

昭和50年度 指定調査研究総合助成事業病害研究報告書  
 昭和51年3月 東京都水産試験場

## 目 次

A	ニジマス病害研究	1	<input type="checkbox"/>
○ I	都内養殖池に発生した疾病について	1	
II	IPNに対するK-1631の投与について	6	向題点
III	紫外線殺菌灯のin vitro の効果について	9	傾向
IV	紫外線で殺菌した飼育水によるニジマス稚魚の飼育試験	12	
V	ヤマメ親魚のせっそう病ワクチン接種試験	13	
○ VI	せっそう病経口ワクチン投与試験	17	
VII	せっそう病原菌の薬剤感受性試験	19	
○ VIII	迅速診断法としての蛍光抗体法(F A法)の応用	20	<input type="checkbox"/>
B	温水性淡水魚の病害研究(穴あき病)	27	
1	50年度の養殖業者および都水試におけるいわゆる穴あき病の発生状況	27	
2	多摩川における皮膚潰瘍性疾病の発生状況	28	
3	皇居外濠における皮膚潰瘍性疾病の発生状況	35	
4	1974年度に患部より分離した菌の生化学性状	37	
5	病魚からの菌の分離と復元実験	40	
6	分離菌の生化学的性状	45	
7	病魚患部と腎臓の病理組織像および復元実験魚の病理組織像	47	
8	病魚の血液性状	47	
9	ニフルブラジンの薬浴による予防効果	50	
10	ビタミン剤と燐酸塩の投与による予防効果	51	
11	抗生物質の筋肉注射による治療効果	53	
12	水温の治療におよぼす影響	54	
13	水温の感染におよぼす影響	58	
14	冬期における病魚の発生状況調査	59	
15	文 献	61	

I 都内養殖池に発生した疾病について

〔疾病とその概要〕

1 伝染性肝臓壊死症 (IPN)

発病時期	4月～6月
魚種・年令	ニジマス 0年魚
水温	11～16℃
体重	0.2～3g
外部観察	腹部の膨満、体色黒化、ピンヘッド
内部観察	腹水の貯留
顕微鏡観察	一般に細菌や寄生虫は検出されないが、個体によっては鰓に原生虫等の寄生する場合もある。
診断	RTG-2 Cellに常法により接種してCPEを確認した。
病因	IPN-Virus
処置	餌付時よりK-1631経口投与を行い生残率を高めることができた。

2. 細菌性鰓病

発病時期	3月～7月
魚種・年令	ヤマメ、ニジマス 0年魚
水温	7～18℃
体重	0.2～5g
外部観察	鰓から多量の粘液を分泌し、鰓蓋は開いたままである。鰓葉の膨潤、充血等も観察される。
内部観察	消化管は空であり粘液を含むものもある。
顕微鏡観察	鰓に長桿菌が観察される(×400)
病因	粘液細菌の一種である。
処置	フラン剤(ニフルピリノール)0.3ppm、1～2時間薬浴が有効である。

3 セツソウ病

発病時期	6月～10月
魚種・年令	10～19℃
体重	5～400g
外部観察	ヤマメ、ニジマス0年魚では枢幹部に小豆粒大の膨隆患部がみられ、体色の黒化、眼球突出などが観察された。各魚種とも1年魚については外部症状は顕著でなく、胸鳍基部および肛門から出血し、水生菌の寄生している場合が多い。
内部観察	消化管は黄色の粘液を含み、ときには出血する場合がある。腎臓の腫脹が観察される。
顕微鏡観察	腎臓および肝臓から短桿菌が検出される。
病因	<i>Aeromonas salmonicida</i>
処置	親魚には経皮ワクチン、稚魚には経口ワクチンによる予防実験を行った。サルファ剤、抗生物質、合成抗菌剤による治療が可能である。

4 ビブリオ病

発病時期	6月～10月
魚種・年令	ニジマス 0～1年魚、アユ
水温	10～17℃
体重	ニジマス 15～170g、アユ20～50g
外部観察	体表に膨隆した患部がみられ、体色黒化、眼球突出なども観察される。
内部観察	筋肉に出血患部がみられ、腎臓、肝臓の肥大等が観察される。
顕微鏡観察	腎臓、肝臓より桿菌が検出される。
病因	<i>Vibrio anguillarum</i>
処置	ニジマスではサルファ剤の投与が有効である。アユではサルファ剤、抗生物質等に耐性を示した。

5. カラムナリス病

発病時期	3月～4月
魚種・年齢	キンギョ
水温	18～19℃
体重	100～200g
外部観察	吻端部と鰭先端部が欠損しており、その周辺は黄褐色を呈する。
内部観察	異常なし
顕微鏡観察	患部からは長桿菌が検出される。(×400)
病因	<i>Flexibacter columnaris</i>
処置	フラン剤(ニフルピリノール)0.3ppm、1～2時間浴が有効である。

6. キロトネラ病

発病時期	3月～7月
魚種・年齢	ヤマメ 0年魚
水温	8～12℃
体重	1～3g
外部観察	鰓は粘液の異常を起こし、水生菌の寄生する場合もある。
内部観察	異常なし
顕微鏡観察	鰓や体表に寄生体が観察される。
病因	<i>Chilodonella</i> sp
処置	過マンガン酸カリ薬浴を行った。

7. トリコディナ病

発病時期	9月
魚種・年齢	ヘラブナ、1年魚
水温	不明
体重	100～300g
外部観察	体表に出血患部がみられる。
内部観察	異常なし
顕微鏡観察	鰓および体表に多数の寄生体が観察される。

病 因	<i>Trichodina</i> sp
処 置	過マンガン酸カリ薬浴を行った。

8 白点病

発病時期	6月～9月 1～2月
魚種・年令	ニジマス0年魚 ヤマメ仔魚
水温	16～19℃ 10～11℃
体重	ニジマス20～40g、ヤマメ0.2～0.3g
外部観察	鰭、鰓、体表に白い点状の付着物が認められる。
内部観察	異常なし
顕微鏡観察	鰭、鰓、体表に寄生体が観察される。
病 因	<i>Schthyophthirius</i> sp
処 置	NaCl 5～10%、30秒～1分間薬浴が有効であった。

9 テトラオノカス寄生症

発病時期	7～9月
魚種・年令	ニジマス 0年魚、ヤマメ1年魚
水温	17～20℃
体重	ニジマス20～40g、ヤマメ200～300g
外部観察	鰓は粘液の異常分泌を起こす。
内部観察	異常なし
顕微鏡観察	鰓にやや大形の寄生体が観察される。
病 因	<i>Tetraonchus</i> sp
処 置	NaCl 5% 1分間薬浴を行った。

10 水カビ病

発病時期	8月～10月(在来マス)、12月～2月(採卵後のニジマス)
魚種, 年令	在来マス 0、1年魚
水温	5～20℃
体重	ヤマメ、60～400g、ニジマス500～2,500g
外部観察	体側部、尾柄部、鰓蓋に水カビが寄生し、重症魚では全身が水カビで

内部観察	は全身が水カビで被われ斃死する。
顕微鏡観察	異常なし
処置	原虫などの寄生は認められない。
	マラカイトグリーン薬浴により発病を抑制することがある程度可能である。

昭和49年度の報告書を印刷した後にIHNの発生がみられたので、その概要を報告する。

#### 伝染性造血器壊死症 (IHN)

発病時期	2月～3月
魚種・年令	ニジマス 0年魚
水温	10～12℃
体重	0.2～0.4g
外部観察	体色が黒化し、腹部の膨出が見られ、一部の個体では腹部や体側部に点状あるいはV字状の出血患部が観察される。
内部観察	腹腔内脂肪組織に点状の出血が観察される。
顕微鏡観察	細菌や寄生虫は観察されない。
診断	RTG-2 cell に常法により接種してCPEを確認した。
病因	IHN-virus
処置	病魚の殺滅処分。池の塩素消毒

#### 〔要約〕

奥多摩分場および都下の養殖池に発生した魚病を観察し、次の事項が明らかになった。

1. 昭和49年度にはじめてIHNが発生し、毎年発生するIPNとともにニジマス稚魚に大きな被害をもたらしている。
2. 稚魚期の原虫類寄生による被害が増大している。
3. 本年度はニジマス稚魚でのせつそう病の発生がみられた。
4. 在来マス類では水生菌による被害が著しく減少したが、採卵後のニジマスでの被害は大きい。

山梨  
葯劑

## II IPNに対するK-1631の投与について

IPNによるニジマス稚魚の被害の軽減を図る目的で、当场では抗プラスミン剤およびPVP-Iの予防効果を検討してきたが、本年度は、インターフェロンの産生を促進するといわれているK-1631の予防効果を検討した。

### ◎実験 1

#### 〔方法〕

- 1) 供試魚の履歴 採卵月日 昭和49年2月6日  
親魚の年齢 3年初産  
発眼率 87.7%  
餌付月日 昭和49年4月20日
- 2) 使用薬剤 K-1631、メチルグリオキサリビス(N-メチルアミノヒドラゾン)ジハイドロクロライド
- 3) 投与量 魚体重kg 当り1日量として62.5, 125, 250, 500mg
- 4) 実験・投薬期間 昭和49年4月20日～7月10日
- 5) 供試魚重量 約1kg(平均体重0.7g, 約1400尾)
- 6) 飼育水槽 ポリエチレン製コンテナ(58×41×38cm)、注水量毎秒0.2ℓ
- 7) 実験水温 5.8～17.2℃

#### 〔結果〕

K-1631は飼料の3～4%の水に溶かしてクランブルに浸透させ、餌付開始時より投与した。外観的にIPNと考えられる個体は実験開始20日目ごろから対照区で現われはじめ、その後、投与量の少ない順にIPNの発生が認められた。

実験開始後の斃死率の変化を図1に示した。

対照区では5月10日ごろから斃死魚が急激に増加し、その状態は約1ヶ月間続いた。62.5mg投与区では発病した時期及び斃死の傾向はおおむね対照区と同じであったが、終了時の斃死率は対照区よりやや低くなった。その後、125mg投与区が5月20日、250mg投与区が5月25日、500mg投与区が5月30日と投与量が多くなるにつれて約5日ずつ遅れて発病したが、IPNの終息時期は500mg投与区を除いた各区でほぼ一致しており、6月15日頃で、その時の水温は15℃前後であった。

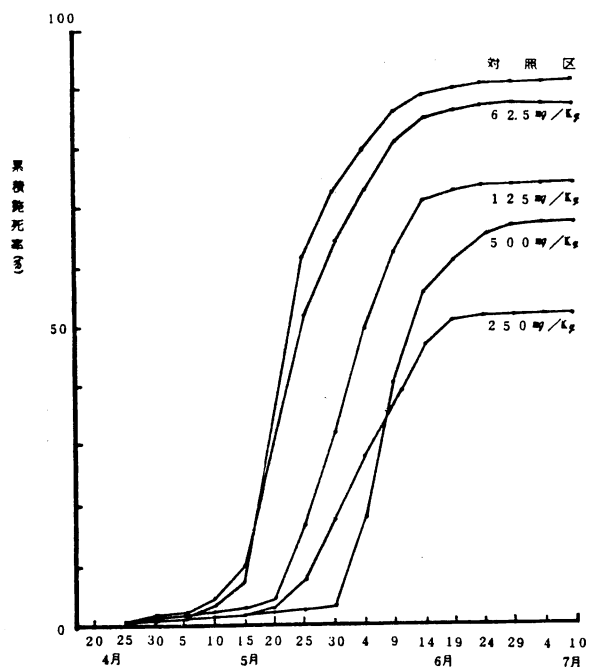


図1 K-1631投与による死亡率の変化

実験終了時の各区の生残率は表1のとおりである。

表1 K-1631投与によるニジマス稚魚の生残率

投薬量 (mg/kg)	供試尾数	へい死尾数	生残率 (%)
500.0	1,530	1,029	32.7
250.0	1,241	644	48.1
125.0	1,501	1,104	26.4
62.5	1,360	1,179	13.3
0	1,377	1,251	9.2

500 mg 投与区を除き投与量に比例して生残率が高くなる傾向がみられた。500 mg 投与区ではIPNによる死亡率のピークを過ぎた後に、外観上IPNとは異なる死亡率が観察された。

◎ 実験 2

実験1で最も生残率の高かった魚体重当たり1日量として250 mg をニジマス稚魚に投与した。



〔方法〕

- 1) 供試魚 ニジマス稚魚
- 2) 供試尾数 10,000尾
- 3) 実験期間 昭和50年4月24日～7月25日
- 4) 投薬期間 昭和50年4月24日～7月15日
- 5) 実験槽 アトキンス型ふ化槽(45×360×30 cm)、注水量は毎秒100ℓである。
- 6) 実験水温 9.4～17.2℃

〔結果〕

投与方法及び投与開始時期は実験1と同様であるが、外観上IPNが終息したと判断された7月15日に投与を終了し、以後10日間観察を行った。

実験期間中の生残率の変化を図2に示した。

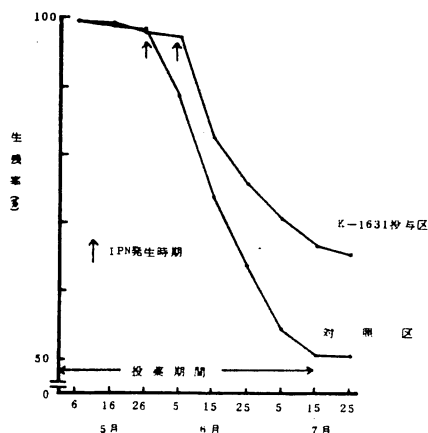


図2. K-1631投与による斃死率の変化

IPNは投与区・対照区ともほぼ同時期(5月20日頃)に発生し、約1ヶ月間続いたが、実験終了時の両区の実験終了時の生残率をみると、投与区は64.2%、対照区は48.1%となり、実験1と同様にK-1631を投与することによって対照区よりも高い生残率が得られた。

〔考察〕

K-1631は水溶性であることから配合飼料への浸透も容易であり、また、摂餌を妨げることもなかった。

K-1631の作用は宿主に対してインターフェロンの産生を促進すると考えられている。しかし、本薬剤がIHNVウイルスに対して無効であるという実験例があり、この結果から考えると種特異性がないというインターフェロンの特性に反することになる。したがって、本薬剤のウイルスに対する作用は明らかではないが、餌付開始時から投与することによって、生残率

を向上させることができるので、今後はK-1631の薬理作用、毒性等について研究する必要がある。さらに、水産サイドで問題になっているウイルス病について有効性を明らかにするためには、多くの機関での協同研究が望まれる。

### Ⅲ 紫外線殺菌灯の *in vitro* の効果について

最近、各種魚病、特にウイルス病に対して有効な予防手段の確立が望まれ、その一つとして飼育水を殺菌灯で消毒して飼育環境の浄化を図ることが考えられている。そこで、マス類の稚魚期の代表的疾病であるIPN、IHN、せつそう病の病原体に対する殺菌灯の *in vitro* の効果を検討した。

#### 〔方法〕

##### 1) 供試ウイルスおよび細菌

IPNウイルス(昭和49年3月ニジマスより分離)

IHNウイルス(昭和50年3月ニジマスより分離)

*Aeromonas salmonicida* (昭和49年7月ヤマメより分離)

※ ウイルスの血清型の決定およびクローンは行っていない。

##### 2) 供試紫外線灯

8Wの紫外線灯

##### 3) 供試ウイルスおよび細菌の培養

IPN、IHNウイルス      RTG-2 cellで20°C(IHNは15°C)、  
96時間MEM10により培養したものをを用いた。

*A. salmonicida*      普通寒天平板20°C、48時間培養したものをを用いた。

##### 4) 供試ウイルス及び細菌の懸濁液

IPN      100 TCID<sub>50</sub>/mlの濃度になるように蒸留水で希釈した。

IHN      培養液を蒸留水で100倍に希釈した。  
*A. salmonicida*       $6.4 \times 10^8$  cell/mlになるように0.85%生理食塩水で希釈した。

##### 5) 実験水温

IHNウイルスについては15°C、IPNウイルスと *A. salmonicida* は20°Cとし、水温を

保つためインキュベーター内で実験した。

6) 実験方法

シリンダー（内径 7.8 cm, 高さ 19 cm）に各懸濁液を入れ、その中央部に殺菌灯を固定して点灯し、ウイルスについては懸濁液の 0.1 ml、細菌については一白金耳ずつ所定時間ごとにサンプリングして RTG-2 cell, トリプトソイプイオンに接種した。

なお、懸濁液はマグネチックスターラでかくはんし、紫外線が均一に照射されるようにした。対照区には懸濁液を紫外線があたらないようにアルミホイルでくるんでインキュベーター内に置き、所定時間にサンプリングした。

7) 効果の判定

ウイルス 20°C (IHNウイルスは 15°C) で培養し、1週間観察して CPE の有無によって判定した。

細菌 20°C で 48 時間培養して肉眼で菌の増殖の有無によって判定した。

【結果】

殺菌灯のウイルスに対する効果を表 2、3、細菌に対する効果を表 4 に示した。

表 2. 殺菌灯の IPN ウイルスに対する効果

照射時間(分)	0.5	1	5	10	30	60	120	240
ウイルス								
IPN	+	+	+	+	+	+	+	+
control	+	NT	NT	NT	NT	+	+	+

表 3 殺菌灯の IHN ウイルスに対する効果

照射時間(分)	0.5	1	5	10	30	60	120
ウイルス							
IHN	+	+	+	+	+	-	-
control	+	NT	NT	NT	NT	+	+

+、CPE 発現。 -、CPE 発現せず。 NT、サンプリングせず

表4 殺菌灯の細菌 (*A. salmonicida*) に対する効果

照射時間(秒)	5	10	60	300	600	1800	3600
実験区	+	+	+	-	-	-	-
対照区	+	NT	NT	NT	+	+	+

+ 増殖。 -、増殖せず。NT、サンプリングせず。

殺菌灯はIPNウイルスに対しては240分照射でもCPEの発現が認められたことから、IPNウイルスは生存していることが明らかであるが、IHNウイルスに対しては120分の照射でCPEの発現が認められなかったことから、IHNウイルスは死滅したものと考えられる。細菌に対しては5分以上の照射で菌の増殖は認められなかった。

### 〔考察〕

飼育水の消毒および浄化を目的として殺菌灯を使用するならば、殺菌効果が短時間で認められる必要がある。

IPNウイルスに対しては240分でも効果は認められず、IHNウイルスに対しても30分では効果は認められないことから、連続照射のみによってウイルス病を完全に防除することはできないと考えられる。

今後、紫外線の線量と殺菌効果の関係および魚類に与える影響などについて検討するとともに、新しい用途についても研究する必要がある。

*A. salmonicida* に対しては5分で殺菌効果が認められたので、飼育水を連続照射することによって魚病細菌及び水中の細菌の量を減少させ、飼育環境の浄化を図り、細菌性疾病の抑制が期待できよう。

### 〔要約〕

紫外線殺菌灯の効果を用いてIPN、IHNウイルスと *Aeromonas salmonicida* を用いて検討した。

1. *A. salmonicida* は5分以上では生存しなかったが、IPNウイルスは240分、IHNウイルスは30分間の照射でも生存が確認された。
2. 飼育水の消毒を目的として殺菌灯を使用する場合は、水中の細菌数の減少は期待できるが殺ウイルス効果は期待できない。
3. 紫外線の線量と殺菌効果の検討が必要である。

- 4 紫外線殺菌灯の新しい用途として、ヨード消毒後の発眼卵の洗浄用水や、採卵の際の各種用水の消毒について検討する必要がある。

#### IV 紫外線で殺菌した飼育水によるニジマス稚魚の飼育試験

紫外線で飼育水を殺菌し、環境を浄化することによってニジマス稚魚のIPNの発生経過などを観察した。

##### 〔方法〕

- 1) 供試魚 ニジマス稚魚(平均体重0.27g, 10,000尾)
- 2) 飼育池 アトキンス型フ化槽(45×360×30cm)
- 3) 殺菌の方法 15Wの殺菌灯を6本セットした西武化学式紫外線水殺菌装置(S-II型)を用い、毎秒1ℓの飼育水を殺菌した。
- 4) 飼育期間 昭和50年4月25日～7月10日

##### 〔結果〕

餌付5日後から殺菌灯の照射を開始したが、IPNの発生は両区とも5月17日頃であった。各区の累積斃死尾数と生残率を表5に、飼育期間中の生残率の変化を図3に示した。

表5 累積斃死尾数と生残率

項目 区分	累積への死数	生残率(%)
照射区	4.277	57.2
対照区	5.186	48.1

外観上からはIPNと考えられる斃死が照射区、対照区ともにみられ終了時まで続いた。後日、斃死魚のろ液をRTG-2 cell に接種したところCPEが観察されたことから、ウイルス感染による斃死と考えられる。

終了時の生残率は対照区48.1%、照射区は57.2%であった。

##### 〔要約〕

紫外線の照射ではIPNウイルスを殺すことはできなかったが、この結果からみると、殺菌灯を照射して飼育水を浄化することによって、環境の改善を図ったことが生残率の向上につながったと考えられる。しかし、両区が生残率の差からみると環境の改善による生残率の差はあ

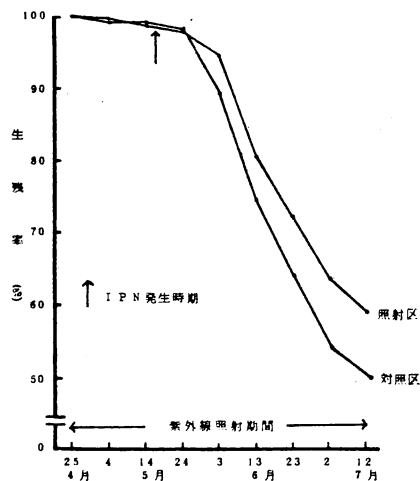


図3 紫外線照射によるニジマス稚魚の生残率の変化

まり大きくなく、経済効率も考慮して殺菌灯の利用を検討する必要がある。

〔要約〕

1. 紫外線で殺菌した飼育水で飼育したニジマス稚魚にもIPNは発生したが、生残率は対照区より高くなる傾向がみられた。
2. 飼育環境の浄化を生残率との関係ならびに経済効率について検討する必要がある。

V ヤマメ親魚のせつそう病ワクチン接種試験

本年度は従来の接種試験のほかに予備試験として、接種時期をずらして2回接種する区をもりた。

〔方法〕

- 1) 供試魚 ヤマメ親魚 各区1,200尾  
(予備試験区は200尾)
- 2) 供試ワクチン 自家製ホルマリン不活化ワクチン  
化血研製ワクチン  
北里研製ワクチン  
日生研製ワクチン
- 3) 接種部位 腹腔
- 4) 凝集価の測定 ワクチン接種後1ヶ月毎にヤマメ(10尾)より血清をサンプリングし、そのうちの8尾ずつについてマイクロタイター法で凝集価を

測定した。

測定には0.025mlのピペットとダイリユーターを使用し、菌液はホルマリン死菌2mg/mlの濃度のものを使用した。

5) 飼育水温

飼育期間中の旬別最高最低水温を図4に示した。

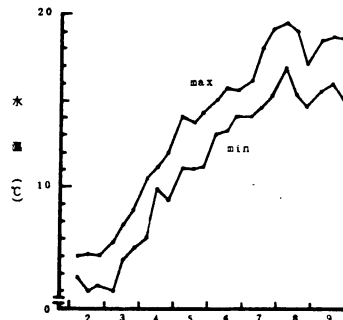


図4 飼育水温

〔結果と考察〕

各試験区の生残率を表5に示した。

表5 せつそり病経皮ワクチン接種区の生残率(%)

区	月	4	5	6	7	8	9
自家製ワクチン		99.7	99.6	98.8	97.3	95.6	92.2
化血研製ワクチン		99.9	99.8	99.5	97.8	95.6	91.6
北里研製ワクチン		99.8	99.6	99.3	97.6	95.2	90.7
日生研製ワクチン		99.3	99.2	98.6	97.8	96.1	93.2
※ 予備試験 1区		99.5	99.0	97.5	96.0	95.5	92.5
※※ 予備試験 2区		100	100	98.5	98.0	97.0	95.0
対 照 区		99.5	99.5	99.5	98.5	98.5	93.5

※ 本試験のワクチン接種の1ヶ月前に1回目の接種

※※ 本試験のワクチン接種の1ヶ月後に2回目の接種

(予備試験には北里研製ワクチンを使用した。)

ワクチンの接種には連続分注器を使用し、本年度はワクチンにはサルファ剤を添加しなかった。

各区とも生残率が90%以上になっており、これはせつそう病による被害が少なかったことと、例年当場で大きな減耗要因となっているチヨウの寄生が軽微であったことによると考えられる。

試験期間中の各区の斃死魚を外観所見により分類したものが表6である。

表6 せつそう病による斃死率(%)

項目 区分	供試尾数	へい死数	率	外 観 所 見		
				せつそう病	かび病	その他
自家製ワクチン	1,200	94	7.8	195	253	55.2
化血研製ワクチン	1,200	101	8.4	208	344	44.8
北里研製ワクチン	1,200	112	9.3	19.1	309	50.0
日生研製ワクチン	1,200	82	6.8	14.6	293	56.1
対 照 区	200	13	6.5	30.8	46.2	23.1

各区とも外観的にせつそう病と診断されたものは15~20%でワクチンによる差は認められなかった。また、カビの着生した斃死魚3尾から7月12日に細菌の分離を行ったところ、そのうちの1尾よりせつそう病菌が分離されたことから、カビ病と診断されたもののなかにはせつそう病との混合感染症の個体がかなり含まれていると考えられる。その他の原因としては、夏以降池の外へ飛び出して斃死したものが大半を占めている。

ヤマメ血清について凝集価を測定した結果を月別に図5に示した。

ワクチンを接種して5月には $\times 16 \sim \times 32$ であったが、時間の経過とともに凝集価は上昇した。3ヶ月後の7月には $\times 128 \sim \times 1024$ に達し最高値を示し、8月まではほぼ同じ凝集価を維持していたが、全体としてはやや低下する傾向がみられた。これに対し対照区では終始 $\times 16$ 以下で接種区に比較して明らかに低かった。

自然感染を予防できる凝集価は $\times 320$ であるといわれているので、せつそう病ワクチンの接種は凝集価の点からは十分効果を期待できるといえよう。

次に、自家製ワクチンを接種したヤマメとニジマスを使って接種後3ヶ月後の7月15日に攻撃実験を行った。

ヤマメに対しては魚体重kg当り0.0025mg、ニジマスには0.025mg *O.A. salmonicida* (TO-7502)をそれぞれ10尾ずつ背部筋肉に接種し、10日間観察した。



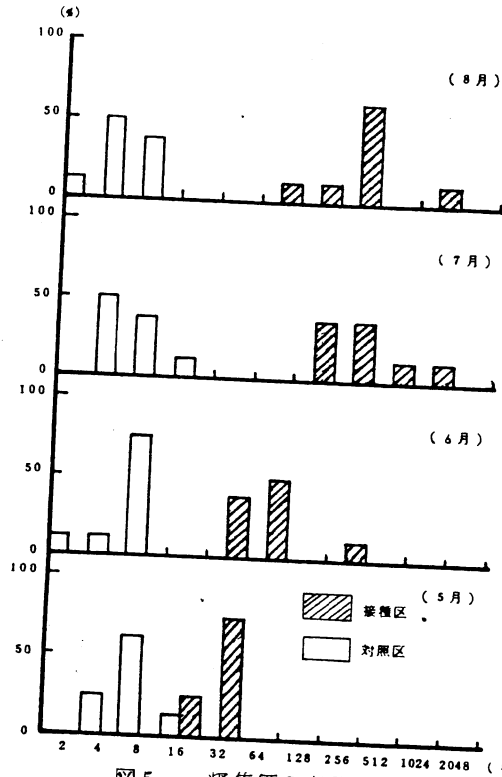


図5 凝集価の変動

その結果は表8のとおりであり、生菌接種によるヤマメの結果からはワクチンの効果は否定的であったが、せつそう病に感染しにくいニジマスにワクチンを接種したものでは生残魚が1尾認められた。

表8 攻撃試験結果(生残魚数)

区	魚種	日数									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ワクチン接種区	ヤマメ	10	10	10	5	1	0				
	ニジマス	10	10	9	8	1	1	1	1	1	1
対照区	ヤマメ	※9	9	9	5	1	0				
	ニジマス	10	10	7	2	0					

※ 接種後一尾が池の外へ飛び出し斃死した。

生菌の筋肉接種による攻撃では一時に大量の菌が接種されるために、ワクチンの効果が必ずしも判定できないので、生菌浴や同居感染などの攻撃方法を検討する必要がある。

## VI せつそう病経口ワクチン投与試験

ヤマメ稚魚に対するせつそう病経口ワクチンの投与試験として、本年度はワクチンの投与回数と投与開始時期について検討した。

### 〔方法〕

- 1) 供試魚および尾数 ヤマメ0年魚 各区5,000尾
- 2) ワクチン投与量 1日1尾あたり0.15mg
- 3) 投与方法 0.85%生理食塩水にとかしクランブルに浸透させた。
- 4) 投与期間 昭和50年1月25日～7月1日
- 5) 試験区分 表8のとおりである。

表8 試験区分

試験区	ワクチンの投与回数と方法
FO-1	餌付から連続21回,以後週2回,合計60回投与
FO-2	餌付から連続21回投与
FO-3	餌付から連続14回,以後週2回,合計30回投与
FO-4	餌付から4週目より連続14回,以後週2回,合計30回投与
対照区	ワクチン投与せず

### 〔結果〕

試験期間中の各区の生残率を図6に示した。

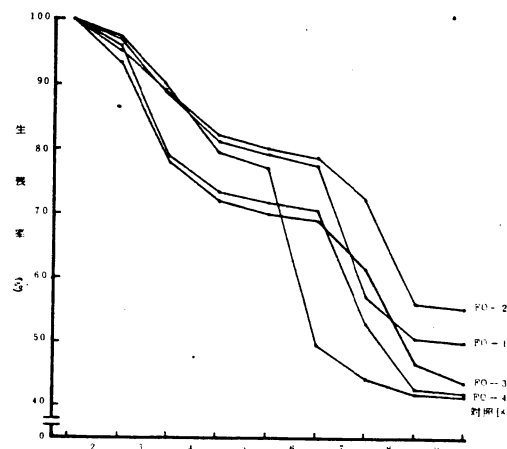


図6 経口ワクチン投与ヤマメの生残率

餌付開始 2～3 ヶ月後に原虫寄生および細菌性鰓病が発生し、各区とも斃死魚が増加した。その後 6 月上旬になると対照区でせっそう病が発生し、他の試験区でも 7 月上旬から中旬にかけてせっそう病の発生が認められた。

せっそう病による斃死だけについて各区の累積斃死率をみると図 7 のようになる。

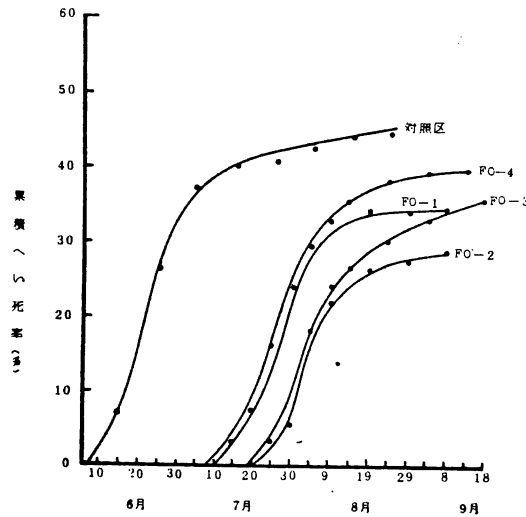


図 7. せっそう病発生時期と斃死率

対照区は 6 月 7 日ごろから斃死魚が増加を始め、6 月 15 日ごろからピークとなり、7 月上旬には斃死率は低下したが 8 月 24 日ごろまで斃死は続いた。他のワクチン投与区では約 1 ヶ月遅れてせっそう病の発生が認められ、各区とも 7 月 15 日から 8 月 10 日ごろに斃死率はピークとなったが、斃死のパターンは対照区と同じであった。

各区のせっそう病の発生時点での、生残尾数に対するせっそう病による斃死率は FO-1 区 35.4%、FO-2 区 28.6%、FO-3 区 35.5%、FO-4 区 39.8%、対照区 44.7% である。

ワクチン投与区では対照区にくらべてせっそう病の発生が明らかに遅れ、斃死率も低くワクチンによる予防効果が認められるが、餌付から 1 ヶ月後に投与を開始した FO-4 区では、他の試験区に比べて斃死率は高くなる傾向にあり、投与開始時期は予防効果を左右する大きな要因と考えられる。

#### [ 考 察 ]

各区の生残率および斃死率を表 10 に示した。

表10 経口ワクチン投与ヤマメの飼育結果

実験区	供試尾数	斃死尾数	生残率(%)	原因別斃死率(%)	
				せつそう病	その他
FO-1	5.000	2.495	50.1	26.4	23.5
FO-2	5.000	2.230	55.4	22.5	22.1
FO-3	5.000	2.305	43.9	24.4	31.1
FO-4	5.000	2.890	42.2	27.9	29.9
対照区	5.000	2.910	41.8	34.2	24.0

せつそう病の斃死率をみると対照区、FO-4、FO-1、FO-2、FO-3区の順で高くなっており、当場の本年度の結果から有効と考えられる投与方法は餌付から連続して21回投与する方法と、餌付から14回連続投与しその後週2回、合計30回投与する方法の2つであった。

ヤマメ稚魚に対して経口ワクチンを投与してせつそう病を予防するためには、餌付け開始と同時にワクチン投与を行うことと、投与日数は連続21回ないしは14回連続投与した後に間歇投与する方法などであろう。餌付開始1ヶ月後からの投与では効果は期待できないといえよう。せつそう病の経口ワクチンを実用化するためには投与量、期間、開始時期等を個別にあるいは相互の関係について検討する必要がある。

〔要約〕

- 1 対照区に比べ、経口ワクチン投与区では発病が遅延する傾向がみられた。
- 2 初期に原虫類等による減耗が大きく、開始時からの斃死率の比較は困難であった。
- 3 予防効果はワクチンの投与開始時期及び投与期間に左右される。

VII せつそう病原菌の薬剤感受性試験

本年度当场及び業者の養魚池で分離された *A. salmonicida* の薬剤感受性試験をディスク法により実施した。

〔方法〕

- 1) 使用培地
  - 増菌用 ハートインフュージョンブイヨン(栄研)
  - 試験用 感性ディスク用培地(ニッスイ)
- 2) 使用ディスク 昭和1濃度ディスク

3) 供試菌株 表11のとおり

表11 供試菌株

菌株記号	分離月日	分離魚種	分離場所
TO-7501	昭和50年7月	ヤマメ0年魚	業者
TO-7502	昭和50年7月	ヤマメ0年魚	分場
TO-7503	昭和50年7月	ニジマス0年魚	分場

〔結果〕

感性度グラフによる判定結果を表12に示した。

表12 判定結果

薬剤名 \ 菌株	TO-7501	TO-7502	TO-7503
スルファモノメトキシ	+++ (51)	+++ (40)	* (11)
スルファジメトキシ	+++ (41)	+++ (35)	+(14)
クロラムフェニコール	+++ (56)	+++ (56)	+++ (54)
テトラサイクリン	+++ (65)	+++ (57)	+++ (57)
オキシテトラサイクリン		+++ (62)	+++ (52)
ナリジクス酸	+++ (63)	+++ (67)	+++ (65)
フラゾリドン	+++ (34)	+++ (25)	+++ (23)
ピロミド酸	+++ (45)	+++ (48)	+++ (49)

( )は阻止円の直径(mm)を示す。

\* 平板上で2重の円が形成され、その内側の円の直径を測定し判定したものである。

VIII 迅速診断法としての蛍光抗体法(F A法)の応用について

せつそり病の病原体である *Aeromonas salmonicida* の検出は、従来の培養法を用いると診断に1日あるいは2日必要である。そこで、抗 *A. salmonicida* 蛍光抗体を用いた迅速診断法について検討を行った。

## 〔材料〕

- 1) 蛍光抗体 宮崎大学北尾忠利教授の御好意により分与されたものである。凍結保存の原液を使用時に融解し、PBS (PH 7.2) で16倍に希釈して用いた。
- 2) 供試菌株 *Aeromonas salmonicida* (TO-7404)
- 3) 供試魚 せっそり病発病群のヤマメ稚魚4尾をサンプリングし供試した。
- 4) 検鏡 ニコンFT型蛍光顕微鏡を用いた。

## 〔方法〕

保存菌株について初めに実験を行い、次に、発病魚群からサンプリングしたヤマメを用いて腎臓からの塗抹標本を作成し、図8のような直接法によって実験した。また、同時に寒天平板培地により *Aeromonas salmonicida* の分離を試み、培養された菌についても塗抹標本を作成した。

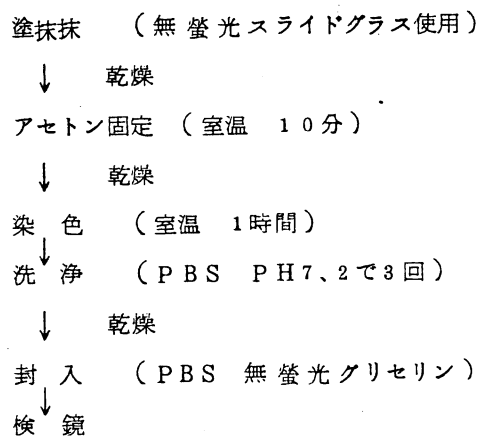


図8 直接法による染色の手順

## 〔結果〕

供試した保存菌株 (TO-7404) については、検鏡することによってはっきりと螢光を発する短桿菌が観察された。ヤマメのせっそり病発病群の塗抹標本の染色結果は写真1、2のとおりであり、FA法と培養法を比較した結果を表13に示した。

表13 ヤマメせっそう病魚についてのF A法と培養法の比較

供試魚 No.	F A法	培養法	培養菌についてのF A法
1	+	+	+
2	-	-	
3	+	+	+
4	+	+	+

F A法と培養法では結果はよく一致し、F A法は迅速診断に有効な方法の1つといえることができる。

〔 考 察 〕

F A法と従来の培養法を比較した場合では結果がよく一致することが判明した。F A法の場合には塗抹から検鏡までに要する時間は2～3時間で、培養法よりはるかに迅速に診断できる。また病魚からの直接塗抹標本でも非特異反応はみられず、病原菌の確認は容易であった。したがって、今回のせっそう病魚による実験から、F A法は従来の培養法と比較して現場における迅速な診断法として明らかに優れているといえる。

〔 要 約 〕

1. F A法と培養法の比較では結果はよく一致した。
2. F A法は迅速、確実であることから現場における診断法として優れている。
3. 病魚からの直接塗まつ標本でも非特異反応はみられない。

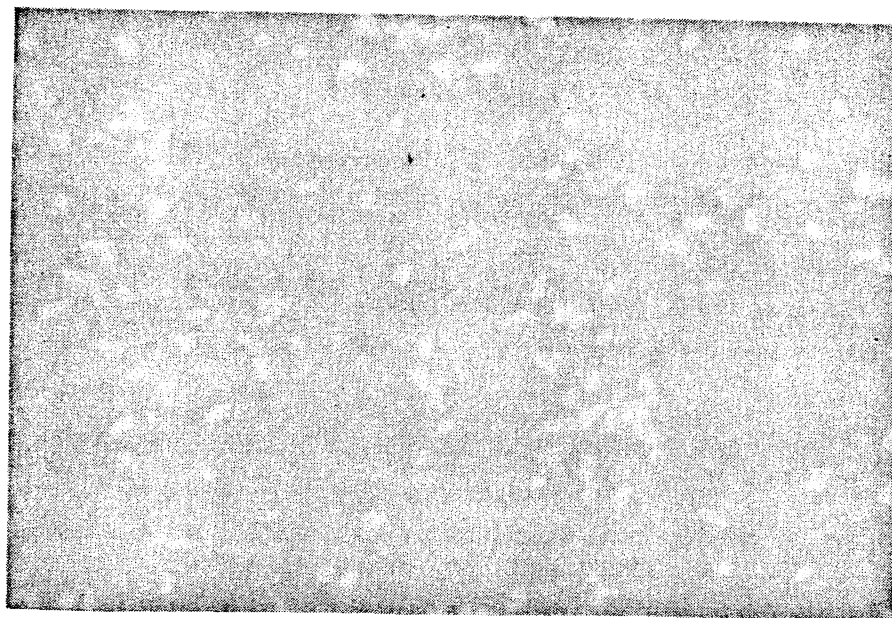


写真1 ヤマメ、体側患部よりの塗抹標本(×400)

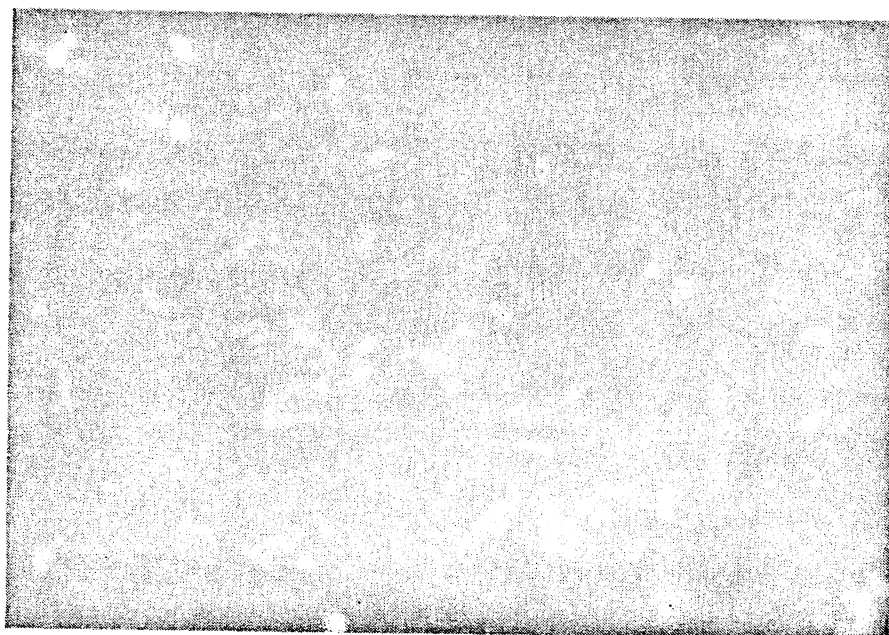


写真2 ヤマメ、腎臓よりの塗抹標本(×400)



昭和50年度 指定調査研究報告集

---

B. 温水性淡水魚の病害研究(穴あき病)

---

昭和51年3月

◎ 研究実施機関：東京都水産試験場 温水魚研究部

◎ 研究担当者：主任研究員 高橋 耿之介  
                  "          川名 俊雄  
                  主    事 中村 多恵子

# 1 50年度の養殖業者および都水試における穴あき病の発生状況

キンギョの穴あき病は、1971年にはじめて疾病がみられて以来、1972、1973、1974年と毎年疾病の発生が続き、1975年春～夏の発生量はまた一段と大きくなった。都内のキンギョ養殖業者のなかには親キンギョの発病のため採卵が困難になったものも出るありさまであった。

都水試養魚池における親魚候補ワキンおよび朱文金の3年間の発病状況は表1のとおりである。

表1. ワキンおよびシュブンキン1年魚の発病状況

(東京都水試養魚池)

調査年 調査月 (年齢)	1973 調査尾数-病魚尾数 (発病率%)	1974 調査尾数-病魚尾数 (発病率%)	1975 調査尾数- <del>発病</del> 病魚尾数 (発病率%)
3 (1.9)		4333-76 (1.7)	4209-710 (16.9)
7 (1.3)	4293-400 (9.3)	4522-511 (11.3)	2339-1698 (72.6)
10 (1.5)			2527-45 (1.8)

1973年7月と1974年3月のものは同じ池で継続して飼育した同一群であり、同じく1974年7月と1975年3月、7月および10月ともそれぞれ同一群である。表からわかるように3月および7月とも1973年から発病率は増加の一途をたどっており、特に1975年の7月の発病率は極めて高かったことがわかる。10月に正確に調べたのは1975年がはじめてであるが、感覚的には1973年、1974年と比べると秋期の発病魚の減少は著しい。おそらく1975年は夏期の高温期間がながかったため、自然治癒したものが多かったものと思われる。

このようにキンギョでは年々被害が大きくなってきたのに対して、イロゴイでは下火の傾向をみせており、1975年の発生は微々たるものであった。

釣堀等のゲンゴロウブナは4月末頃から穴あき病の発生がみられており、1975年は1974年以上の被害がみられた。しかしながら、ゲンゴロウブナの場合は穴あき病の被害よりもむしろ、鰓または腸管に異常がみられる疾病のほうが多いように思われた。秋においてはキンギョと同じように病魚の発生は著しく低下している。

なお、1975年においてはエピスティリス症および真菌性肉芽腫症はみられなかった。

## 2 多摩川における皮膚潰瘍性疾病の発生状況

1973年秋期より1974年秋期にかけて多摩川の魚類相調査を行なったところ、穴あき病と思われる病魚が補獲された。罹病率は近いものであったが、天然水域における調査例は余りないのでそれについて報告する。

### 1) 材料および方法

#### ① 調査地点

多摩川の本流においては上は昭和橋から下は大師橋までの25地点、支流の秋川は5地点、同じく浅川は1地点の合計31地点で、そのようすは図1に示した。

#### ② 調査時期

1973年の秋期から1974年の冬期、春期、秋期と4シーズンに分けて行った。1シーズンの調査期間は2～8週間にわたった。

- |    |          |    |        |
|----|----------|----|--------|
| 1  | 日原川合流点   | 16 | 二ヶ領宿河原 |
| 2  | 川井堰上     | 17 | 二子橋上   |
| 3  | 川井堰下     | 18 | 赤岩     |
| 4  | 柳洲橋      | 19 | 丸子堰上   |
| 5  | 多摩川橋     | 20 | 丸子堰下   |
| 6  | 永田橋      | 21 | ガス橋    |
| 7  | 拝島橋      | 22 | 多摩川大橋  |
| 8  | 多摩大橋     | 23 | 六郷橋    |
| 9  | 日野橋      | 24 | 大師橋    |
| 10 | 関戸堰(床固)上 | 25 | 新井橋    |
| 11 | 関戸堰(床固)下 | 26 | 沢戸橋    |
| 12 | 大丸堰上     | 27 | 東秋川橋   |
| 13 | 大丸堰下     | 28 | 拝島堰    |
| 14 | 多摩川原橋    | 29 | 大沢橋    |
| 15 | 二ヶ領上河原   | 30 | 笹平橋    |
|    |          | 31 | 上日向橋   |

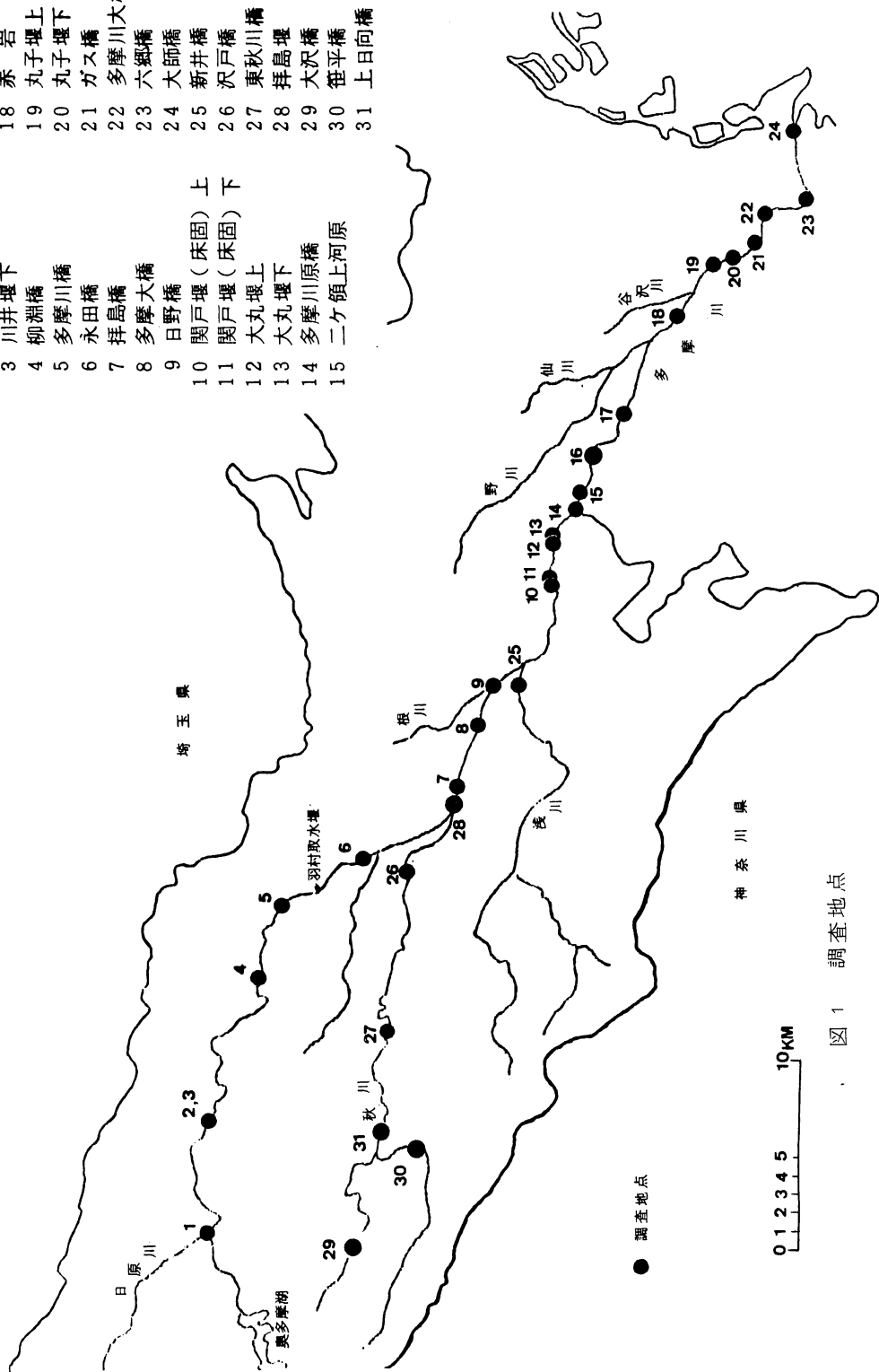


図1 調査地点

### ③ 魚の捕獲方法

魚の捕獲は主として投網により行い、一部の地域は小型の地引網も用いた。投網の操作は各々の地元の漁師に依頼し、日野橋から上流、関戸堰の大部分、大丸堰の大部分および多摩川原橋では徒歩により、他の地点は船上から行った。投網操作回数は状況に応じ各地点20回前後になるように務めた。

### ④ 病魚の調べかた

体表上の潰瘍患部の有無は原則として現地での捕獲時およびホルマリン固定した標本についての肉眼観察により調べた。その基準は明らかに潰瘍を形成しはじめたものとし、ごく軽くてスレ等とまぎらわしいものは含めなかった。これらは著者らの穴あき病の観察<sup>1)</sup>では中期以降のものに当る。

## 2) 結果と考察

内湾性の魚を除いて34種(亜種を含む)の魚が捕獲され、9種の魚に皮膚潰瘍性の患部を持った病魚がみられた。病魚の数はオイカワ 1、コイ 1、ゲンゴロウブナ 9、ギンブナ 19、キンブナ 19、種のおからぬフナ類5、キンギョ 2、タモロコ 1、モッゴ 9、チチブ 1尾の合計67尾であった。これらの病魚が養魚池等でみられる穴あき病と同じ疾病であるかどうかは、これらのほとんどの魚種の病魚がいままでに観察されていないので不明であるが、少なくともフナ類の病魚は養魚池等でいままでに観察した多くのフナ類の穴あき病病魚と外観は同じと思われた。

各調査<sup>時</sup>期別の病魚の出現をみると表2のようになる。ほとんどの魚種の病魚の出現数は少なかったが、フナ類は若干多かった。フナ類のなかではゲンゴロウブナが最も出現率が高く、次いでギンブナ、キンブナの順になっている。時期別にフナ類の合計の病魚の出現率をみると1973年秋期0%、1974年冬期1.3%、同春期2.3%、同夏～秋期5.5%と徐々に高くなってきている。

表 2. 多摩川における穴あき病の出現状況  
(1973年10月～1974年11月, 関戸～多摩川大橋)

	1973年10月4～12月7		1974年2月12～3月5		1974年5月27～6月5		1974年9月13～11月7		計	
	調査尾数- 病魚尾数	出現率 (%)	調査尾数- 病魚尾数	出現率 (%)	調査尾数- 病魚尾数	出現率 (%)	調査尾数- 病魚尾数	出現率 (%)	調査尾数- 病魚尾数	出現率 (%)
投										
ギンブナ	606-0		358-5	1.4	170-0		321-14	4.4	1455-19	1.3
ギンブナ	150-0		162-0		136-8	5.9	131-10	7.6	579-18	3.1
ゲンゴロウブナ	44-0		83-3	3.6	25-1	4.0	28-4	14.3	180-8	4.4
キンギョ	0-0		0-0		0-0		1-1		1-1	
フナ※	1-0		170-2	1.2	48-2	4.2	42-0		261-4	1.5
フナ計	801-0		773-10	1.3	479-11	2.3	523-29	5.5	2476-50	2.0
モツゴ	585-0		593-0		62-2	3.2	200-1	0.5	1550-3	0.2
ギンブナ	5-0		17-0		27-0		3-1		52-1	1.9
ゲンゴロウブナ	8-0		4-0		0-0		2-1		14-1	7.1
キンギョ	0-0		0-0		1-1		0-0		1-1	
フナ※	29-0		328-1	0.3	47-0		6-0		410-1	0.2
フナ計	126-0		708-1	0.1	231-1	0.4	84-2	2.4	1149-4	0.3
モツゴ	6071-0		11240-0		4429-5	0.1	3298-1	0.0	25038-6	0.0
タモロコ	52-1	1.9	160-0		3-0		58-0		273-1	0.4
コイ	19-0		43-1	2.3	36-0		10-0		108-1	0.9
チチブ					1-1		8-0		9-1	11.1
オイカワ	582-0		6163-1	0.0	338-0		9371-0		16454-1	0.0

※ 分類できなかった

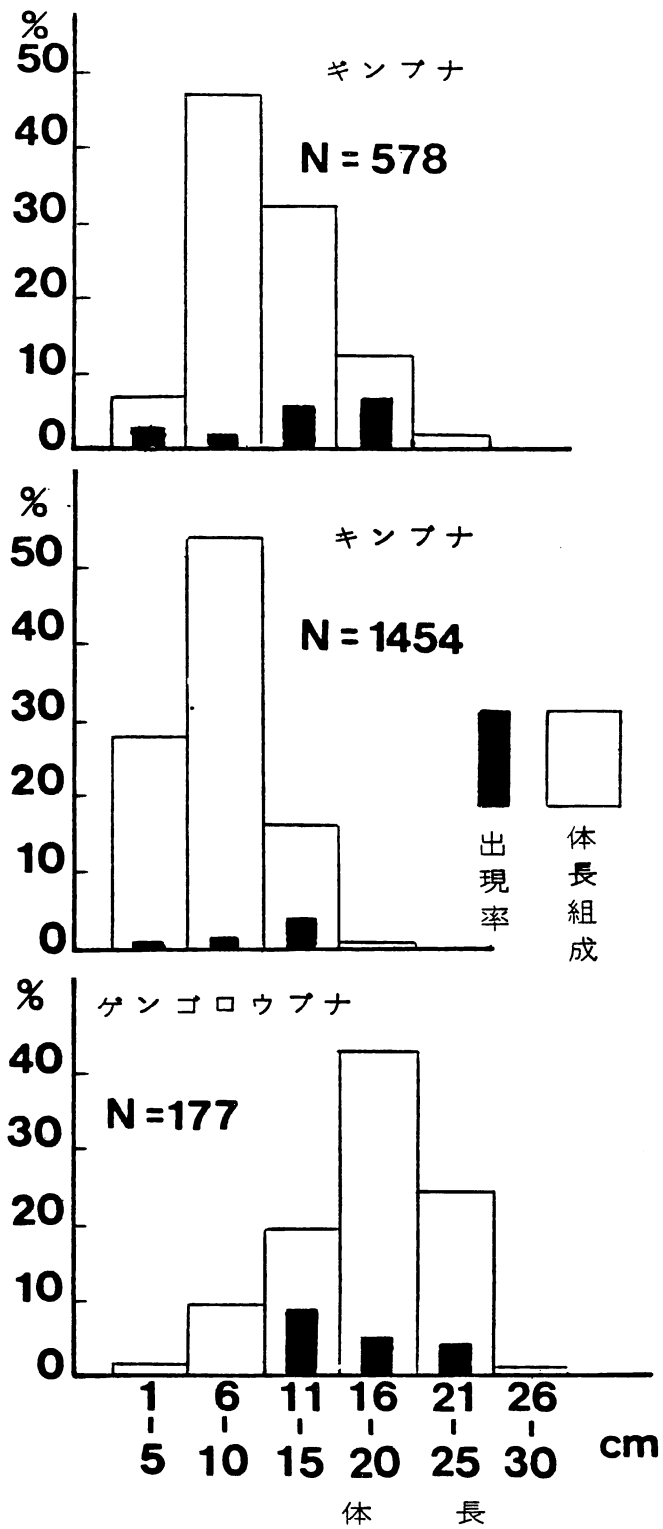


図2 フナ類の体長別の病魚の出現率

3種のフナ類の体長別の病魚の出現率を図2に示した。図からわかるようにフナ類は体長4.5 cm以下の病魚は全くみられていない。多摩川におけるフナ類の満1年魚のモードは4~7 cmと考えられていることから、フナ類の病魚は1年魚以上のものと判断される。また、キンブナ・ギンブナは体長が大きくなるにつれて病魚の出現率は高くなっており、高令魚のほうが発病しやすいといわれていることと一致している。ゲンゴロウブナの病魚は体長11~15 cmのものにピークがみられ、若干趣を異にしている。なお、モッゴも病魚の最小体長は4.0 cm(1974年6月)で、少くとも越冬魚と思われることから、やはり稚魚の病魚はいなかったと判断される。

穴あき病は生簀等に収容して魚の収容密度を高くすると発生しやすいことから、水質条件が悪くなると発病が助長されると考えられる。そこで多摩川の1年間の水温の変化とNH<sub>4</sub>-Nの増減について調べてみた。その結果は図3のとおりである。図に用いた水温とNH<sub>4</sub>-Nの値は1973年4月~1974年3月の1年間に東京都公害局および建設省で調査したもので、各地点毎月4~8回の観測値から月平均値を算出し、更にそれを年平均(単純平均)にしたものである。従って、図中の水温の範囲というのは月平均の1年間の範囲を意味している。図からわかるように、フナ類は水温の範囲の上限が16℃を越える多摩川橋から下流に出現がみられ、病魚は水温の範囲の下限が5℃を越える関戸壱から下流に出現している。更にこの5℃を越える範囲のなかではNH<sub>4</sub>-Nが2.5 ppm以上の地域に集中して病魚の出現が多くなっている。このように水温とNH<sub>4</sub>-Nの値と病魚の出現とは関連があるようにみえるが、これは単に現象としてそのようにみえるだけかもしれない。この病魚の多くみられた範囲というのは同時に河川形態が主として淵を形成する地域となっており、衰弱した病魚が逃げこんだり、または流下してきている可能性も考えられる。いずれにしても病魚の発生と水質との関係を究明するには更に多くのデータの積みかさねが必要であろう。



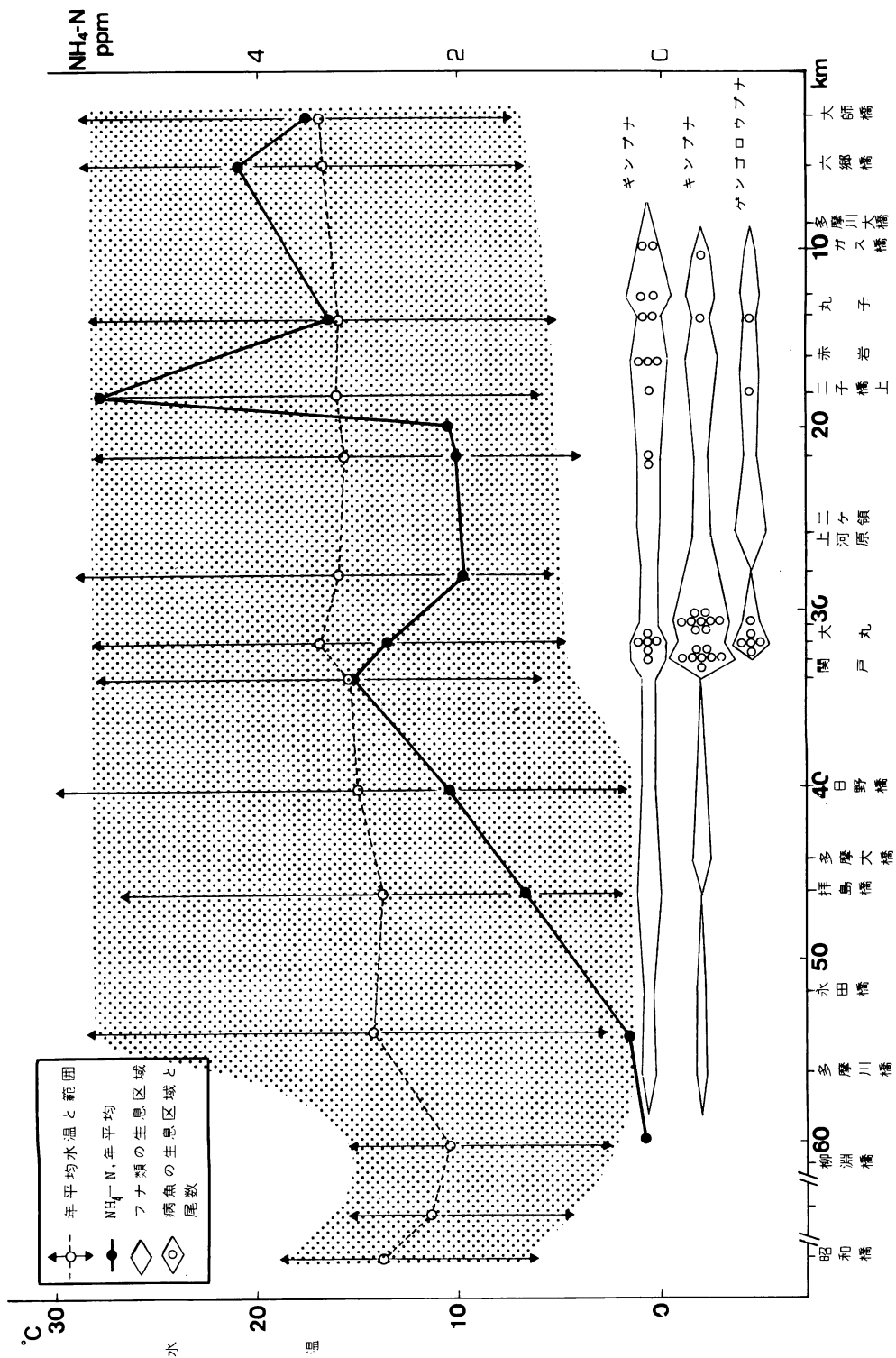


図3 フナ類の病魚の出現域と水温、アンモニアの変化

### 3 皇居外濠における皮膚潰瘍性疾病の発生状況

皇居外濠の魚類相を調査したところ、穴あき病と思われる皮膚潰瘍病魚を捕獲できたのでその状況について報告する。なお、本調査での捕獲魚は捕獲後直ちに計測し、再び放流しているため、患部の組織学的追求や真菌性肉芽腫症であるかどうかの確認はできていないが、ゲンゴロウブナにみられた患部の肉眼所見は穴あき病といわれている疾病と同じと思われた。

#### 1) 材料および方法

皇居外濠の12濠を9月5～9日にかけて調べた。そのようすは図4に示した。魚の捕獲はすべて船上よりの投網によった。投網の目は主として5cmと3cmの二種を用い、その操作は多摩川漁協の漁師に依頼した。魚は各濠で捕獲後キナルジンで麻酔をかけ全長、体長、体高、体重等を計測し、病患部および治癒患部の状況を観察し、直ちに放流した。

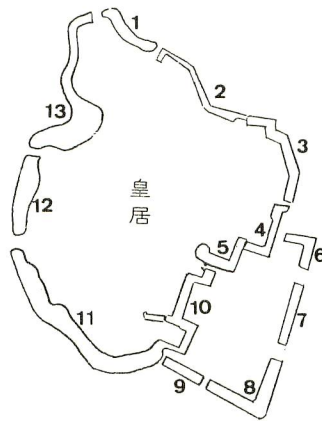


図4 調査した皇居外濠の名称

- |         |          |
|---------|----------|
| 1. 片ヶ淵  | 8. 日比谷濠  |
| 2. 清水濠  | 9. がいせん濠 |
| 3. 大手濠  | 10. 湊池   |
| 4. 桔梗濠  | 11. 桜田濠  |
| 5. 蛤濠   | 12. 半蔵濠  |
| 6. 和田倉濠 | 13. 千鳥ヶ淵 |
| 7. 馬場先濠 |          |
- ✦ (桜田濠と連続)

#### 2) 結果と考察

中・大型魚としてハクレン、コイ、イロゴイ、ゲンゴロウブナ、キンブナ、ギンブナ、ナマズ、カムルチー、オオクチバスの9種が捕獲され、うちハクレン、コイ、イロゴイ、ゲンゴロウブナ、ギンブナ、カムルチーの6種に皮膚の潰瘍がみられた。そのようすは表3に示した。表からわかるように最も病魚の出現率が高かったのはハクレンで次いでゲンゴロウブナであった。ハクレンの患部は経約3～4cmの浅く凹んだように筋肉の露出した潰瘍性の患部が

表 3. 穴あき病（皮膚のかいよお）発生状況<sup>1</sup>

	ハクレン	コイ	イロゴイ	ゲンゴロウブナ	ギンブナ	キンブナ	ナマズ	カムルチ	オオグチバス
はまぐり	1-1-0-0	10-1-0-9		43-24-16-3	2-1-0-1				
さきょう		6-1-0-5	2-1-0-1	6-3-2-1			1-0-0-1		
和田倉			1-0-0-1	9-5-3-1	1-0-0-1				1-0-0-1
大		11-0-1-10		58-6-23-29	3-0-0-3	1-0-0-1		1-0-0-1	
清水		2-0-0-2		3-1-1-1	3-0-0-3		1-0-0-1	1-1-0-0	
牛ヶ淵				5-0-0-5		9-0-0-9			
千鳥ヶ淵	28-17-3-8	14-4-0-10	20-2-0-18	12-9-0-3	6-5-0-1				
半蔵	2-0-0-2	1-0-0-1			4-0-1-3			1-0-0-1	
こお池 <sup>2</sup>		14-0-2-12					1-0-0-1		
桜田		8-0-0-8	1-1-0-0	9-3-2-4			4-0-0-4		
がい旋		7-0-5-2		3-0-0-3	7-0-2-5		1-0-1-0		
日比谷			4-0-0-4	13-1-4-8	1-0-0-1				18-0-1-17
馬場先		1-0-0-1	1-0-0-1	10-2-6-2	4-0-1-3				1-0-0-1
合計	31-18-3-10	74-6-8-60	29-4-0-25	171-54-57-60	31-6-4-21	10-0-0-10	8-0-1-7	3-1-0-2	20-0-1-19
病魚 捕獲数 ×100	5.8%	8%	1.4%	3.2%	1.9%				
病魚+治ゆ魚 捕獲数 ×100	6.8%	1.9%	1.4%	6.5%	3.2%				

注：1. 捕獲尾数一進行中病魚一治ゆこん跡魚一健康魚（こん跡なし）

2. 桜田様と同一の様であるが、管理系統が異なるため区別している。

形成されている場合と、経約1 cmの小さくてやや深く穿孔状に患部が形成されている二通りがみられた。ハクレンに潰瘍性の疾病がみられた例は知られておらず、霞ヶ浦の1971～1972年の真菌性肉芽腫症による皮膚潰瘍病の大発生の場合<sup>2)</sup>でも、19種の魚に被害がみられながらハクレンの病魚は全くみつかっておらず、今回がはじめてである。なお、今回みられたハクレンの患部の外観はいわゆる穴あき病とは多少異なるように思われた。しかしゲンゴロウブナの場合の患部はいままで養魚池等でみられた穴あき病と変らなかった。また、ハクレンとイロゴイの場合には治癒魚は少なかったが、コイ、ゲンゴロウブナは治癒魚と病魚はほぼ同数みられた。しかし、病魚の患部は全体としては治癒に向いつつあるものが多かった。なお、これらの治癒患部のほとんどはまだ新しく今年度罹病したものが主であると判断された。外濠の水温は15時の測定では28.0℃であり、全体としては治癒に向いつつあるとはいいながら水温の高い割にはまだ病魚が多いように思われた。

#### 4 1974年度に患部より分離した菌の生化学的性状

1974年に病魚患部から分離した菌のうち、復元実験に供した菌の生化学的性状検査の結果については、1974年度の報告書<sup>3)</sup>に記載できなかったため本年度に報告する。

##### 1) 材料および方法

- ① 試験に供した菌の分離方法  
すでに昨年度報告した。<sup>3)</sup>
- ② 性状検査の方法

グラム鑑別はRyuの鑑別法により、硫化水素の産生性はSIM培地およびTSI培地により、インドール産生性とIPA産生性はSIM培地により、またグルコースからの酸とガスの生成もTSI培地により検査した。チトクロームオキシダーゼはオキシダーゼ試験紙(日水)により、硝酸塩還元性はINペプトン培地を用いてTittsler法により、MR試験はブドウ糖リン酸ペプトン水培地(栄研)により、VP反応はVP半流動培地(栄研)を用いてBarrett法により、KCNによる発育阻害の有無はKCN基礎培地(栄研)により、ゼラチンの液化は高層により20℃で1週間および2週間後の観察により、カゼインの加水分解は寒天平板法により、ウレアーゼの活性は尿素培地(栄研)により、リジン・アルギニン・オルニチンのデカルボキシラーゼ活性はFalkowの方法により、フェニルアラニンデアミナーゼの活性はフェニルアラニンマロン酸培地(栄研)により、

クエン酸塩の利用性はシモンズクエン酸培地（日水）により、マロン酸塩の利用性はマロン酸塩培地（栄研）により検査し、グルコン酸塩の利用性はHaynesの方法によりBenedictの試験紙で判定した。炭水化物よりの酸の産生はエスクリン以外は糖分解用半流動培地（栄研）を基礎培地として、エスクリンは寒天平板法により検査した。そのほか基礎培地としてはトリプトソヤ寒天培地を用い、温度は25℃で行なった。

## 2) 結果と考察

菌の生化学的性状を表4に、炭水化物存在時の酸またはガスの産生性を表5に示した。なお、復元実験に供した菌のうちC2株はそのコロニーの特異的性状から *Alexibacter columnaris* と判断されたので、またC11株は病原性が認められなかったことと、C培地のみしか生えず、且つ特異的なコロニーであることから若林等の報告している *Azyxobacteria* の1種と同じと考えられたので性状を調べなかった。

これらの性状検査の結果をBergey's manual 8版により検索してみると、B1株は *Pseudomonas* にB2、TS4、U4株は *Seromonas hydrophila* にB3、B4株は *Citrobacter* に、TS1株、U1株、MH5株、MH3株は *Moraxella* にTS2株は *Scinetobacter* と考えられた。

表 4. 菌の生化学的性状

検査項目	菌の番号											
	B2	TS4	U4	B3	B4	B1	TS1	U1	MH5	MH3	TS2	U2
グラム (RYUの鑑別)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
運動性 (検鏡)	+	+	+	+	+W	+	-	-	-	-	-	-
(SIM)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
空気中での発育	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
チトクロムオキシダーゼ	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-
O-F (Hugh-Leifson) 試験	F	F	F	F	F	O(-)	-	-	-	-	-	-
グルコースの利用	+G	+G	+G	+	+G	+	-	+W	-	-	-	-
硫化水素産生性 (SIM)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
(TSI)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
(ペプトンから)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
インドール産生性 (SIM)	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
IPA 試験 (SIM)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
硝酸塩還元性	+	+	+	+	+	-	±	±	-	-	-	-
MR 試験	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
VP 反応	+W	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KCNによる発育阻害	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
ゼラチンの液化	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
カゼインの加水分解	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,3ブタンジオールのヒドロゲナーゼ	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
リジンデカルボキシラーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ウレアーゼ	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
フェニルアラニン デアミナーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
リジン デカルボキシラーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
アルギニン デカルボキシラーゼ	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
オルニチン デカルボキシラーゼ	-	-	-	-	+W	-	-	-	-	-	-	-
クエン酸塩の利用 (Simmons)	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
マロン酸塩の利用	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
グルコン酸塩の利用	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Mac Conkey 寒天での発育	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
5℃における発育	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37℃における発育	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42℃における発育	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
7.5% NaCl 下における発育	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

G: ガスの産生がみられるもの、 W: 弱い

表5. 菌の炭水化物利用性

炭水化物	菌の番号											
	B 2	TS 4	U 4	B 3	B 4	B 1	TS 1	U I	MH 5	MH 3	TS 2	U 2
グルコース	+G	+G	+G	+G	+G	+	-	+W	-	-	-	-
サッカロース	+G	+G	+G	+G	+G	+W	-	-	-	-	-	-
ラクトース	-	-	-	-	+G	-	-	-	-	-	-	-
アラビノース	+	-	-	+	+W	-	-	-	-	-	-	-
マルトース			+G	+G	+G	-						
キシロース				+	+G	-						
トレハロース			+G	+G	+G							
ラムノース			-	-	+G							
ガラクトース	+G	+G	+G									
スクロース	+G	+G	+G									
マンニット	+G	+G	+G	+	+	-	-	-	-	-	-	-
ズルシット	-	-	-	-	+G	-	-	-	-	-	-	-
イノシット	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
アドニット				-	-							
ソルビット					+							
グリセリン	-	+G	+G	+								
サリシン				+G	+G	-						
エスクリン	+	-	-	+	+							

G: ガス産生 W: 弱い

## 5 病魚からの菌の分離と復元実験

1974年に病魚の患部から菌の分離を行い、復元実験により致死性は低く、皮膚に潰瘍形成能の高い *Aeromonas hydrophila* (U4株) を分離できた。しかしながら、この菌株の接種では自然感染魚にみられるような前方への患部の進行は全くみられず、発病には他に先行菌の存在の可能性や何か他の要因の存在が考えられる。そこで本年度再度培地をかえて菌の分離と復元実験を試みた。なお、*Aeromonas hydrophila* は血行性の菌と考えられているので、皮膚患部のみならず血液、腎臓からの分離も試みた。

## 1) 材料および方法

### ① 供試病魚

都水試養魚池で6月に発生した1年魚の初期病魚10尾および中期病魚10尾を用いた。

### ② 菌の分離方法と使用培地

菌の分離部位と使用培地の組合せは表6のようにした。

表6. 病原菌の分離法

検査部位	病魚の程度	塗沫	培養 - 使用培地
患部	初期	○	U B Y A C O CP
	中期	○	U UB Y A C O CP B
血液	初期	-	-
	中期	○	U UB B Y A C
腎臓	初期	-	-
	中期	○	U B Y A C

注) U: ユーゴン寒天培地、UB: ユーゴンチョコレート寒天培地、B: プレイハートインフュージョン寒天培地、Y: YCC寒天培地、A: アネロブ培地、C: 改良チトファーガ寒天培地、CP: 改良チトファーガパラフィン寒天培地、O: 1%小川培地のそれぞれ略。

患部からの菌の分離は a) 初期患部の表面を白金耳でとる、 b) 初期患部の鱗の下に白金耳を挿入する、 c) 中期患部の前縁の鱗の下に白金耳を挿入する。そののちそれぞれ培地に塗沫する三通りの方法で行った。血液は病魚の下半身を70%アルコールに浸漬して滅菌し、尾柄を切断して培地上に血液を滴下させ、のち白金耳で塗沫した。腎臓は同じように魚体を滅菌してから開腹し、白金耳を腎臓に穿入させて後培地に塗沫した。なお、使用培地はC培地以外は市販(栄研)のものを用い、UB培地は市販のユーゴン培地とコイ血液を用いて作製した。また培養温度は20℃とし、UB培地とA培地はろうそく培養によった。

### ③ 復元実験の方法

皮下接種のみとし、1菌株の接種尾数は5尾とした。また接種菌量は $1^{mg}/100g$  魚体重とし、その他の設定方法は昨年度<sup>3)</sup>と全く同じとした。

## 2) 結果と考察

菌の検出状況は表7のとおりであった。



表7. 菌の検出状況

表中の数字は菌の検出がみられた魚の尾数  
 アルファベットは使用した培地の種類を示す

	塗 沫			培		養	
	患 部	血 液	腎 臓	患部表面	患部鱗の下	血 液	腎 臓
初期 病魚 (10尾)	10	/	/	U - 9	U - 9	/	/
				B - 9	B - 10		
				Y - 9	Y - 6		
				A - 8	A - 8		
				C - 9	C - 10		
				CP - 10	CP - 10		
				O - 8	O - 9		
中期 病魚 (10尾)	10	3	1	/	10 すべての 培地	UB - 5	U - 3
						U - 6	B - 2
						B - 6	Y - 2
						Y - 4	A - 3
						A - 5	C - 4
						C - 6	

患部からの菌の検出は塗沫ではすべての病魚にみられ、培養の場合には初期患部では培地によっては1~4尾検出されないものがあつたが、すべての培地で全く菌が分離培養されなかつた個体はなかつた。

血液からの菌の分離培養は培地によっては4~6尾が検出されなかつた。すべての培地で全く菌が検出されなかつたものは3尾であつた。同様に腎臓は各培地で6~8尾が検出されず、うち4尾はすべての培地で全く菌が検出されなかつた。

8種類の培地と20尾の病魚を用いて分離できた多くの菌株を培地上のコロニーの性状により類別し、各代表株を2~4株選び復元実験に供した。用いた菌株は86株でそのうち32株に毒性がみられた。そのようすは表8に示した。患部からUB培地とB培地を用いて分離した菌に毒性を有するものが多く、U培地およびCP培地を用いて分離した菌のなかには毒性を有する菌はなかつた。U培地は昨年は皮膚に潰瘍形成能の強いU-4株を分離しており、昨年の結果と異なる。これらの毒性を有した菌の毒性の程度は表9に示した。

表 8. 復元実験により毒性のみられた菌株数

分離部位 使用培地	皮膚患部		血液		腎臓	
	接種菌株数	毒性を有した 菌株数	接種菌株数	毒性を有した 菌株数	接種菌株数	毒性を有した 菌株数
U B	14	10	1	0		
U	8	0	3	2	5	1
B	8	7			2	2
Y	1	1	1	1		
A	6	2			3	0
C	12	2	3	1	5	1
C P	6	0				
O	6	2			2	0
計	61	24	8	4	17	4

表9. 毒性のあった菌の毒性の程度

菌の分離部	菌番号	腫れ	表皮の壊死剝離	充血または出血	致死性	穴あき症状
皮膚	UB-2-11	+++	+++	+	+++ (5%)	不明
	UB-2-12	+++	+++	-	-	++ (3%)
	UB-2-20	++	+	±	-	-
	UB-5-13	++	±	-	-	-
	UB-5-16	+++	++	+	+++ (5%)	不明
	UB-5-18	+++	++	+	+++ (4%)	±
	UB-5-20	+++	++	-	-	++ (3%)
	UB-6-16	+++	++	-	++ (3%)	++ (3%)
	UB-8-12	+++	++	-	-	++ (3%)
	UB-8-20	+++	++	±	++ (3%)	++ (3%)
患部	B-1-2	+++	++	+	++ (3%)	++ (3%)
	B-1-20	+++	++	+	-	+++ (5%)
	B-3-13	+++	+++	-	+++ (4%)	+
	B-3-19	+++	+++	+++	+++ (5%)	不明
	B-3-20	+++	++	+	+++ (5%)	"
	B-6-4	+	+++	+	+++ (5%)	"
	B-6-7'	+	+++	-	+++ (5%)	"
	Y-3-17	+++	++	++	-	-
	A-3-1	+++	+++	-	+++ (5%)	不明
	A-3-2	+++	+++	++	-	+++ (4%)
血液	C-1-2'	++	+++	+	+++ (4%)	++ (4%)
	C-1-13	++	+	-	-	-
	O-4-7	+	±	+	-	-
	O-4-7'	+	±	+	-	-
	U-6-12"	+++	+++	+	+++ (5%)	不明
	U-8-12"	++	++	+	+++ (4%)	++ (3%)
臓	Y-2-12"	++	++	-	++ (3%)	± (1%)
	C-1-12"	+++	++	+	-	++ (1%)
	U-10-15'	-	-	+	-	-
	B-1-18'	+++	++	+	+++ (4%)	++ (1%)
B-3-18'	+++	++	+	-	-	
C-1-18'	+++	++	+	++ (1%)	+++ (4%)	

※ 2番目の数字は病魚の個体番号で1~10は初期病魚、11~20は中期病魚を示す。

患部からの分離有毒菌 24 株のうち 7 株は極めて毒性強く、接種後 2 ~ 4 日で接種魚はすべて死亡した。また 10 株に多かれ少なかれ皮膚に潰瘍形成能がみられた。血液からの分離有毒菌 4 株のうち 1 株は極めて毒性がつよく、2 株に弱い潰瘍形成能がみられ、同じく腎臓からの有毒菌 4 株のうち 2 株は皮膚に潰瘍を形成した。

## 6 分離菌の生化学的性状

昨年度病魚患部より分離した菌の主なものは *Aeromonas hydrophila*, *Flexibacter columnaris*, *Pseudomonas*, *Moraxella* 等であり、*A. hydrophila* (U 4 株) に皮膚に潰瘍形成能の強いものがみられた。本年度も復元実験の結果皮膚に潰瘍形成能の強い菌がみられたのでそれらの菌を中心として生化学的性状を調べた。

### 1) 材料および方法

菌株は復元<sup>元</sup>実験の結果毒性を有した菌を用いた。生化学的性状の検査は昨年度と同じ方法によった (~~44~~<sup>37</sup> 頁参照)

### 2) 結果と考察

結果を表 10 に示した。

まだすべての作業が終了していないので結論的なことはいえないが、化学性状を調べた菌のほとんどのものが *Aeromonas hydrophila* と考えられる。

*Aeromonas hydrophila* は昨年<sup>元</sup>の試験結果でもかなり関与度が高いと考えられる菌株 (U - 4 株) が分離されており、穴あき病に強く関与する菌として無視するわけにはいかないと思われる。

表 10. 毒性を有した菌の生化学的性状

分離部位 菌番号	皮膚患部										血液				腎臓									
	UB-1 2-11	UB-1 2-12	UB-1 2-20	UB-1 5-13	UB-1 5-16	UB-1 5-20	UB-1 6-16	UB-1 8-20	B- 3-19	B- 6-7	Y- 3-17	A- 3-1	A- 3-2	C- 1-2	C- 1-13	O- 4-7	O- 4-7	U- 6-12	U- 8-12	Y- 2-12	C- 1-12	U- 10-15	B- 3-18	O- 1-18
グラム (Hucker 変法)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(Ryu の鑑別)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
運動性 (鏡)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(SIM 培地)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
空気中での発育	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
チトクロムオキシダーゼ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O.F. (Hugh-Leifson) 試験	F	O	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
硫化水素 (SIM 培地)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(TSI 培地)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
インドール産生 (SIM)	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LPA 試験 (SIM)	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
硝酸塩還元性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MR 試験	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP 反応	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ゼラチンの液化	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2, 3-ブタンジオール・ヒドロゲナーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
リジン・デカルボキシラーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
アルギニン・デカルボキシラーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
オルニチン・デカルボキシラーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
クエン酸塩の利用	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
グルコースの利用	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0% NaCl での発育	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

## 7. 病魚患部と腎臓の病組織像および復元実験魚の病理組織像

穴あき病は460 $\mu$ mより大きい病原微生物が存在して起ると考えられており、すでに病魚よりの菌の分離の努力がなされている。分離菌の復元実験の結果、皮潰瘍形成能の強い菌が分離されているが、その接種時の外観所見は自然発病魚のそれと若干異なるように見える。また病魚によっては骨まで露出するような病変を起しながら、内臓に病変がみられないと考えられているのも納得のいかないところである。そこで病魚の皮膚患部と腎臓および復元実験によって出来た皮膚潰瘍部の病理組織像の追求を行った。

### 1) 材料および方法

#### ① 供試病魚

都水試で1975年6月に養魚池より取り揚げたワキン1年魚のうち、外観上正常と思われるもの10尾、進行中の中期病魚10尾、およびさまざまな治癒過程の病魚12尾を用いた。

#### ② 供試復元実験の病変魚

復元実験において有毒菌の接種により病変を起した供試魚のうち、UB-2-12株、UB-2-20株、UB-5-18株、UB-5-20株、UB-6-16株、UB-8-12株、UB-8-20株、B-1-2株、B-1-20株、B-3-18'株、C-1-12'株、C-1-18'株、O-4-7株、O-4-7'株、の接種により病変を起した魚を用いた。

#### ③ 組織標本の作製法

組織はブアン液で固定し、皮膚組織はPlank-Rychlo液で脱灰した。皮膚患部は患部の中心を上下に二つに切断し、患部の前縁と後縁を1つの切片でみられるように作った。なお組織は常法によりパラフィン切片とした。

染色はWeigertの鉄マトキシリン-エオシン染色、アザン染色およびギムザ染色の三通りを行った。

### 2) 結果と考察

## 8. 病魚の血液性状

穴あき病の特徴の1つは、その患部の損傷の大きい割には死亡率の低いことである。当然血液もかなり影響を受けているはずと考えられるのでそれについて調べた。

## 1) 材料および方法

### ① 供試魚

1975年<sup>7</sup>6月に都水試の養魚池からとりあげたワキン1年魚のうち、外観上健康と思われる魚10尾といろいろの過程の病魚50尾、および10月に養魚池からとりあげた同じ系群の外観上健康と思われる1年魚10尾と0年魚10尾を用いた。

### ② 採血方法

尾柄切断により採血した。

### ③ 測定項目と方法

ヘマトクリットは微量毛細管法により、ヘモグロビンはシアンメトヘモグロビン法により、赤血球数は血球算定盤により測定した。

## 2) 結果と考察

測定結果を図5に示した

長

内

一

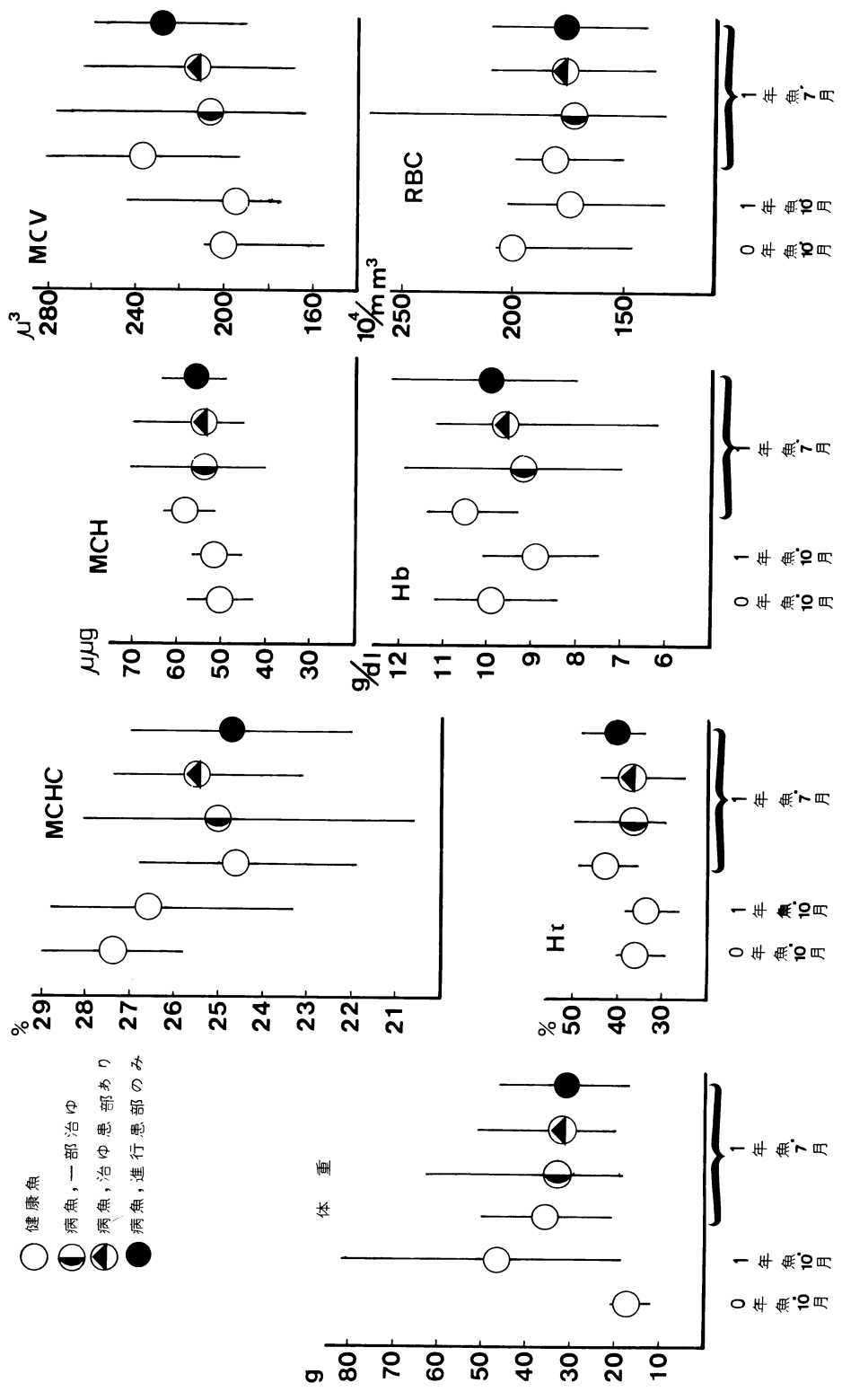


図5 病魚の血液性状



7月の1年魚の場合の病魚と健康魚とを比較すると、病魚のほうが値のばらつきが大きく、ヘマトクリット、ヘモグロビン量、赤血球数とも健康魚よりやや低下している。この健康魚と病魚との差は、7月の1年魚と10月の1年魚および10月の0年魚の各々の正常魚を比較した場合の差よりも小さく、血液性状値の違いと罹病状況の違いとの間に関連があるとは判断しがたい。従って、ヘマトクリット、ヘモグロビン量および赤血球数の値は罹病の影響よりも、季節的なもの、水温等の影響のほうが大きいと考えられる。

## 9. ニフルプラジンの薬浴による予防効果

観賞魚であるキンギョやイロゴイは一旦穴あき病にかかると、たとえ治癒してもその値は著しく低下してしまうため、治癒法よりも予防法を確立することが先決となる。

業者の間には予防法としてフラン剤の薬浴が広く使われているが、フラン剤は一般に高価で池全体に撒布するには不向きである。そこでとりあげ時などになるべく短時間の薬浴で有効な適正濃度と薬浴時間を求めることを目的として予防実験を試みた。

### 1) 材料および方法

#### ① 供試魚

都水試の養魚池で養成されたワキン1年魚で、7月に池からとりあげたものなかから外観上異常のないものを選び実験に供した。なおこの時とりあげた魚の76%は穴あき病にかかっており、とりあげた時の操作で供試魚も十分に感染したと考えられたので、特に人工感染させる操作は行わなかった。

#### ② 使用薬剤と薬浴法

都内ではニフルプラジンを使用している業者が多いのでニフルプラジンを用いた。使用濃度は0.5、1、2 P P mの3通りとし、それぞれ1時間と4時間薬浴させた。薬浴はポリエチレンコンテナを用いて室内で行った。所定の濃度と時間で薬浴させたのち実験池に移した。

#### ③ 実験池

あらかじめ塩素剤で消毒し、のち水道水で洗浄した30 m<sup>2</sup>のコンクリート池を用いた。使用水は水道水を2日間曝気したものを用い、よしずにより日覆いをして水温の上昇を防いだ。実験期間は発病魚から二次的な感染を考慮して7日間とし、実験中は換水と投餌は行わなかった。

## 2) 結果と考察

結果を表11に示した。

表11 穴あき病 予防実験結果

使用薬剤	濃度 PPm	薬浴時間 時間	供試尾数	発病魚 尾(%)	出現患部数		10時の水温°C (範囲)
					初期	中期	
対照区	0	0	40	21(52)	12	14	21.6~24.6
ニフルプラジン	2	1	40	4(10)	4	0	21.5~24.2
ニフルプラジン	1	1	40	4(10)	4	0	21.5~24.1
ニフルプラジン	0.5	1	40	3(8)	3	0	21.5~24.4
ニフルプラジン	2	4	40	4(10)	4	0	21.5~24.5
ニフルプラジン	1	4	40	6(15)	6	0	21.5~24.5
ニフルプラジン	0.5	4	40	3(8)	3	0	21.2~24.1

表からわかるように、対照では52%の発病がみられたのに対し、薬浴したものは8~15%とあきらかな差がみられ、ニフルプラジンはかなり発病をおさえることがわかった。今回設定した0.5、1、2PPmの濃度と1および4時間の薬浴時間差では発病率に傾向のある差はみられなかった。従って、ニフルプラジン0.5PPm、1時間の薬浴で充分といえるが、全く発病がおさえられたわけではないので、薬浴だけでは対策として不十分といえる。これはまた、対照に中期患部が14ヶ所みられたのに試験区は全くみられなかったことと、試験区の初期患部数が対照の1/4~1/2であったことをあわせて考えると、試験区は対照区よりも遅れて発病または進行したとみなすことができよう。従って、薬剤の濃度および薬浴時間に関係なくどうしてもどこかに関与する菌が残ってしまうことを意味しており、予防措置として更に検討の余地が残されている。

### 10. ビタミン剤と燐酸塩の投与による予防効果

穴あき病の罹病魚の多い池の魚は経験的な感覚から皮膚が弱くなっていると指摘する養殖業者が多い。また微量栄養素のアンバランスまたはなにか抗ビタミン物質<sup>の</sup>存在が関与しているのではないかと考えるものもあり、栄養的な面からの予防対策の有効性も追求する必要がある。そこでビタミンCを中心とした総合ビタミン剤およびエピスチリス症の予防に効果があつたと報

告される第1 磷酸塩の投与による予防効果を調べてみた。

## 1) 材料および方法

### ① 供試魚と設定方法

都水試で養成した親魚候補の4年魚および0年魚を用いた。その設定区分は表12のとおりである。なお実験池は面積147~188㎡の泥池を用いた。

表12 予防実験の供試魚

		キンギョの種類	性	年令	尾数 尾	総重量 Kg
1	試験区	ワキン	♂	4年魚	89	21.8
				0年魚	200	5.8
2	対照区	ワキン	♀	4年魚	106	45.0
				0年魚	200	5.2
3	対照区	リュウキン	♂	4年魚	64	12.1
				0年魚	167	3.8
4	試験区	リュウキン	♀	4年魚	36	10.4
				0年魚	203	15.9

### ② 使用薬剤

ビタミン剤としてHS-5(武田)を用い、磷酸塩は試薬1級の第1磷酸ソーダを用いた。投与量はHS-5は体重の0.01%とし、第1磷酸ソーダは0.03%とした。投餌量は体重の1%とし、投薬期間は11月17日~12月6日の20日間および3月10日~30日の20間の2回連続とした。

## 2) 結果と考察

## 11. 抗生物質の筋肉注射による治療効果

薬剤による穴あき病の治療は水温が約20℃以上の場合には効果がみられ、特に25℃を越える場合にはその治療効果は著しく、ほとんどの抗菌剤で治癒する。しかしながら20℃以下の水温の場合にはなおりにくい。その理由としては、この疾病の原因菌が高温に弱いこと、魚の生理的活性度が低下して抵抗力または患部の修復力が弱くなること、および魚の薬剤の吸収が悪いことなどが考えられるがまだはっきりしていない。実験的には魚の薬剤の吸収の悪さは薬剤の筋肉注射によって大巾に助長させてやることができると考えられるので、抗生物質の筋注による治療を試みた。なお注射は群治療としては適切な方法ではないが、イロゴイや親キンギョのように高価な魚にとっては使用価値のある方法でもある。

### 1) 材料および方法

#### ① 供試病魚

都水試の養魚池で3月に池よりとりあげた親候補ワキン1年魚の中期または終期病魚で衰弱しているものを除いて用いた。供試魚の大きさは40g~220gの範囲のものであった。

#### ② 使用薬剤と使用法

カナマイシン、オキシテトラサイクリンおよびクロラムフェニコールの三種を用いた。その使用量はカナマイシンは400、200、100 mg / ~~100g~~<sup>kg</sup> 魚体重の三通り、オキシテトラサイクリンは80、40、20 mg / ~~100g~~<sup>kg</sup> 魚体重の三通り、クロラムフェニコールは40 mg / ~~100g~~<sup>kg</sup> 魚体重のみとし、魚は1尾ずつ重量を測定して接種量を調節した。接種尾数は各区各々20尾とし、薬剤は患部周辺の筋肉部に注射した。対照は淡水魚リンゲル液を50 mg / 100g 注射した。

実験は屋外の30m<sup>2</sup>のコンクリート池を用い、使用水は水道水を2日通気してから用い、実験中は通気は行わず換水もしなかった。実験の設定期間は20日間とし、実験期間中の水温の測定は14時に行った。

#### ③ 効果の判定法

症状のチェックは次のようにした。

治癒 …… 中期病魚は充血や白濁粘質物が全くなくなったもの。終期病魚は充血と白濁粘質物がなくなり露出していた筋肉は光沢をもってピンク色になったもの。このとき組織標本でみるとすでに薄い膜(表皮ではない)におおわれている。

治癒傾向 …… 終期病魚の露出筋肉部はピンク色を示すようになるが、前縁に充血または白濁粘質物がまだみられる。

治癒せず …… 全く治癒傾向のみられないもの。

## 2) 結果と考察

実験期間中の水温は9~12°Cの範囲であった。

治癒状況を表13にした。表からわかるように生存率は対照に較べ、投薬区はすべて良く薬剤の効果があったと考えられるが、三種類の薬剤および各薬剤の投薬量の多少との間に生残効果に差はみられなかった。

表13 抗生物質の筋注による治療効果

薬剤と接種量 mg / <del>100g</del> <sup>1kg</sup>	生存率 %	病魚の状況			患部のカビ寄生率 %
		治癒 %	治癒傾向 %	治癒せず %	
対 照	45	0	44.4	55.6	33.3
400	80	12.6	43.8	37.6	81.2
カナマイシン 200	70	28.6	28.6	42.9	57.1
100	100	25.0	50.0	25.0	60.0
80	90	16.7	55.6	27.8	83.3
オキシテトラサイクリン40	100	15.0	55.0	30.0	70.0
20	90	5.6	50.0	44.4	61.1
クロラムフェニコール 40	85	35.3	41.2	23.6	58.8

患部の治癒の状況はすべての薬剤で治癒または治癒傾向のものがみられ、効果はあったように見えるが、対照にも治癒傾向のものがみられており、対照との差は顕著ではない。また三種類の薬剤のなかではクロラムフェニコールが最も成績がよかったがやはりそれもわずかなものであった。一方、患部への水生菌の着生率は対照に較べて投薬区の方が多く、低水温時の抗生物質の投与は菌交代症を起す可能性が強いと考えられた。従って、抗生物質の注射も低水温時にはあまり治癒効果は期待できないと考えるべきであろう。

### 1.2 水温の治療におよぼす影響

穴あき病が水温を上げることによって自然治癒することはすでに報告したが、その治療効果のある温度域を正確に知ることは、本疾病の疫学的輪郭を知るうえにもまた治療対策を確立させるためにも大事なことと考えられるので、いろいろと温度を変えてその治療効果を追求した。

長  
外  
三

## 1) 材料および方法

供試病魚は都水試の養魚池で7月に発生したワキン1年魚を用いた。実験は100ℓ水槽を用い、サーモスタットと投込みヒーターおよび空調によりそれぞれ所定の水温とし、病魚各10尾を收容して<sup>13</sup>日間飼育し、病患部の変化を調べた。設定方法と設定温度は表14のようにした。なお、水は水道水を活性炭カラムを通して脱塩素して用い、実験中は通気し、餌は与えなかった。

表 1 4 自然治癒実験の設定方法

実験区分	使用病魚の程度	使用水槽	設定水温(°C)
実験 A	初期病魚	止水槽	20.0、22.5、25.0、27.5、30.0 の5区
実験 B	中期・終期病魚	循環水槽	20.0、22.5、25.0、27.5、30.0 の5区
実験 C	中期・終期病魚	止水槽	20.0、25.0、27.5、30.0 の4区
実験 D	初期病魚	循環水槽	30.0 1区のみ

## 2) 結果と考察

実験終了時に死亡した病魚はなかった。また、1尾の病魚の患部は1つとはかぎらず、多くの過程の患部が同時にみられるようになってしまったので、結果は患部数を対照としてまとめた。

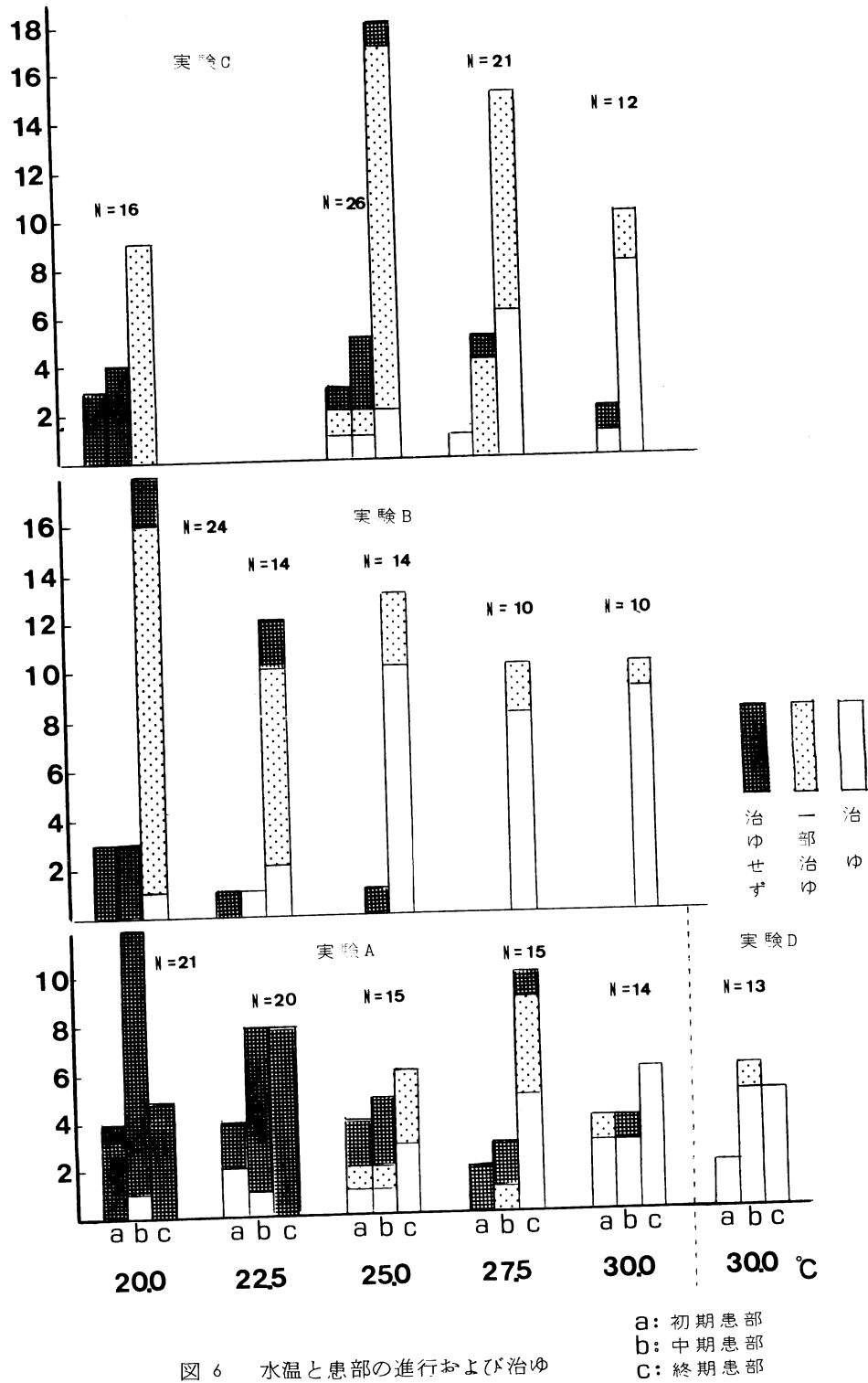


図 6 水温と患部の進行および治ゆ

実験A、B、C、D、の結果を図6にまとめて示した。

実験A、B、C、ともに水温の上昇と共に治癒患部が増加していく。また実験AとBでは水温が下るにつれて患部数の増加がみられることから、水温の上昇は患部が治癒へと進行していくとともに新患部の形成をも防ぐことを示している。また初期患部のみで開始した実験Aは20.0～27.5℃の範囲では水温の上昇とともに、終期患部の占める割合がそれぞれ24、40、40、67%と増加しており、温度の上昇とともに患部の進行も早くなることがうかがわれる。これはまた初期病魚を用いた実験Aより中期・終期病魚を用いた実験B、Cのほうが治癒患部が多いことからもうなずける。そしてそれは実験Aでは30℃まで高くなると、初期と中期段階での治癒患部が増え、患部が終期まで進行する前に治癒してしまうことを示している。ともに中期・終期病魚を用いた実験BとCを比較してみると、循環水槽を使用した実験Bの方が治癒成績はよく、特に25.0℃と27.5℃の場合は顕著な差がみられ、また、30℃区のみを比較してみるとB>D≥A>Cの順によく水質条件が治療効果や新患部の形成に大きく影響することがうかがわれる。

実験A、B、C、Dおのこの水温別の治癒率と昨年の治療試験の報告のうち、薬剤を使用していない実験とその他の実験の対照区のみをプロットしてみると図7のようになる。図からわかるように自然治癒と水温の間にはあきらかに相関がみられ、水温の上昇とともに治癒率は上昇する。22℃以下および30℃附近は止水槽と循環水槽間の治癒率に大差ないが、25℃前後の場合は循環水槽の場合の方が治癒率がよい。これは22℃以下および30℃以上は患部は温度要因の影響のほりを大きく受けて症状がきまってしまう、25℃前後では水温以外の水質要因によって左右されることを意味している。なお、図7は自然水温の場合の治癒率は14時の水温よりも10時の水温と関連していると判断したほうがよいことを示している。

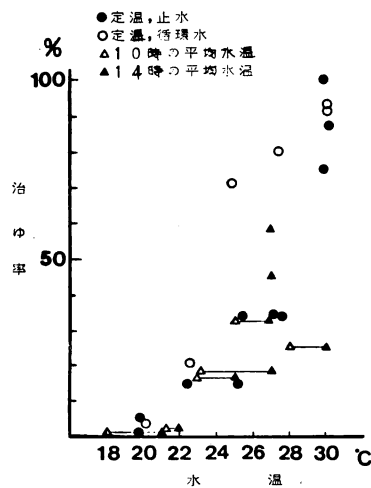


図7 水温と自然治癒の関係



### 1.3 水温の感染におよぼす影響

穴あき病は約20°Cを境として水温の上昇とともに自然治癒するものがみられることがわかったが、逆に最も感染しやすい、または発病しやすい温度というのはまだわかっていないのでそれについて調べた。

#### 1) 材料および方法

供試魚は都水試でふ化育成した0.8年魚のワキンを用い、供試病魚は10月に水試の養魚池でみられた4年魚と1年魚の穴あき病病魚、およびその病魚と健康魚を水槽で飼育し、自然感染させた病魚を用いた。

感染方法は二段階の方法をとった。まず供試魚の右体側の側線の上部にピンセットで鱗約10枚をかき~~き~~とって傷をつけ、その部位と穴あき病病魚の患部を約10秒間接触させた。次に所定の恒温循環水槽に約160cm<sup>3</sup>のイクスを浮べ、病魚と接触させた供試魚10尾と病魚3尾を一諸に収容して更によく感染するようにした。病魚だけは24時間後とりのぞき、以後そのまま飼育し7日後に感染発病の状況を調べた。

設定水温は10.0°Cから25.0°C間隔で25.0°Cまで7段階とし、あらかじめ供試魚は蓄養池からとりあげ、後各温度へ約2時間間隔で順化させた。従って25.0°C区への順化は12時間要した。

#### 2) 結果と考察

結果は図8に示した。

図からわかるように温度の上昇とともに接種部の皮膚に糜爛と充血と粘質物の分泌する魚が増加し、20°C以上ではすべての魚に病変がみられた。それらの症状をよく観察してみると、17.5°Cまではすべての病変魚の病変部は、かるい充血と鱗の軽い持ちあがりおよび半透明の白濁粘質物の分泌がみられ、いわゆる穴あき病と称されているものと同一と思われたが、20°C区および22.5°C区では7尾に25°C区ではすべてに不透明な濃白のかたまり状の粘質物の分泌がみられ、穴あき病の症状とは異なった。その部位から菌の分離培養を試みたところ、*Flexibacter columnaris* が純粋に近い形で分離された。昨年度の復元実験でも *Flexibacter columnaris* (C2株)の接種では同じ症状を示しており、これらの症状の異なった発病魚は *columnaris* 症になったと推定される。前項で述べたようにいわれている疾病は水温の上昇とともに自然治癒することが確かめられていることから *Flexibacter columnaris* が原因菌として関与しているとは考えにくい。しかしながら、穴あき病患部からの *columnaris* の検出はそう珍らしくはないことから、水温の上昇によって *columnaris*

が優位を占めるようになってしまうことは多いと思われる。

接種部に病変がみられたもののうち *columnaris* 症にならなかった個体が最も多くみられたのは 17.5°C 区であり、いままで経験的に知られている約 15~20°C の範囲が穴あき病が出やすいことと一致している。

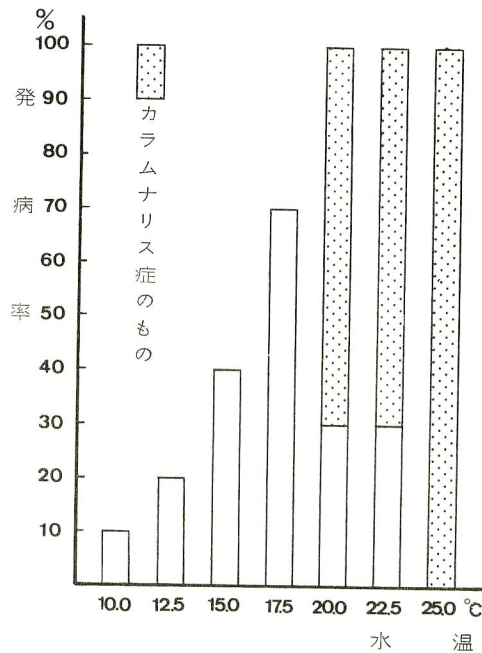


図8 水温別の発病率

#### 1.4 冬期における病魚の発生状況調査

穴あき病の発生は春期産卵後の親魚に特に多くみられ、なにか内的要因の存在の可能性や水温等の環境要因が関与していることが想像される。しかしながら病魚は8月の産卵前にすでにわずかではあるがみられる。それらの病魚が春になって発生したものか、すでに秋から存在して冬越しをしたものかは、冬期に魚をとりあげることがないのでいままでわからなかった。この早春の病魚の発生時期がいつであるか正確に知ることは予防対策の確立に大事なことと考えられるので、冬期における発生状況のチェックを行った。

##### 1) 材料および方法

供試魚は都水試で育成した外観上健康と思われる0.8年魚のワキンを用い、イカリムシ、ウオジラミの寄生は肉眼によりチェックし一応とりのぞいた。

設定方法は供試魚400尾をニフルブラジン1ppmで約1時間薬浴させてのち、実験池(泥

池) 4面に100尾ずつ収容し、一定期間毎にとりあげて魚をチェックし、冬期における発病の有無を調べるものである。そのチェックの時期と順序は次のようにした。

A 池	12月に供試魚を収容	→	1月にチェック	} 5月に再度チェック
B 池	"	→	2月にチェック	
C 池	"	→	3月にチェック	
D 池	"	→	4月にチェック	

## 2) 結果と考察

長

内

四

## 15 文 献

- 1) 齊藤 実・中村多恵子・高橋 之介<sup>取</sup>：キンギョの穴あき病に関する研究Ⅱ。患部の進行および治癒状況の観察。魚病研究・9(2)、179~186(1975)。
- 2) 熊丸敦郎：霞ヶ浦周辺に発生した魚類のカビ病について、茨城県内水面水産試験場調査研究報告。第11号、129~140(1973)
- 3) 東京都水産試験場：昭和49年度指定調査研究総合助成事業 病害研究報告、東水試調査研究要報NO113(1975)

