアユ種苗の生産業者や飼育池の違いにより、2%から40%まで大きく変化していますが、平成20年を除けば最近の種苗は以前に比べて良くなっているという印象を持っています。

表1 アユ放流種苗の冷水病菌の保菌率の推移

	検査尾数	保菌率 %
平成 12 年度	200	24
平成 13 年度	140	40
平成 14 年度	235	17
平成 15 年度	240	30
平成 16 年度	204	24
平成 17 年度	140	38
平成 18 年度	180	8
平成 19 年度	164	2
平成 20 年度	140	40
平成 21 年度	120	15

※保菌率：保菌尾数 / 検査尾数