

安定化二酸化塩素による細菌性鰓病治療試験

森 真 朗

1 安定化二酸化塩素のマス類に対する安全性試験

目 的

細菌性鰓病の治療に安定化二酸化塩素を使用する際の安全な濃度を明らかにする。

材料および方法

(試験-1)

供試薬剤：安定化二酸化塩素（オキシック A, 40000ppm、第一製薬(株)製）

供 試 魚：ニジマス 0+年魚、平均体重12g。

浸漬方法：プラスチック製水槽（容量約3ℓ）に0、5、10、25、50、100ppmの安定化二酸化塩素（NaClO₂）を各2000ml準備し、供試魚10尾ずつを収容、24時間後に生死を判定した。浸漬中は、エアレーションを施した。開始時の水温は16.2℃であった。

(試験-2)

40000ppmの安定化二酸化塩素を原液として400、800、1600、3200ppmの浸漬液を調整し、前述の水槽に1ℓずつ入れ、供試魚を10尾ずつ収容した。供試魚の平均体重は15.3gであった。各水槽にエアレーションを施し、止水式で試験を実施した。開始時の水温は17.2℃であった。

(試験-3)

供 試 魚：ヤマメ稚魚、平均体重0.2g

浸漬方法：ガラス製ビーカー（容量600ml）に20000、10000、5000、2500、1250ppmの安定化二酸化塩素を各250ml準備し、供試魚10尾ずつを収容、10分間浸漬した。浸漬終了後、飼育水500mlを入れたビーカーに供試魚を移し、回復状況を観察した。浸漬開始時の水温は8.2℃であった。

なお、エアレーションは施さなかった。

結 果

(試験-1)

表1に示したように、100ppmの安定化二酸化塩素溶液にニジマスを24時間浸漬しても、異常は認められなかった。

表1 安全性試験-1

濃 度	供試尾数	24時間後
0 ppm	10	全尾生残
5 ppm	10	全尾生残
10 ppm	10	全尾生残
25 ppm	10	全尾生残
50 ppm	10	全尾生残
100 ppm	10	全尾生残

(試験-2)

表2に示したとおりであった。

表2 安全性試験-2 浸漬後の供試魚の状況

浸漬後の 経過時間	浸 漬 濃 度 (ppm)				
	0	400	800	1600	3200
0:08				狂奔行動	狂奔行動
0:20			狂奔行動		
0:39					水槽底に静止、横転する魚あり
0:44					8尾横転、鰓蓋運動のみ
0:48					全尾横転、狂奔、鰓蓋運動続く
0:55				1尾横転	
1:02					2尾死亡
1:04				2尾横転	
1:06					8尾死亡
1:10				4尾横転	
1:30				全尾横転 1尾死亡	全尾死亡
2:50			1尾横転	全尾死亡	
4:00			9尾死亡		
5:00			全尾死亡		
6:00		1尾死亡			
23:00	全尾生残	全尾死亡			

(試験-3)

表3 ヤマメ稚魚に対する安全性試験

各濃度の安定化二酸化塩素溶液に平均体重0.2gのヤマメ稚魚を10分間浸漬し、飼育水に戻して10分後、20分後、90分後の死亡状況を表3に示した。

20000ppmでは、浸漬終了時に供試魚は横転し、鰓蓋運動のみという状況で、飼育水に戻して10分後には全尾死亡した。10000ppmでは、90分後までに全尾死亡した。5000、2500、1250ppmでは90分後まで全く死亡は認められなかった。

浸漬濃度(ppm)	10分後	20分後	90分後
20000	10/10 * ¹		
10000	0/10	0/10	10/10
5000	0/10	0/10	0/10
2500	0/10	0/10	0/10
1250	0/10	0/10	0/10

*¹ 死亡尾数/供試尾数

2 ヤマメ稚魚を用いた細菌性鰓病人工感染試験

目 的

ヤマメ稚魚を用いて細菌性鰓病の人工感染手法を確立する。

材料および方法

供試菌株：*Flavobacterium* sp. FDL-1株

供 試 魚：ヤマメ稚魚、平均体重0.2g

浸漬用菌液の調整：供試菌を200mlのstarch加サイトファーグバイオンに接種し、20℃、9日間静置して培養した。培養終了後、200mlの蒸留水を加え、(2倍に希釈) 浸漬用菌液とした。

浸 漬：ガラス製ビーカー(容量600ml) に浸漬用菌液を入れ、ウォーターバスで液温を18℃に設定した。予備飼育していた供試魚30尾を浸漬用菌液に収容し、エアレーションしながら24時間浸漬しつけた。

S E M (走査型電子顕微鏡) 標本の作製及び観察：浸漬 6 時間後及び24時間後に供試魚を取上げ、2.5%グルタルアルデヒドで固定し、定法に従い鰓のS E M標本を作製し観察した。

結 果

浸漬 6 時間後、10尾 (1 / 3) が死亡した。生残魚から 3 尾を取上げ、鰓のS E M観察を行った。鰓表面の所々に、細長い*Flavobacterium* sp. の菌体が付着していた。

浸漬24時間後、1尾を残しすべて死亡した。6時間後に取上げた魚に比べ、鰓表面に付着する*Flavobacterium* sp. の菌体数が多くなっていた。

以上の結果から、今回の方法で調整した浸漬用菌液に、ヤマメ稚魚を18℃で24時間程度浸漬すれば、確実に細菌性鰓病が再現出来ることが明らかになった。

3 ヤマメ稚魚を対象とした安定化二酸化塩素による細菌性鰓病治療試験

目 的

安定化二酸化塩素の細菌性鰓病の治療薬としての有効性を検討する。

材料および方法

浸漬用菌液の調整：前項で述べた方法で*Flavobacterium* sp. の培養液を準備し、その培養液 50mlを滅菌蒸留水350mlに加え、浸漬用菌液を調整した。

人工感染：ウォーターバスで浸漬用菌液を19℃に保ち、予備飼育していたヤマメ稚魚20尾(平

均体重0.2g)を24時間浸漬し、細菌性鰓病病魚を人工的に作出した。

安定化二酸化塩素による治療試験：40000ppmの安定化二酸化塩素溶液を蒸留水で希釈し、20000及び4000ppmの治療試験用浸漬液各400mlを調整した。これらの浸漬液に、菌液に24時間浸漬し作出した細菌性鰓病病魚を2～3尾、2及び5分間、19℃の液温下で浸漬した。浸漬中はエアレーションを施した。

SEMによる観察：安定化二酸化塩素溶液に浸漬終了後、魚を軽く蒸留水で洗い、2.5%グルタルアルデヒドで固定し、定法に従い鰓のSEM標本を作製し、観察した。

結果および考察

SEMによる観察の結果、無処理の魚の鰓には、細長い*Flavobacterium* sp. の菌体が多数付着していた。蒸留水に2分間浸漬しても、付着状況にはほとんど変化が認められなかった。また、4000及び20000ppmの安定化二酸化塩素溶液に2分間あるいは5分間魚を浸漬した場合も、鰓表面に付着した菌体が鰓から劇的に離れるような所見は得られなかった。

今回の場合、安定化二酸化塩素溶液に浸漬する前に、ヤマメ稚魚の鰓には既に相当量の菌体が付着していた。もし、感染初期、たとえば人工感染試験の項の6時間程度の時期に、安定化二酸化塩素溶液に浸漬するとどうなるか。さらに、今回は安定化二酸化塩素溶液に浸漬後、すぐに魚を固定したが、浸漬後、流水中に魚をしばらく置くと、ダメージを受けたであろう菌体が鰓から離れる可能性も考えられる。これらの点については、今後検討していく必要があるであろう。

また、安定化二酸化塩素の*Flavobacterium* sp. に対する殺菌効果を試験管内で調べた上で、細菌性鰓病の発生しそうな時期に飼育水中に安定化二酸化塩素を滴下し、細菌性鰓病の発生を予防するという方向での試験も、今後試みる必要があるであろう。

治療試験のための細菌性鰓病人工感染方法の検討

河 西 一 彦

細菌性鰓病の治療試験にあたり、供試魚として自然感染魚を用いると発病時期、発病魚の入手回数、飼育池を単位とした群の中での発病程度の差等種々の制約、問題が生じる。そこで、周年にわたり感染魚を得るとともに治療試験に適した感染条件を検討するために本試験を行った。

実験－I

材料および方法

供試験：ニジマス0⁺年魚 平均体重7.1 g

供試菌株：*Foavobacterium* sp. T0-8708株

供試菌の培養：サイトファーガ寒天平板培地に培養してあった供試菌を、1 l サイトファーガ液体培地に1白金耳接種し、20℃で6日間マグネチックスターラーを用いて攪拌培養したものを浸漬用菌原液とした。浸漬用菌原液の菌数は 5.2×10^5 CFU/mlであった。

試験方法：飼育水槽（3 l 容）に浸漬用菌原液を100、200、300、400 ml 入れ、飼育水を加えて2 l とし、control 区を加えて5区を設定した。各区とも供試魚は10尾を収容し、エアレーションを施して水温が16℃前後になるように室温を設定した。菌液への浸漬は3時間行い、飼育水で換水した。さらに24時間毎に換水を繰り返し、5日間の斃死状況を観察した。斃死魚は鰓を検鏡し感染成立の有無を確認した。なお、試験中の水温は15.9～16.4℃であった。

結 果

供試魚の斃死状況を表1に示した。

Control 区では斃死魚はみられず、菌液を加えた試験区では80～90%の供試魚が斃死した。いずれの斃死魚も鰓を検鏡した結果、*Flavobacterium* sp. の感染を確認した。また、浸漬終了72時間後まで斃死がみられたが、その後120時間まで斃死はみられなかった。

表 1 供試魚の斃死状況 (尾)

経過時間	添加菌量 (ml)				
	100	200	300	400	control
浸漬終了時	0	0	0	0	0
24 時間			1	1	
28 "				1	
30 "			2		
43 "		7	4	3	
48 "	2	1	2	3	
57 "	1	1			
70 "	4				
72 "	2				
計	9	9	9	8	0

実験 - II

材料および方法

供試魚：ニジマス 0 年魚 平均体重 8.0 g

供試菌株：*Flavobacterium* sp. T0-8708株

供試菌の培養：実験 - I と同じ。ただし、浸漬用菌原液の菌数は測定しなかった。

試験方法：飼育水への浸漬用菌原液の接種量は 25、50、75、100 ml の 4 段階で、それぞれの濃度について浸漬時間を 6、12、24 時間 (計 12 区) とし、control 区を加え 13 試験区を設定した。そのほかの条件は実験 - I と同様である。なお、試験中の水温は 15.4 ~ 16.2°C であった。

結 果

浸漬時間毎の斃死状況を表 2 ~ 4 に示した。

いずれの斃死魚も鰓を鏡した結果、*Flavobacterium* sp. の感染を確認した。

表 2 6時間浸漬後の斃死状況（尾）

経過時間	添加菌量 (ml)				
	25	50	75	100	control
浸漬終了時	0	0	0	0	0
18 時間				1	
26 "		1		2	
43 "			5	3	
69 "		1			
計	0	2	5	7	0

表 3 12時間浸漬後の斃死状況（尾）

経過時間	添加菌量 (ml)				
	25	50	75	100	control
浸漬終了時	0	0	0	0	0
24 時間			1		
36 "			4	9	
44 "		2	2	1	
46 "	1				
61	1	1			
69	3				
93	2				
計	7	3	7	10	0

表 4 24時間浸漬後の斃死状況（尾）

経過時間	添加菌量 (ml)				
	25	50	75	100	control
浸漬終了時	0	0	0	0	0
1 時間				1	
6 "				1	
7 "			1	1	
12 "		2	1	1	
24 "	4	7	3	2	
32 "	2			1	
34 "	1				
計	7	9	7	7	0

考 察

以上の2回の実験で全ての供試魚が斃死した試験区は実験Ⅱ、菌液量100 ml、12時間浸漬区だけであった。その他の試験区では一定時間斃死が継続したが、4日以降は斃死がみられなくなった。今回の実験では菌液に浸漬後もエアレーションを施して止水のまま観察し、24時間毎に新鮮な飼育水と換水したが、エア量を各区一定に保つことが困難であった。さらに斃死によって供試魚が減少しても換水量を全て2 lに統一しており、供試魚1尾当りの換水量が一定ではなかった。これら環境要因が斃死状況のばらつきに影響を与えていると考えられ、細菌性鰓病のような条件性疾患の感染実験には複数の試験区を設定する必要性が示唆された。

若林(1980)は、いったん細菌の感染が確認されても3~4日のうちに鰓の上の菌数は著しく減少し、また換水率が低く、かつ放養密度が高い場合には感染が成立し易く斃死率も高いと報告している。今回の実験では実験終了時に生残魚の検査を行わなかったが、4日目以降は斃死がみられなかったことから、それ以前の斃死によって飼育密度が低下したこと、および換水によって鰓の菌数が著しく減少したことによって斃死に至らなかったと思われる。

今回の実験から7~8 gの比較的大型のニジマスを用いても感染、斃死させることができたため、周年にわたって人工感染させた鰓病魚を入手できる目安がついた。また、感染細菌濃度が高く、浸漬時間が長くなるほど確実に感染、斃死するが、薬剤を用いた治療試験を実施するには浸漬終了数時間後から斃死が始まり、数日以内に全供試魚が斃死するような感染・環境条件が必要と考えられる。さらに試験区が多くなると細菌原液の培養量も増加するため、少ない細菌量で感染する条件を検討しなければならない。今回の実験で2 l中に25mlの細菌原液を添加しても12~24時間浸漬を行えば70%程度の斃死が得られたため、今後は少ない菌量を用いて環境要因が変化した場合の発病状況、すなわち水温、エア量、飼育密度、換水率、供試魚の大きさ、水質等との関係を検討するとともに、これらの実験から自然環境における細菌性鰓病の発生・感染要因を究明していく必要がある。

文 献

若林久嗣(1980) : サケ・マスの細菌性鰓病, 魚病研究, 14(4)185-189.

無水酢酸添加安定化二酸化塩素のニジマスに対する急性毒性試験

河 西 一 彦

前報^{*1}では安定化二酸化塩素について急性毒性試験を行ない、細菌性鰓病治療試験に使用する場合の安定化二酸化塩素の安全性を確認した。今回は同薬剤に無水酢酸を少量添加し、二酸化塩素を活性化した薬剤についてニジマス稚魚に対する安全性を検討した。

実験 - I

材料及び方法

供 試 魚：ニジマス0⁺年魚 平均体重0.7g

薬剤の調整：40,000ppm の安定化二酸化塩素（オキシックA、第一製薬(株)製）が含まれている溶液を蒸留水で段階希釈し、その2.5 mlに無水酢酸1滴を添加して活性化した。飼育水槽（3 l容）に2.5 lの飼育水を入れ、各希釈液を添加して所定の濃度になるように調整した。

試 験 区：活性化された二酸化塩素の濃度は0（対照）、0.08、0.61、0.31、0.63、1.25、2.5、5、10ppmの9段階とし、1区につき供試魚10尾を収容した。各試験区ともエアレーションを施し、試験中の供試魚の観察と24時間までの斃死数を計数した。試験中の水温は14.4～16.5℃であった。

結 果

供試魚の斃死状況を表1に示した。

対照区および0.08～0.63ppm区の4区では24時間までに斃死魚はみられなかった。1.25、2.5、5、10ppmの4区では1時間以内に全ての供試魚が斃死し、薬液の濃度が高くなるほど斃死までの時間は短かった。また、0.63～10ppmについては薬液に浸漬直後から鰓蓋運動が高まり、1.25ppm以上の濃度ではパクツキが目立つと共に、斃死に先立ち狂奔行動や横転が観察された。0.63ppm区については3時間後には正常な鰓蓋運動に回復した。

^{*1}安定化二酸化塩素による細菌性鰓病治療試験（本報告書P.28-31）

表1 供試魚の斃死状況

経過時間	薬液濃度 (ppm)								
	0.08	0.16	0.31	0.63	1.25	2.5	5	10	control
0:03	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	鰓蓋運動+	鰓蓋運動+	鰓蓋運動+	鰓蓋運動+	異常なし
0:05	"	"	"	鰓蓋運動+	鰓蓋運動++	鰓蓋運動++	鰓蓋運動++	一部狂奔	"
0:08	——	以下同様	——	鰓蓋運動+	鰓蓋運動++	鰓蓋運動++	一部狂奔、横転	全尾横転	以下同様
0:09								1尾斃死	
0:10							全尾横転	2尾斃死	
0:12								6尾斃死	
0:13								8尾斃死	
0:14								全尾斃死	
0:16									
0:18									
0:19									
0:20									
0:22									
0:23									
0:24									
0:26									
0:28									
0:30									
0:31									
0:36									
0:41									
0:58									
24時間後	0	0	0	0	10	10	10	10	0
斃死数									

実験－II

材料および方法

供試魚：ニジマス0+年魚 平均体重1.1g

試験区：薬剤濃度0.5、0.75、1.0ppmおよび対照区の4区

実験－Iと同じ水槽に供試魚各10尾ずつを収容した。水槽は16℃のウォーターバス中に設置し、室温も16℃に設定した。その他の項目等については実験－Iと同様である。試験中の水温は15.6～15.9℃であった。

結 果

供試魚の斃死状況を表2に示した。

表2 供試魚の斃死状況

経過時間	薬液濃度 (ppm)			
	0.50	0.75	1.00	control
0:01	異常なし	異常なし	鰓蓋運動+	異常なし
0:01	”	鰓蓋運動+	”	”
0:01	以下同様	”	一部狂奔・横転	以下同様
0:01			1尾斃死	
0:01			2尾斃死	
0:01			3尾斃死	
0:01			4尾斃死	
0:01			5尾斃死	
0:01			7尾斃死	
0:01		1尾斃死		
24時間後 斃死数	0	1	7	0

対照区および0.5ppm区では24時間までに斃死魚はみられなかった。0.75ppm区では19時間までに1尾が斃死しただけであった。1.0ppmでは4時間までに7尾が斃死したが、その後24時間までに斃死はみられなかった。

考 察

以上の結果から無水酢酸添加安定化二酸化塩素のニジマスに対する24時間 TLm_{50} を計算するとその濃度は0.9ppmとなった。前回行った安定化二酸化塩素のニジマス（平均体重15.3g）に対するそれは求めなかったが、24時間後の100ppmでは斃死はみられず、400ppmの濃度で全ての供試魚が斃死した。今回の結果はこれより2桁低い濃度であり、無水酢酸を添加することによりニジマスに対する毒性がかなり高くなることが判明した。また、第一製薬㈱がヒメダカを用いて24時間 TLm_{50} を求めたところ、安定化二酸化塩素390ppm、無水酢酸添加安定化二酸化塩素0.25ppm、二酸化塩素0.31ppmとなり、これはニジマスとほぼ同様の結果であった。安定化二酸化塩素は無水酢酸の添加によって二酸化塩素と同程度に毒性が高まるが、比較的短時間に低下し、特に直射日光の下では毒性が急速に無くなるとのことであった。今回の実験でも斃死状況等からみて同様なことが示唆された。今後、無水酢酸添加安定化二酸化塩素を細菌性鰓病の治療試験に使用する場合には、かなり低い濃度で短時間薬浴による効果がみられるかどうかが問題となろう。

無水酢酸添加安定化二酸化塩素による細菌性鰓病治療試験

河 西 一 彦

前報^{*1}では安定化二酸化塩素を用いて細菌性鰓病治療試験を行ない、鰓の走査型電子顕微鏡像からその効果を判定した。本試験では無水酢酸添加安定化二酸化塩素を用いて同試験を実施し、斃死状況から有効性の検討を行なった。

実験 - I

材料および方法

供 試 魚：ニジマス0⁺年魚 平均体重2.9g(自然発病した細菌性鰓病病魚)

薬剤の調整：40,000ppmの安定化二酸化塩素溶液(オキシックA、第一製薬(株)製)を蒸留水で段階希釈し、その2.5mlに無水酢酸1滴を添加して活性化した。飼育水槽(3ℓ容)に2.5ℓの飼育水を入れ、各希釈液を添加して所定の濃度になるように調整した。

試 験 方 法：薬剤の濃度は0.63、1.25、2.5ppmおよび対照の4段階で、それぞれを複数区として計8区を設定した。供試魚は各区10尾で、5分間薬浴後飼育水で換水した。換水後は流水飼育し、2系列のうち一方を斃死状況観察用、他方をサンプリング用とした。サンプリングは薬浴終了後1分、1、24、48、72時間の5回行った。可能な限り1回に各区2尾をサンプリングし、光学顕微鏡による鰓表面の観察および蛍光抗体法による鰓および体表面の検査を実施した。実験中の水温は14.4~15.2℃であった。

結果および考察

供試魚の斃死状況を表1に、サンプリング魚の鰓および体表の検査結果を表2に示した。

外観観察では供試魚はすべて鰓蓋をやや開いた鰓病の症状を示しており、サンプリングによる検鏡、蛍光抗体法を用いた検査においても*Flavobacterium* sp.が確認された。

対照区は72時間までに斃死はみられなかったが、0.63および1.25ppmでは24時間後に1尾、2.5ppmでは3時間後までに8尾が斃死した。今回の実験では対照区で斃死が起こらなかったため、感染程度低かったことが推察され、また薬浴後流水飼育を行ったため、斃死に至るまでの症状悪化が起こらなかったと考えられる。さらに、無水酢酸添加安定化二酸化塩素による薬浴を実施した区で斃死魚がみられ、濃度が高い区での斃死率が高かったことから、少なくとも2.5ppm区での斃死

*1 安定化二酸化塩素による細菌性鰓病治療試験(本報告書p.28-31)

は活性化された薬剤の毒性によるものと判断された。

検鏡、蛍光抗体法の検査によると、薬浴した区の体表では菌の検出率が薬浴後1時間以降、低くなるような傾向を示したが、72時間後においても鰓からは検出された。斃死状況、検査結果から、今回の実験においては無水酢酸添加安定化二酸化塩素の治療効果は確認されなかった。

表1 供試魚（自然感染魚）の斃死状況

経過時間	薬 剤 濃 度 (ppm)			
	0.63	1.25	2.5	対照
1分後	0	0	0	0
1時間後			7	
3 "			1	
24 "	1	1		
48 "				
72 "				
計	1	1	8	0

実験－II

材料および方法

供試魚：ニジマス0+年魚 平均体重7.1g 実験1週間前に5%食塩浴を実施した。

供試菌株：*Flavobacterium* sp. T0-8708株

感染方法：1ℓのサイトファーガ液体培地に供試菌を1白金耳接種し、20℃で7日間マグネチックスターラーを用いて攪拌培養したもの（細菌濃度 6.7×10^7 CFU/ml）を感染用菌原液とした。飼育水槽（3ℓ容）に菌原液50mlを入れ、飼育水を加えて2ℓとした。1水槽当たり10尾の供試魚を収容し、エアレーションを施しながら24時間の菌浴を実施した。水温は空調とエアレーションを用いて16℃前後になるように調整した。

薬剤の調整：実験－Iと同じ。

薬浴方法：薬剤の濃度は0.5、1.0、2.0ppmの3濃度で、対照として5%の食塩浴区および飼育水のみが無処理区を設けた。各濃度について3試験区を設定し（計15区）、前述の方法により供試魚を人工感染させた後、各水槽毎に飼育水（16℃に調整、以下同様）で換水した。1時間静置後、再度換水するとともに薬剤の添加を行った。2分間の薬浴の後、ただちに換水し、その後の経過を観察した。各水槽はエアレーションのみで止水とし、24時間毎に換水を実施した。さらに、薬剤の毒性をみるため、正常魚についても同様の濃度で同時に薬浴、観察を実施した（5区）。

斃死魚は全て光学顕微鏡による鰓圧扁標本の観察あるいは蛍光抗体法による検査を行うとともに、実験終了時の生残魚についても全て同様の検査を実施した。実験中の水温は15.9～16.3℃であった。

表2 サンプリングによる検査結果（自然感染魚）

時 間	検 査 方 法	薬 剤 濃 度 (ppm)			
		0.63	1.25	2.5	対 照
1 分 後	A	++	++	++	++
	B	++	++	++	++
	C	++	++	++	++
1 時間後	A	++	++	++	++
	B	++	++	++	++
	C	++	++	--	++
24 時間後	A	++	++	+	++
	B	++	++	+	++
	C	++	+-	-	++
48 時間後	A	++	++		++
	B	++	++		++
	C	++	--		++
72 時間後	A	++	++	++	++
	B	++	++	++	++
	C	--	+-	--	++

検査方法

A : 光学顕微鏡（鰓） B : 蛍光抗体法（鰓） C : 蛍光抗体法（体表）

表3 供試魚（人工感染魚）の斃死状況

経過時間	薬 剤 濃 度				
	0.5ppm	1.0ppm	2.0ppm	5%食塩水	対 照
6 時間		1	1		
1 日	6 10 9	8 10 8	6 7 7	1 3 2	10 10 10
2 日			1		2
3 日				3 6 1	
4 日				1 1	
5 日			2 1		
6 日	1			2	
7 日		1		1 2	
8 日					
総斃死数	7 10 9	9 10 9	9 8 8	8 9 8	10 10 10

表4 生残魚の鰓検査結果

薬剤濃度	生残魚数	光顕観察	蛍光抗体法
0.5ppm	4	----	++++
1.0ppm	2	--	++
2.0ppm	5	+++++	+++++
5%食塩	5	--++++	+++++

表5 24時間後の斃死状況

薬剤濃度	斃死数	生残数	合計
0.5ppm	25	5	30
1.0ppm	27	3	30
2.0ppm	21	9	30
5%食塩	6	24	30

表6 *Flavobacterium* sp. (T0-8708株) に対するClO₂、NaClO₂、NaClO₂+無水酢酸の殺菌効果

薬 剤	ClO ₂				NaClO ₂				NaClO ₂ +無水酢酸			
	0	2	5	10	0	2	5	10	0	2	5	10
濃 度(ppm)												
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1.5	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2.5	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

- ; 非殺菌 + ; 殺菌 (資料提供 第一製薬株式会社)

結果および考察

供試魚の斃死状況を表3に示した。

斃死は薬浴終了6時間後に始まり、1.0および2.0ppm区でそれぞれ1尾ずつの斃死がみられた。24時間後には対照区の3水槽全尾が斃死したが、薬浴区では6~10尾と斃死にばらつきがみられた。その後、8日目までに薬浴区の数尾が斃死し、累積斃死数は7~10尾となった。これらに対して、5%食塩浴区では24時間後に1~3尾の斃死にとどまった。しかし、その後7日目まで斃死が続き、実験終了時に累積斃死数は8~9尾となった。

斃死魚の鰓を検査した結果、全ての斃死魚から*Flavobacterium* sp.を検出した。また、未感染

の正常魚では、いずれの薬浴区でも斃死がみられなかったことから、これらの斃死魚は薬剤の毒性ではなく、細菌性鰓病による斃死と判断された。さらに、実験終了時に生残魚の検査を行った結果、表4に示したように全ての生残魚から*Flavobacterium* sp.を検出した。

表5に24時間後の斃死状況を示した。検定の結果、0.5および1.0ppmでは対照区に対して有意な差はみられなかったが、2.0ppmでは有意な差 ($P < 0.05$) がみられた。また、5%食塩浴区は他のすべての試験区との間に有意な差 ($P < 0.01$) がみられた。今回の結果から、5%食塩浴区でも8日目までにほとんどの供試魚が感染して斃死したため、食塩浴を行ってもすべての菌が死滅するのではなく、この実験のようにその後の環境条件が悪い場合には生残菌が急速に繁茂して、斃死を起こさせることが明らかとなった。

以上の実験の結果、無水酢酸添加安定化二酸化塩素は2.0ppm、2分間浴でやや効果がみられるものの、食塩に匹敵するほど顕著な効果はないと判断された。なお、今回の人工感染に用いたT0-8708株を使用して第一製薬(株)が*in vitro*での殺菌効果を調べたところ表6に示すように、今回と同じ薬剤 ($\text{NaClO}_2 + \text{無水酢酸}$) の2.0ppmまでは10分間処理しても殺菌効果が認められないとの報告であった。

養鱒場における細菌性鰓病の発生状況の一例*¹

許 康俊*^{2*3}・河西一彦・若林久嗣*²

本研究内容は魚病学会誌に掲載されているため、論文要旨のみを掲載した。

要 旨

間接蛍光抗体法を用いて、1986年から1989年までの4年間東京都水産試験場奥多摩分場の養鱒池で細菌性鰓病の発生・経過を調査した。毎年5月から8月にかけて供試魚の鰓と体表面から *Flavobacterium branchiophila* が検出され、感染が確認された。また、飼育魚群に鰓病の病徴が現れる前に本菌が検出されたことにより、本病の発生を予知することができた。さらに、感染魚のいる間だけ池水からも本菌が検出された。これらの結果から、本病の検出に蛍光抗体法が有効であり、高い実用性を有することが確認されるとともに、細菌性鰓病の流行と本菌の消長が密接な関係を持つことが明らかとなった。

魚病研究, 25(2), 99-105(1990)

*¹ 平成2年度日本魚病学会春季大会口頭発表

*² 東京大学農学部水産学科

*³ 現在、韓国忠北大学校獣医学科