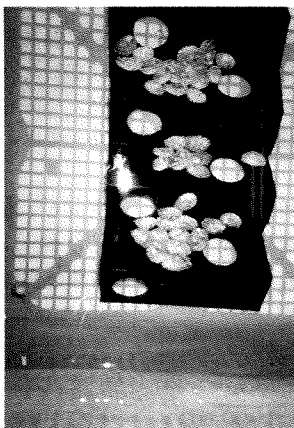


# クロアワビの「筋萎縮症」病原体の感染性と水温との関係

中津川 俊 雄



人為感染試験の結果からウイルス感染症である可能性が高い、クロアワビ稚貝の「筋萎縮症」の病原体については、加温処理による死亡抑制効果や病状の進行など、水温と感染性あるいは病原性との関連がこれまで指摘されてきた。そこで、今回、自然発症衰弱貝の磨砕濾液を25°Cの環境下に2、6および12時間おいて、健常稚貝に人為攻撃する試験を行った。その結果、先の報告と同様に、磨砕濾液による浸漬攻撃処置により人為感染は成立し、攻撃31~37日後以降の死亡貝には、組織学的に自然発症貝と同様の病変部が観察された。そして、磨砕濾液を25°Cの環境下に12時間おいた後でも感染性は失われなかった。

著者は、種苗生産されたクロアワビ *Nordotis discus* 稚貝の中間育成過程において大量死亡を引き起こす疾病、いわゆる「筋萎縮症（仮称）」に対する対症療法として加温処理による死亡抑制効果について報告した（中津川，1991）。その中で、飼育水温を19°Cから26°Cに急激に昇温させると、当初比較的症状の軽かった個体は26°Cという高水温下で症状の進行が抑制されたとした。また、海面中間育成中の稚貝における自然発生事例では、斃死数は水温が23°Cを越えると減少し始め、さらに水温が上昇するに伴って減少する傾向を示したとされた（中津川・畑井・窪田，1988）。さらに、本疾病の感染性についての報告（中津川，1990）の中でも、水温と人為感染稚貝の死亡数や病状の進行との関連を指摘している。人為感染試験の結果から、本疾病はウイルス感染症である可能性が高いと考えられているが、以上のような知見を踏まえ、本疾病病原体の病原性あるいは感染性と温度との関係をさらに詳しく調べる必要があった。

そこで、クロアワビ稚貝の自然発症衰弱貝の磨砕濾液を25°Cの環境下において、12時間後まで経時的に取り出して攻撃する試験を行ったところ、25°Cの環境下に12時間おいた後でも健常稚貝への感染性は失われないという結果を得たので、報告する。

## 材料および方法

感染試験には、本疾病に罹病していないと考えられるクロアワビ健常稚貝200個（平均殻長16.4mm）を用いて、1990年6月7日に人為感染試験を実施し、8月16日までの70日間供試貝を飼育した。試験区として1~4区を設け、1区は陽性対照区とし、2~4区は攻撃区とした。供試貝の数は各区とも50個とした。感染は以下のようにして行われ

た。攻撃液は、1990年5月8日に採取された自然発症衰弱稚貝の軟体部20gを10gづつ2つに分け、これに滅菌海水20mlを添加して磨砕し遠心分離(12,000rpm, 15°C, 30分間)の後、上澄を450nmのメンブレンフィルターで濾過し、その濾液12mlを6mlづつ2つ計4つに分けて作製された。この際、1区と4区用、そして2区と3区用の磨砕濾液は同一の磨砕液から作成された。2, 3および4区用の磨砕濾液を、予め25°Cのインキュベーター中に入れておいた滅菌海水1lにそれぞれ加え、攻撃液とした。攻撃液を再び25°Cのインキュベーターに収容し、2, 6および12時間後にそれぞれ2, 3および4区用の攻撃液をインキュベーターから取り出して、攻撃に供した。攻撃に先立ち、1時間攻撃液を飼育海水につけて温度を馴らした。攻撃は、供試貝50個を20分間この中に浸漬することによって行った。陽性対照区の1区の場合には、作成された磨砕濾液6mlを、予め飼育海水温に馴らしておいた滅菌海水1lに添加して、すぐに供試貝を攻撃した。

浸漬処置が行われた供試貝は、それぞれ塩ビ製波板をシェルターとして入れた網カゴ(36×36×23cm)に収容された。さらに、各区の網カゴを50×36×21cmのプラスチック水槽内に収容した。各水槽には換水率5~6回転/時間で濾過海水を流し、飼育期間中2~3日に1度水槽掃除と投餌を行った。餌には、市販のアワビ用配合飼料(日配ハリオスS)を用いた。水槽掃除の際には、供試貝の摂餌状況やシェルターへの付着状況を観察し、死亡貝がみられた場合には各区毎に死亡数を計数した。飼育期間中に軟体部が腐敗していない死亡貝が、1区で5個、2区で4個、3区で6個および4区で5個採取され、これらを10%中性ホルマリン水で固定して、その内各区で3個を病理組織観察に供した。また、供試貝が本疾病に罹病していないことを確認するため、供試貝5個を同様に10%中性ホルマリン水で固定し、その内3個を病理組織観察に供した。

10%中性ホルマリン水で固定された病理組織材料は、常法に従って組織切片とした後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検に供した。

なお、今回報告する試験では陰性対照区を設けなかったが、同一健康稚貝群を用いた別の感染試験においては陰性対照区を設けており、試験終了まで「筋萎縮症」の発生はなかった。

## 結果

**生残率** 飼育期間中の1, 2, 3および4区の生残率の変化をFig. 1に示した。いずれの試験区においても試験開始25日後以降残餌が増加し、摂餌が低下していることが明

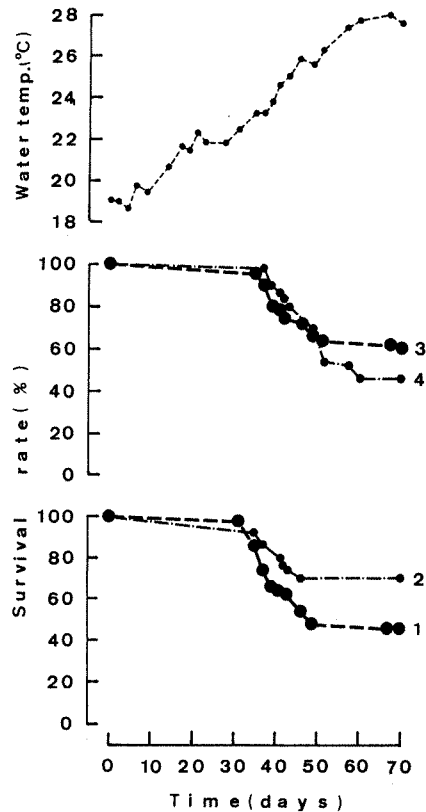


Fig. 1. Survival rates of the abalones and water temperature. 1 indicated a group exposed to a 450 nm filtrate of diseased abalone homogenate at the start. 2, 3 and 4 indicated the groups exposed to the filtrates stored in the incubator under constant temperature of 25°C for 2, 6 and 12 hours, respectively.

かとなった。1区では、31日後に死亡貝が1個みられ、シェルターから脱落した衰弱貝も1個観察された。その後死亡数が急増し、31~39日後の間に17個死亡した。41日後以降は死亡数が減少し、41~49日後の間に9個死亡した。51日後以降の死亡数は1個のみで、合計27個の死亡であった。試験終了時の生残数は23個で、生残率は46%であった。

2区では、35日後に死亡貝が4個みられ、衰弱貝も1個観察された。35~46日後の間に合計15個が死亡したが、以降死亡貝はみられなかった。試験終了時の生残数は35個で、生残率は70%であった。

3区では、35日後に死亡貝が2個見られ、衰弱貝も1個観察された。35~39日後の間に10個死亡した。それ以降は死亡数が減少し、41~49日後の間に8個の死亡があっ

た。51日後以降の死亡数は2個で、合計20個の死亡であった。試験終了時の生残数は30個で、生残率は60%であった。

4区では、37日後に死亡貝が1個みられ、衰弱貝も1個観察された。37～43日後の間に10個死亡し、49日後と51日後に合せて13個死亡した。57日後と60日後に合せて4個死亡したが、以降は死亡貝はみられず、合計27個の死亡であった。試験終了時の生残数は23個で、生残率は46%であった。

なお、飼育期間中の水温は、試験開始時には19℃であったが、試験開始43日後の7月20日以降は25℃を越え、51日後以降は26℃を越えていた。

**外観観察および病理組織所見** 各試験区の生残貝における貝殻の異状の有無を調べたところ、1区では23個の生残貝の内16個に貝殻辺縁部の欠刻あるいは着色がみられた。2区では35個の内17個に、3区では30個の内11個に、4区では23個の内13個に貝殻の外観異状が観察された。当然ながら、供試貝には貝殻の異状は全く認められなかった。

病理組織観察に供した1～4区の試験区の死亡貝各3個における所見は、以下のとおりであった。

1区の死亡貝では、いずれも足側神経幹に大きな病変部が形成され、内2個では鰓に病変部がみられた。また、足筋肉内末梢神経に病変部のみられた個体も1個あった。

2区の死亡貝の内2個では、足側神経幹あるいは神経幹の神経横連鎖に大きな病変部がみられた。他の1個では足筋肉内末梢神経に病変部がみられた。

3区では、足側神経幹、鰓あるいは筋肉内末梢神経にそれぞれ大きな病変部のみられる個体が1個ずつあった。

4区の死亡貝の内2個では、足筋肉内末梢神経および足側神経幹からの分枝部分に大きな病変部がみられた。他の1個では足側神経幹に病変部が2カ所みられ、足筋肉内末梢神経にも大きな病変部が観察された。

一方、病理組織観察に供された健常稚貝3個では、いずれも病変部は全くみられなかった。

## 考 察

今回の人為感染試験に供試した稚貝は、貝殻の外観観察および軟体部の組織観察結果から「筋萎縮症」に罹病していなかったことが確認された。また、浸漬攻撃処置をした試験区では、試験開始25日後にはいずれも摂餌が低下し、31～37日後以降には死亡・衰弱貝がみられ、死亡貝の中枢神経系、末梢神経や鰓には自然発症貝と同様の病変部が観

察された。試験終了時における生残貝の貝殻の観察でも半数以上の稚貝において異状が認められた。したがって、自然発症貝の磨碎濾液による人為感染が成立したことが確認された。

今回の人為感染試験では、25℃のインキュベーター中に攻撃液を12時間おいて攻撃した4区の死亡率(54%)が、無処理の陽性対照区である1区と同様の死亡率を示した。このことから、本疾病の病原体は、25℃の滅菌海水中では12時間を経過してもその感染性には影響されないと考えられた。しかし、今回の試験では、4区を除き、試験開始46～51日後以降は死亡数が減少する傾向がみられ、この頃の飼育海水温は25～26℃を越えた時期にあたる。4区でも水温が26℃を越えた52日後以降の死亡数は4個であり、61日後以降には死亡していない。また、攻撃後の各区における死亡貝が出現するまでの日数でみると、1区では31日後、2および3区では35日後、そして4区では37日後であった。このように死亡貝が出現するまでの日数は、25℃の環境下においた経過時間にある程度比例しているように考えられる。したがって、やはり25℃という水温が、本疾病の病原体の病原性あるいは感染性に何等かの影響を及ぼしているものと考えられ、今後温度と感染性との関係については、さらに経過時間を長くして、感染性がどれくらいで失活するのか検討する必要がある。

ところで、先にも述べたように、1区と4区および2区と3区の磨碎濾液は、それぞれ同一の磨碎液から作成されたが、飼育試験の結果のとおり、1区と4区の生残率はまったく同じであった。また、2区と3区とではそれぞれ70%と60%とほぼ同様の結果であった。このことから、同一ロットの磨碎液であれば、最終生残率もほぼ一致する傾向があり、磨碎液中の病原体の力価との関係が推察される。今後の人為感染試験において力価を合わせるためには、別々に調製した磨碎濾液は一旦混合して、よく攪はん後試験区の数量に分ける必要があると考えられた。

## 参考文献

- 中津川俊雄・畑井喜司男・窪田三朗. 1988. 筋萎縮を伴うアワビ稚貝の病理組織学的所見. 魚病研究, **23**: 203-204.
- 中津川俊雄. 1990. 筋萎縮を伴うクロアワビ稚貝の疾病の伝染性. 魚病研究, **25**: 207-211.
- 中津川俊雄. 1991. 筋萎縮症罹病クロアワビ稚貝の加温処理事例. 魚病研究, **26**: 157-158.

### Synopsis

## Relationship between Water Temperature and Infectious Nature of the Agent of "Amyotrophia" in Abalone

Toshio NAKATSUGAWA

An infection experiment of a causative agent of "amyotrophia" for abalone was conducted by using three different 450 nm filtrates of diseased abalone homogenates stored in a incubator under the condition at 25°C for 2, 6 and 12 hours, respectively.

The abalone juveniles were infected by all of three filtrates and the death of them appeared from 31-37 days after the experiments beginning. The dead abalones showed typical symptoms of "amyotrophia" histopathologically, and 30-54% of abalones died finally.

Above results suggest that the agent of "amyotrophia" preserved its high infectious activity for abalone under the condition at 25°C for 12 hours.