

# バイテク魚のビブリオ病原菌に対する感受性試験（短報）

加地 弘一

忍野支所で作出したニジマスとマスノスケの異質三倍体のビブリオ病原菌に対する感受性試験を実施したので報告する。

## 供試魚

供試魚には、ニジマスの卵にマスノスケの精子を媒精した受精卵を、水温処理により極体放出を阻止して作出した異質三倍体の当歳魚（平均体重 42g）を用いた。また、作出に用いた親魚との感受性を比較するために、ニジマスの当歳魚（平均体重 45g）も供試魚とした。なお、マスノスケについては当歳魚が得られなかったため、試験は実施しなかった。

## 試験方法

ビブリオ病原菌（N-7802 株）を TS 液体培地（NaCl 1.0%）で 20℃ 48 時間培養後、培養菌液を 1.0% NaCl を添加した飼育水で段階希釈し、各希釈液に 20 尾ずつ 20 分間通気しながら浸漬し実験感染を行った。対照区として TS 液体培地を 1.0%NaCl を添加した飼育水で  $10^3$  に希釈した溶液に、同様に 20 尾を浸漬した。実験感染後の供試魚は各区とも容量 20L の水槽に収容し、水温 12.5℃ の地下水で 14 日間、適宜給餌を行い飼育した。飼育期間中は毎日死亡魚の計数と死亡魚からの細菌分離を行った。また、試験終了時には全ての生残魚から細菌分離を行った。

## 菌液濃度の決定

死亡率が 6 割程度となる菌液濃度を決定するために、異質三倍体を用いて予備試験を実施した。培養した菌液を、 $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$  の 3 段階に希釈し実験感染を行った。希釈前の菌液濃度は  $6.0 \times 10^6$  CFU/mL、攻撃に用いた菌液濃度はそれぞれ  $6.0 \times 10^3$  CFU/mL、 $6.0 \times 10^2$  CFU/mL、 $6.0 \times 10^1$  CFU/mL であった。

$10^3$  希釈区では、12 日目に 1 尾の死亡が見られ試験終了時の累積死亡率は 26.3% であった（図 1）。 $10^4$  希釈区と  $10^5$  希釈区では死亡は見られなかった。試験終了時の保菌率は、 $10^3$  希釈区、 $10^4$  希釈区、 $10^5$  希釈区でそれぞれ 36.8%、20.0%、0% であった（図 2）。以上の結果から、攻撃試験で使用する菌液濃度は  $10^3$  より濃い菌液濃度が望ましいと考えられた。

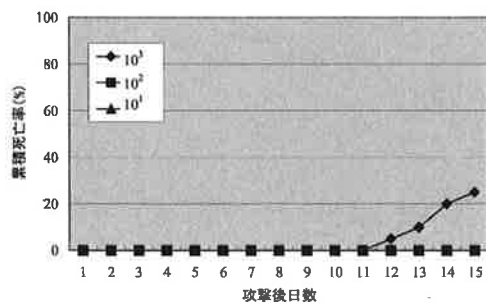


図 1 試験期間中の累積死亡率の経時変化

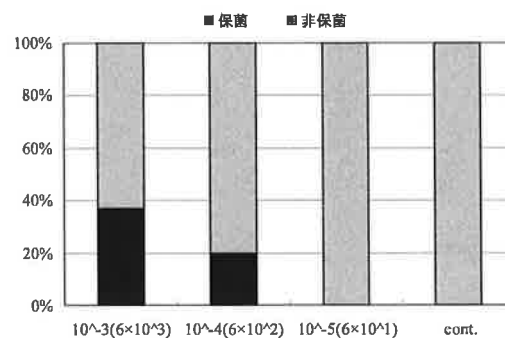


図 2 試験終了時の保菌状況

## 感染試験

培養した菌液を  $6 \times 10^3$ ,  $6 \times 10^4$ ,  $6 \times 10^5$  の3段階に希釈し実験感染を行った。希釈前の菌液濃度は  $17.8 \times 10^9$  CFU/mL, 攻撃に用いた菌液濃度はそれぞれ  $3.0 \times 10^6$  CFU/mL,  $3.0 \times 10^5$  CFU/mL,  $3.0 \times 10^4$  CFU/mL であった。

ニジマスは  $6 \times 10^3$  希釈区 ( $3.0 \times 10^6$  CFU/mL) で7日目から,  $6 \times 10^4$  希釈区 ( $3.0 \times 10^5$  CFU/mL) では9日目から,  $6 \times 10^5$  希釈区 ( $3.0 \times 10^4$  CFU/mL) では9日目からそれぞれ死亡が見られ, 累積死亡率はそれぞれ 90.0%, 63.2%, 70.0% であった (図3)。

一方, 異質三倍体では  $6 \times 10^3$  希釈区 ( $3.0 \times 10^6$  CFU/mL) で8日目から,  $6 \times 10^4$  希釈区 ( $3.0 \times 10^5$  CFU/mL) では9日目から,  $6 \times 10^5$  希釈区 ( $3.0 \times 10^4$  CFU/mL) では12日目からそれぞれ死亡が見られ, 累積死亡率はそれぞれ 83.3%, 64.7%, 33.3% であった (図3)。

$6 \times 10^3$  希釈区 ( $3.0 \times 10^6$  CFU/mL) と  $6 \times 10^4$  希釈区 ( $3.0 \times 10^5$  CFU/mL) では両種の累積死亡率に差は見られなかったが,  $6 \times 10^5$  希釈区 ( $3.0 \times 10^4$  CFU/mL) では異質三倍体で死亡開始時期が遅く, 累積死亡率も低かった。

試験終了時の保菌状況を図4に示した。異質三倍体とニジマスの保菌状況は,  $6 \times 10^3$  希釈区 ( $3.0 \times 10^6$  CFU/mL) が82%と90%,  $6 \times 10^4$  希釈区 ( $3.0 \times 10^5$  CFU/mL) が72%と87%,  $6 \times 10^5$  希釈区 ( $3.0 \times 10^4$  CFU/mL) が72%と70%であり, 両種で保菌率には顕著な差は見られなかった。

以上のことから, 両種のピプリオ病への感受性はほぼ同様であると考えられた。

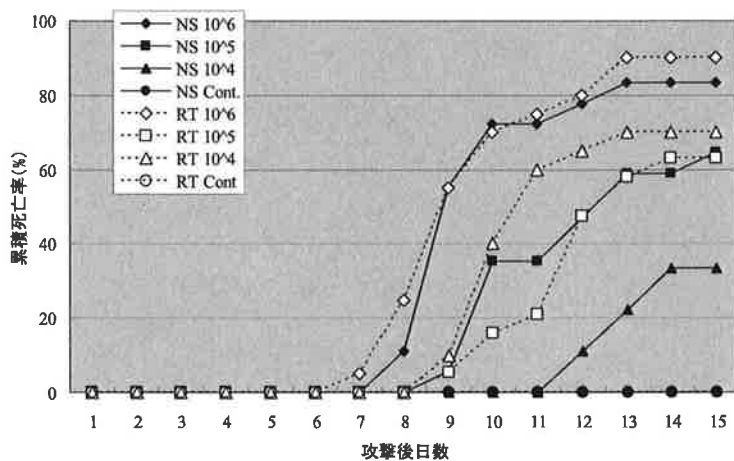


図3 試験期間中の累積死亡率の経時変化 (NSは異質三倍体, RTはニジマス)

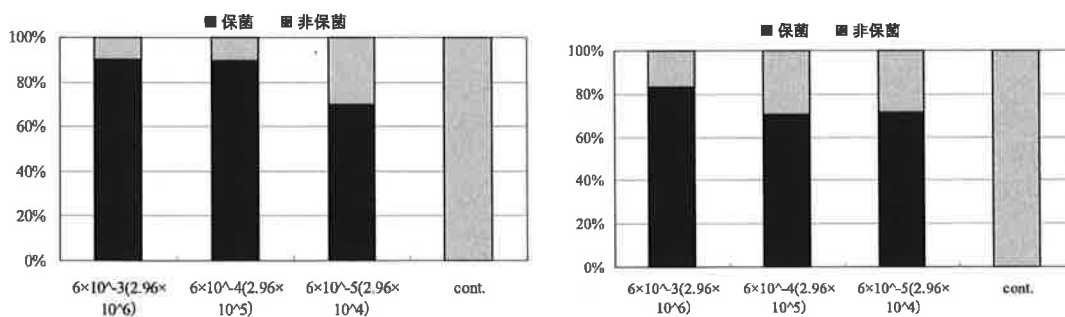


図4 試験終了時の保菌状況 (左:ニジマス, 右:異質三倍体)