

ブリおよびヒラマサの種苗生産過程におけるウイルス性腹水症の疫学調査

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-04-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 西岡, 豊弘, 塩澤, 聡, 小金, 隆之, 小磯, 雅彦, 虫明, 敬一, 有元, 操 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014568

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



ブリおよびヒラマサの種苗生産過程における ウイルス性腹水症の疫学調査

西岡豊弘*¹・塩澤 聡*²・小金隆之*³
小磯雅彦*⁴・虫明敬一*⁵・有元 操*⁵

Occurrence of viral ascites in seed production of Japanese amberjack (*Seriola quinqueradiata*) and yellowtail amberjack (*S. lalandi*)

Toyohiro NISHIOKA, Satoshi SHIOZAWA, Takayuki KOGANE,
Masahiko KOISO, Keiichi MUSHIAKE, and Misao ARIMOTO

Epidemiological studies of the occurrence of viral ascites (VA) on seed production for Japanese amberjack and yellowtail amberjack conducted at the Goto Station of the National Center for Stock Enhancement were carried out from 1987 to 2000. During this period, VA in Japanese amberjack and yellowtail amberjack occurred during eight and eleven of these years, respectively. It was clarified that water temperature during disease occurrence ranged from 22 to 24°C and that severe outbreak of VA was observed in individuals ranging from 20 to 200 mm in total length in both species. According to these studies, it was postulated that the major infection route of yellowtail ascites virus (YTAV), which is a causative agent of VA, is vertical transmission from broodstock to larvae via the eggs. Both the selection of spawners and the control of high water temperature (over 25°C) in seed production operations was effective as a countermeasure against VA.

2005年12月15日受理

1980年代初頭に西日本各地のブリ *Seriola quinqueradiata* 養殖場において、多数の稚魚が腹水の貯留による腹部の膨脹を主徴とする症状を呈して死亡した。その後、1983年には瀬戸内海の一産種苗生産場でも同様の症状による死亡が認められ、ウイルス学的な研究によりウイルス性腹水症 (viral ascites, 以下 VA) と名づけられた^{1,2)}。原因ウイルスはビルナウイルス科の *Aquabirnavirus* 属に分類され、当初、YAV (yellowtail ascites virus) と命名されたが³⁾、現在では国際的命名法に従い YTAV と呼ばれている。

ブリ養殖場における YTAV の感染経路は、天然採捕

されたブリ稚魚がすでに本ウイルスに感染していることから、YTAV に感染したブリ稚魚を養殖場に持ち込むことによる水平伝播と考えられている⁴⁾。高知県浦の内湾のブリ養殖場における VA の発生状況では、5月下旬から6月中旬の水温が 21~23°C の時期に平均体重 3.0~15.1 g の稚魚に発病することが報告されている⁵⁾。

一方、種苗生産場においては、種苗生産や中間育成においてしばしば高い死亡率を伴うため、ブリ種苗の計画的な生産に大きな障害となっている。YTAV の感染経路については、養成親魚の一部がウイルスあるいはウイルスの中和抗体を保有していることから、感染した親魚か

*1 独立行政法人水産総合研究センター 上浦栽培漁業センター 〒879-2602 大分県佐伯市上浦大字津井浦 (Kamiura Staion, National Center for Stock Enhancement, Kamiura, Saiki, Oita 879-2602, Japan).

*2 独立行政法人水産総合研究センター 奄美栽培漁業センター 〒894-2414 鹿児島県大島郡瀬戸内町大字俵字崎山原 955-5.

*3 独立行政法人水産総合研究センター 屋島栽培漁業センター 〒761-0111 香川県高松市屋島東町 234.

*4 独立行政法人水産総合研究センター 能登島栽培漁業センター 〒926-0216 石川県七尾市能登島曲町 15-1-1.

*5 独立行政法人水産総合研究センター 栽培漁業部 〒220-6115 神奈川県横浜市西区みなとみらい 2-3-3 クイーンズタワー B 棟 15 階.

ら卵を介した垂直感染によって YTAV が仔魚へ伝播し、稚魚期に発病すると推定されている⁶⁾。しかし、種苗生産および中間育成における VA の発生状況に関する詳細な報告はない。

そこで、社団法人日本栽培漁業協会の時代を含め独立行政法人水産総合研究センター五島栽培漁業センター（以下、五島栽培漁業センター）が、1987 年から 2000 年までの 14 年間に取り組んできたブリおよびヒラマサ *S. lalandi* の種苗生産（陸上水槽）と中間育成（主に海面小割生簀）を含めた種苗生産過程における VA の発生状況について取りまとめた。その際、各年における親魚の養成条件（飼育年数、産卵誘発方法および採卵方法）と稚魚期での VA 発生の有無との関係について検討するとともに、VA が発生した飼育事例における種苗の発病サイズや発生水温（発生時期）に関する疫学的調査を実施した。本稿では、これらの疫学的調査の結果について報告する。

材料と方法

親魚養成と産卵誘発 ブリでは、天然海域で漁獲された幼魚または成魚を五島栽培漁業センターの海面小割生簀（5 m×5 m×深さ 5 m；円形、直径 10 m）で 1~4 年間養成した親魚を用いた。また、ヒラマサ親魚については天然の幼魚および成魚のほかに、種苗生産した人工種苗を養成して試験的に採卵に供した事例もあった（表 1）。採卵に供した親魚の大きさ（魚体重）は、ブリおよびヒラマサでそれぞれ 4.2~14.9 kg および 2.8~9.1 kg であった。親魚は産卵期の約 2~4 カ月前に海面小割生簀から陸上水槽（コンクリート製、実容量 90 kl）へ収容し、飼育水温をブリでは 17~20°C、ヒラマサでは 17~22°C に調整した。親魚の成熟を促進するために、電灯（100 W または 500 W）を水槽内の水中または水面上に設置し、日没後 6 時間点灯する長日処理や生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（gonadotropin-releasing hormone: GnRH, Sigma 製）では魚体重 1 kg 当たり 50~600 μg を投与する場合もあった。また、水槽内での産卵を誘発するために、ヒト胎盤性生殖腺刺激ホルモン（human chorionic gonadotropin: HCG, 帝国臓器製薬製）を魚体重 1 kg 当たり 450~1,000 IU 注射した。養成したブリおよびヒラマサの親魚は、毎年それぞれ 2~5 月および 4~6 月に産卵を誘発した。採卵は、ブリではホルモン注射による水槽内での誘発産卵あるいは人工授精（乾導法）により、また、ヒラマサではすべてホルモン注射による誘発産卵により行った。

種苗生産と中間育成 ブリでは受精卵またはふ化仔魚（0, 1 または 2 日齢）を飼育水槽（コンクリート製、実容量 60 kl）に収容し、飼育水温を 19~22°C に維持して飼育した。ヒラマサでは同様の水槽にふ化仔魚（1 日齢）を収容し、飼育水温は 22~25°C とした。いずれの魚種にお

いても、溶存酸素濃度が 5 mg/l 以下にならないように、エアーストンをを用い通気を施した。飼育初期は水質を安定させるためナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata* を添加した。開口直後（3 日齢）の仔魚には S 型ワムシ *Brachionus rotundiformis* あるいは L 型ワムシ *B. plicatilis* を給餌し、その後、仔魚の成長に合わせてアルテミアの幼生および市販の配合飼料（ヒノマル印初期飼料、日本水産（株）製；初期飼料協和、協和醗酵工業（株）製）を給餌した。1990 年以前の飼育では、これらの飼餌料のほかに夜間の灯火採集で得られた天然コペポーダ類（*Acartia* spp., *Oithona* sp., *Paracalanus* sp., *Tigriopus* sp., および *Euterpina* sp.）、アルテミア幼生を全長約 1.5~3 mm まで育成した養成アルテミア、培養したタマミジンコ、マダイやインダイの受精卵やふ化仔魚、マアジ、マサバおよびイカナゴを混合したミンチ肉を給餌した。

ブリでは平均全長が 25 mm に、ヒラマサでは 35 mm に達した時点で陸上水槽から取り揚げ、中間育成工程に移行した。取り揚げた稚魚は計数した後、海面小割生簀（4 m×4 m×深さ 3 m）に 1 小割生簀当たり約 7 千尾~2 万尾を目処に収容した。その後、稚魚の成長に合わせて適宜小割生簀の数を増やし、放流するまで中間育成を行った。いずれの魚種でも中間育成期間中は、市販の配合飼料（おとひめ、日清製粉製；マリンシリーズ、大洋漁業製）を成長に合わせて総魚体重の約 3~10% を目安に給餌した。なお、2000 年では、一部の稚魚を陸上水槽に設置した小割り生簀（4 m×3 m×深さ 1.8 m）で中間育成を行った。

1990 年以前の中間育成では、これ以外にオキアミ、イカナゴおよびマアジのミンチ肉を給餌した。

海面生簀での中間育成中は、稚魚の遊泳域の水温測定と水深 5 m における海水を採取し比重を測定した後、塩分濃度に換算した。

VA の診断 種苗生産あるいは中間育成で発生した死亡が YTAV に由来するか否かは、CHSE-214 細胞（マスノスケの胚由来細胞）^{7,8)} を用いたウイルスの分離・培養およびポリメラーゼ連鎖反応（polymerase chain reaction: PCR）法による YTAV 遺伝子の検出⁹⁾により判定した。なお、1994 年のブリとヒラマサの飼育事例における死亡魚は、腹水の貯留による腹部の膨脹など本症に特徴的な症状¹⁾の有無に基づき VA と判断した。しかし、ブリおよびヒラマサとも、各年の採卵に供した親魚における YTAV の感染あるいは血液中のウイルス中和抗体の保有の有無に関する調査は実施しなかった。

CHSE-214 細胞を用いた分離・培養では、種苗生産あるいは中間育成での死亡魚から無菌的に肝臓を摘出し、9 倍量の Hanks' BSS (HBSS) を加えて海砂とともに磨砕した。磨砕した後に遠心分離（1,000×g で 15 分間、4°C）し、その上清を 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過した。そのろ液を適量の HBSS で希釈し、あらかじめ 1 日間培養した CHSE-214 細胞に接種して 20°C のイン

キューベーター中で培養し、細胞変性効果 (cytopathic effect: CPE) の有無を確認した。

また、PCR 法による診断では、衰弱魚および死亡魚の肝臓を採取し、ISOGEN (日本ジーン製) を用いて常法に従ってウイルス RNA を抽出した。抽出した RNA は、0.1% DEPC (diethyl pyrocarbonate, Sigma 製) 処理水に溶解し、Suzuki *et al.*⁹⁾ の方法に準じて PCR 反応を行い、増幅産物の有無を確認した。なお、反応液の全量は 50 μ l とし、逆転写酵素には Super Script TM II (GIBCO BRL 製) を、また DNA ポリメラーゼには Takara EX Taq (宝酒造製) を用いた。

加温飼育試験 1995 年 6 月に種苗生産において、VA による死亡が認められた際のブリ稚魚 (平均全長 42.7 mm) を取り揚げ、無作為に試験区 (19,300 尾) と対照区 (18,000 尾) の 2 群に分け、それぞれ別の陸上水槽 (コンクリート製、実容量 60 kl) 内に設置した網生簀 (4 m \times 3 m \times 深さ 1.8 m) に収容した。飼育用水には砂ろ過海水を使用した。試験区では網生簀に収容した当初の 5 日間は自然水温 (21.4 \sim 21.9 $^{\circ}$ C) とし、その後、飼育水温を約 4 $^{\circ}$ C 上昇させて 26 $^{\circ}$ C まで加温し、以後はこの水温を維持した (図 1)。対照区は試験期間を通して自然水温 (21.4 \sim 23.7 $^{\circ}$ C) とした。観察期間は両区とも全体で 15 日間とし、試験期間中は市販の配合飼料を適量給餌し、死亡魚は毎日腹部膨脹の有無を観察し、計数しながら除去した。

結 果

親魚養成と VA 発生との関係 ブリについて、親魚の由来、養成年数、年齢、体重、産卵誘発方法、採卵方法あるいは採卵時期などの養成条件の違いと種苗生産過程における稚魚での VA 発生の有無との関連性について検討した。しかし、いずれの親魚養成に関する項目においても、VA 発生の有無との間に特に関連性は認められなかった。一方、ヒラマサでも同様に、親魚の養成条件の違いと種苗生産過程での VA 発生の有無との間に関連性は認められなかった (表 1)。

VA の発生状況 今回疫学的調査を行った 1987 年から 2000 年までの 14 年間に、ブリでは種苗生産において 1988 年、1989 年および 1995 年の延べ 3 年で、また、中間育成においては 1987 年から 1996 年までの各年と 2000 年の延べ 11 年で発生が認められた (表 1, 2)。

ブリの種苗生産における VA の発生は、3 年間で計 12 回の飼育事例中 3 事例あり、発病時の稚魚の全長は 18 \sim 40 mm、体重は 0.1 \sim 0.9 g の範囲で、発生時の水温は 22 \sim 23 $^{\circ}$ C、発生時期は 5 月下旬 \sim 7 月上旬であった。死亡率は 4.2 \sim 94.1% と飼育事例により大きく異なった (表 2)。

また、中間育成では、11 年間で計 31 回の飼育事例中の 22 事例で VA が発生した。発病時の全長は 30 \sim 200

mm (体重 0.3 \sim 104.0 g)、水温は 16 \sim 28 $^{\circ}$ C、発生時期は 4 月上旬 \sim 8 月下旬であった。死亡率は 20% を超える事例もあったが、多くは数% 程度であった (表 2)。

一方、ヒラマサの種苗生産においては、1990 年および 1992 年における計 8 回の飼育事例のうち 6 事例で VA の発生が認められた (表 1, 3)。発病時の全長は 19 \sim 40 mm (体重 0.1 \sim 0.7 g) の範囲であり、飼育水温は 21 \sim 24 $^{\circ}$ C、発生時期は 6 月上旬 \sim 7 月上旬であった。死亡率は 34.6 \sim 92.1% と高い値を示した。また、中間育成では、1987 年から 1995 年までの 9 年間のうち 8 年間に発生があり、中間育成事例 20 例中 17 例で発病が認められた。発病時の全長は 30 \sim 160 mm (体重 0.5 \sim 41.0 g)、水温は 21 \sim 29 $^{\circ}$ C、発生時期は 6 月中旬 \sim 8 月中旬であった。死亡率は 0.4 \sim 60.1% の範囲であった。1994 年を除く発生事例では、いずれも腹部が膨脹した死亡個体から、CHSE-214 細胞で CPE の発現が認められ、YTAV が分離された。

なお、両魚種を主に中間育成する 5 月 \sim 8 月における海面の水深 5 m の塩分濃度は、32.5 \sim 37.1‰ の範囲であり、年により大きく変動することはなかった。

加温飼育試験 加温飼育試験における両区の生残率の経時的変化を図 1 に示した。両区とも、試験開始 5 日後までの日間死亡率は最大 0.2% であったが、加温処理区では 6 日後に 3.8% となり、死亡魚が急激に増加した。死亡魚は、VA の主徴である腹水の貯留による腹部の膨脹が顕著に認められたため、本症が発病したと判断された。この時点で加温処理区では直ちに加温により飼育水温を 26 $^{\circ}$ C に上昇させたところ、試験開始 7 日後には死亡魚は急激に減少し、日間死亡率は 0.45% に低下した。その後も日間死亡率は低下し、試験終了時 (= 試験開始 15 日後) の日間死亡率は 0.1% であった。加温処理区の試験終了時の生残率は 93.4% であった。

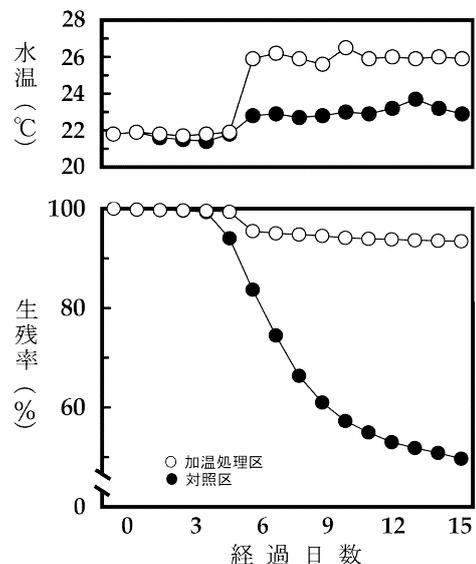


図 1. VA が発生したブリ稚魚の加温処理区と対照区の生残率と飼育水温の変化

表1. ブリおよびヒラマサの供試親魚と産卵誘発方法および稚魚におけるウイルス性腹水症の発生状況について

魚種	年	採卵に供した親魚				産卵誘発方法*2	採卵方法*3	採卵期間(月日)	VA 発生の有無*4	
		由来*1	養成期間(年)	年齢(歳)	体重(kg)				種苗生産	中間育成
ブリ	1987	天然	1~2	4~5	3.3~ 5.2	H	IS+AI	3.29~5.17	なし	あり
	1988	天然	1~3	5~7	7.1~14.6	H	IS+AI	4.6~5.16	あり	あり
	1989	天然	1, 3	4, 7	5.1~11.5	G+H	IS+AI	4.3~5.10	あり	あり
	1990	天然	2	5	6.7~13.9	G+H	IS	4.3~4.17	なし	あり
	1991	天然	1~2	4~5	4.0~ 9.4	G+H	IS	5.21~ 6.6	なし	あり
	1992	天然	1~3	4~7	6.5~ 9.8	H	IS	3.16~4.30	なし	あり
	1993	天然	2~4	5~7	6.6~11.6	H	IS	3.8~4.30	なし	あり
	1994	天然	1~3	4~6	6.9~11.4	G+H	IS	3.3~ 5.5	なし	あり
	1995	天然	1~2	4~5	8.1~11.7	H	IS+AI	3.4~ 5.8	あり	あり
	1996	天然	2	5	8.3~11.1	G+H	IS+AI	3.4~4.27	なし	あり
	1997	天然	2	5	7.0~ 9.0	G+H	IS	3.3~4.26	なし	なし
	1998	天然	1, 3	4, 7	7.9~12.4	H	IS	3.6	なし	なし
1999	天然	2	5	8.6~10.1	G+H	IS	2.14	なし	なし	
2000	天然	2~3	5~6	7.6~ 9.4	H	IS	2.4~2.12	なし	あり	
合計									3/14*5	11/14
ヒラマサ	1987	人工	3~4	3~4	6.8~ 9.1	H	IS	5.12~6.12	なし	あり
	1988	人工	4~5	4~5	4.4~ 9.0	H	IS	6.25, 7.3	なし	なし
	1989	人工	5	5	5.1~11.5	H	IS	5.13~6. 2	なし	あり
	1990	天然, 人工	2~3, 6	5~6, 6	4.3~10.5	G+H	IS	5.3~5.18	あり	あり
	1991	天然	2~4	4~6	4.7~ 9.3	G+H	IS	4.19~5.22	なし	あり
	1992	天然	1~3	4~6	5.6~12.5	H	IS	4.25~5.19	あり	あり
	1993	天然	3	6	12.9	H	IS	4.16	なし	あり
	1994	天然	2	5	4.6~ 7.4	H	IS	6.8	なし	あり
	1995	天然	4	7	13.6	H	IS	5.6	なし	あり
	1996	天然	3	6	7.6~12.0	H	IS	5.5, 5.12	なし	—*6
	1997	天然	2	5	3.8~ 6.2	H	IS	5.26	なし	—*6
	1998	天然	4	7	10.2~12.1	H	IS	6.1	なし	—*6
1999	天然	4	7	11.7	H	IS	4.30~5.18	なし	—*6	
2000	天然	1	4	8.0	H	IS	6.16	なし	—*6	
合計									2/14	8/9

*1 天然: 天然魚を養成した親魚, 人工: 人工種苗生産魚を養成した親魚.

*2 G: GnRH 投与, H: HCG 注射.

*3 IS: 水槽内での誘発産卵 (induced spawning), AI: 人工授精 (artificial insemination).

*4 VA 発生の有無は, 症状の観察, 細胞培養法あるいは PCR 法のいずれか, または組み合わせた方法で診断した (表2および3を参照).

*5 種苗生産または中間育成過程における VA 発生事例数/種苗生産または中間育成の実施年数.

*6 陸上水槽における種苗生産のみで, 中間育成は実施していない.

一方, 対照区では, 試験開始4日後までの日間死亡率は最大0.3%であったが, 5日後に5.3%となり, 6~8日後には10.9~11.0%と日間死亡率はピークに達し, 大量の死亡が認められた。死亡魚は, 加温処理区と同様に腹部の膨張が認められ VA により死亡したと判断された。その後は徐々に死亡尾数は減少したものの, 試験終了時においても日間死亡率は2.3%であった。対照区の試験終了時の生残率は49.7%であった。

考 察

親魚養成と VA の発生 ブリでは, 種苗生産での YTAV の感染経路として, 採卵用親魚からふ化仔魚への垂直伝播が起きていると考えられている⁶⁾。そこで, ブリおよびヒラマサ親魚について, 養成条件である親魚の由来,

養成期間, 年齢, 体重および受精卵を得るための産卵誘発方法や採卵方法, 採卵期間と各魚種の種苗生産過程における VA の発生の有無について調査し, 稚魚における VA の発生を誘発もしくは抑制する親魚養成条件について検討した。しかし, 今回の調査では, いずれの項目においても稚魚での VA の発生の有無との間に関連性は認められなかった。しかし, このことから親魚の養成条件および産卵, 誘発方法が, VA の発生に関与していないとは言えず, 今後, 養成条件が親魚の血液中のウイルス中和抗体価やウイルス保有状況などに及ぼす影響について調査する必要があると考えられた。

VA 発生時のサイズ 両魚種ともに VA の発生件数としては, 表1に示されるように種苗生産よりも中間育成での発生頻度の方が高い結果であった。しかし, VA の発生事例における死亡率は, 両魚種ともに種苗生産, すな

表2. ブリにおけるウイルス性腹水症の発生状況

工程	VA の発生が認められた					診断方法*1	死亡率 (%)	発生例数
	年	水温 (°C)	平均全長 (mm)	平均体重 (g)	時期			
種苗生産	1988	23	26~40	0.3~0.9	6月下旬~7月上旬	A+B	89.8	1/4*2
	1989	22	18~25	0.1~0.3	5月下旬~6月上旬	A+B	94.1	1/3
	1995	22~23	21	0.2	6月下旬~7月上旬	A+B	4.2	1/5
	合計	22~23	18~40	0.1~0.9	5月下旬~7月上旬		4.2~94.1	3/12
中間育成	1987	21~28	40~170	0.9~71.5	7月上旬~8月下旬	A+B	0.1	1/2
	1988	25~26	30~150	0.3~56.5	7月上旬	A+B	<0.1	1/2
	1989	22	50~130	1.7~32.9	6月下旬~7月上旬	A+B	1.3	1/5
	1990	20~27	50~100	1.7~13.2	6月上旬~7月上旬	A+B	4.6~10.0	2/2
	1991	20~25	60~100	3.1~13.2	6月下旬~7月中旬	A+B	0.2	4/4
	1992	21~28	110~200	17.7~104.0	6月下旬~7月下旬	A+B	7.0	3/3
	1993	22~25	60~110	2.0~9.8	7月上旬~7月中旬	A+B	8.0	2/2
	1994	24~28	92~145	10.8~39.7	7月下旬~8月上旬	A	不明	1/2
	1995	22~26	53~100	2.0~13.2	6月下旬~7月中旬	A+B	23.2	2/2
	1996	24~25	65~80	3.8~7.0	7月上旬~7月中旬	A+B	20.0	1/2
	2000	20~24	90~170	10.2~71.5	5月上旬~7月上旬	A+B+C	0.1	2/2
	2000*3	16~25	35~90	0.6~10.2	4月上旬~5月中旬	A+B+C	32.5	2/3
	合計	16~28	30~200	0.3~104.0	4月上旬~8月下旬		<0.1~32.5	22/31

*1 A: 症状の観察, B: 細胞培養法, C: PCR 法.

*2 VA 発生事例数/飼育事例総数.

*3 陸上水槽での中間育成.

表3. ヒラマサにおけるウイルス性腹水症の発生状況

工程	VA の発生が認められた					診断方法*1	死亡率 (%)	発生例数
	年	水温 (°C)	平均全長 (mm)	平均体重 (g)	時期			
種苗生産	1990	21~24	30~40	0.3~0.7	6月上旬~7月上旬	A+B	34.6~92.1	4/4*2
	1992	22~24	19~38	0.1~0.6	6月中旬~7月上旬	A+B	90.5	2/4
	合計	21~24	19~40	0.1~0.7	6月上旬~7月上旬		34.6~92.1	6/8
中間育成	1987	21~25	35~53	0.5~1.6	6月中旬~7月下旬	A+B	30.3~60.1	4/4
	1989	21~26	50~160	1.3~41.0	6月下旬~7月下旬	A+B	21.2	1/1
	1990	21~24	46~100	1.0~10.1	6月下旬~7月上旬	A+B	25.1~50.2	4/4
	1991	21~25	30~50	0.3~1.3	7月上旬~7月中旬	A+B	45.0	1/3
	1992	24	100	10.2	7月中旬~7月下旬	A+B	0.4	1/1
	1993	23~25	84~112	6.3~14.6	6月下旬~7月上旬	A+B	34.0	2/3
	1994	28~29	59~102	2.2~10.8	8月上旬~8月中旬	A	40.0	2/2
	1995	21~26	75~120	4.4~17.5	6月下旬~7月中旬	A+B	23.0	2/2
	合計	21~29	30~160	0.5~41.0	6月中旬~8月中旬		0.4~60.1	17/20

*1 A: 症状の観察, B: 細胞培養法.

*2 VA 発生事例数/飼育事例総数.

わち、小型個体での死亡率の方が著しく高い値を示した(表2, 3)。VA の発症サイズについては、これまでの報告によれば、人為的に感染実験を行った場合、浸漬感染³⁾でも腹腔内接種¹⁰⁾でも体重 6 g までの種苗であれば、小型個体ほど YTA V に対する感受性が高いことが報告されている。また、天然種苗でも小型個体ほど YTA V の感染率が高かったと報告されている⁴⁾。今回の疫学調査の結果は、これらの知見とほぼ一致しており、YTA V に対する感受性が高い水温(時期)の防除対策について検討する必要があると考えられた。

VA 発生時の水温(時期) VA が発生した時の飼育水温は表2および3に示されるように、種苗生産ではブリお

よびヒラマサにおいて、それぞれ 22~23°C および 21~24°C であった。これらの水温範囲のうち、各魚種での発生事例において、VA の発生が集中して認められたのは、ブリで 22~23°C、ヒラマサでは 22~24°C であった。したがって、種苗生産においては水温 22~24°C の範囲で VA が最も発生しやすいと考えられた。

一方、中間育成では、ブリおよびヒラマサにおいて、それぞれ 16~28°C および 21~29°C の水温範囲で発生した。このうち、発生事例が集中したのはブリおよびヒラマサでそれぞれ 22~25°C および 23~25°C であった。したがって、中間育成においては水温 22~25°C の範囲で VA が最も発生しやすいと考えられた。

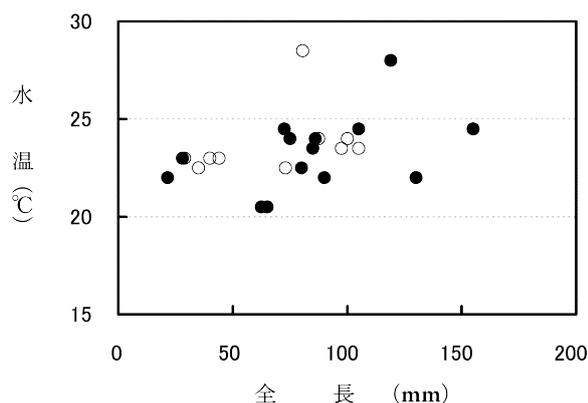


図2. ブリおよびヒラマサの種苗生産過程におけるVA発症時の全長と水温の関係
●: ブリVA発症時の全長と水温の中央値, ○: ヒラマサVA発症時の全長と水温の中央値。

両魚種の種苗生産および中間育成におけるVAの発生事例について、発生時における全長の中央値と飼育水温の中央値の関係を図2に示す。両魚種間において、発病サイズに大きな差はなく、ブリとヒラマサでそれぞれ1事例ずつ27~28°Cの水温範囲での発生事例があった(図2)。しかし、その他の発生事例は、全長100mm以下の発生事例が多い傾向がみられるものの、すべて水温20~25°Cの範囲内で発生している。このことは、浸漬感染によりブリ稚魚にYTAVを感染させた結果、飼育水温が20°Cまたは25°CにおいてVAにより死亡するという実験結果⁹⁾とよく一致した。

魚種間の感受性の違い 種苗生産ではブリおよびヒラマサとも90%以上の個体が死亡する事例があり、VAの発生は、ブリのみならずヒラマサにおいても計画的な種苗生産を行う上で大きな障害の一つになりうると考えられた。また、中間育成では、ブリに比べてヒラマサの方が死亡率は高い事例が多かった。ブリとヒラマサとの間でYTAVに対する感受性を比較した報告はないが、全長50mmサイズの両魚種を $10^{5.8}$ TCID₅₀/mlのウイルス液に60分間浸漬する感染実験を行ったところ、感受性に差は認められていない^{*}。また、一色・楠田¹¹⁾は、ブリの天然稚魚とヒラマサ・カンパチの雑種稚魚を用いて、YTAVに対する感受性を比較した結果、ブリ稚魚の方が感受性は高かったことを報告している。ただし、この試験では、ヒラマサとカンパチの雑種稚魚が材料魚に使われているため、一概に比較はできないものと思われる。

感染経路 すでに述べたように、ブリの種苗生産では、採卵用親魚からふ化仔魚への垂直伝播がYTAVの感染経路であると考えられている⁹⁾。すなわち、産卵を誘発するためのホルモンを注射する前の親魚からはYTAVは全く検出されなかったが、ホルモン注射48時間後に得られた卵巣液を含む卵巣および精液からはそれぞれ93%および20%と、高率にウイルスが検出されており、

垂直伝播の可能性が強く示唆されている。これは、元来産卵試験に使用した親魚がYTAVに不顕性感染しており、ホルモン注射の影響によって何らかのメカニズムにより体内でウイルスが増殖し、結果的に卵巣あるいは精液を汚染するに至ったと考えられる。全く同様の現象がシマアジ *Pseudocaranx dentex* 親魚におけるウイルス性神経壊死症¹²⁾ (viral nervous necrosis: VNN) 原因ウイルス¹³⁾についても認められている¹⁴⁾。シマアジにおいてはホルモン注射が血中コルチゾールの上昇に裏づけられるストレス反応を誘発し、親魚の生体防御機能を低下させたことが原因と考えられているが¹⁴⁾、ブリの場合も同様の可能性が示唆された。

五島栽培漁業センターにおけるブリの親魚養成では、これまで天然の幼魚または成魚を親魚に養成し、ホルモン注射により産卵誘発を行ってきた。この過程で親魚候補群に用いた魚の一部がすでにYTAVに感染し、不顕性感染の状態では親魚に成長し、産卵誘発刺激がストレスサーとなって体内でのウイルス増殖を引き起こし、結果的に垂直伝播に至った可能性が高いと考えられる。また、ヒラマサについても同様に天然魚を用いて親魚養成を実施していること、ホルモン注射により産卵誘発を行っていること、およびVAの発生状況がブリと類似していることから、ブリと同様に垂直伝播している可能性が高いと示唆された。ただし、両魚種とも産卵直前の時期における親魚の生殖腺のウイルス検査は実施していないので、YTAVの垂直伝播に関する直接的な証拠は得られていない。

一方、中間育成での感染経路に関しては、過去のブリ養殖場での発生事例^{15~18)}と同様に、水平伝播が主たる感染経路と考えられる。まず、種苗生産では発病までに至らなかった不顕性感染魚が、陸上水槽での取り揚げ作業や海面小割生簀への沖出し作業などがストレスサーとなり、体内でウイルスが増殖し発病に至ったと考えられる。そして、死亡魚から排出されたYTAVが他の健全な個体に水平伝播したと考えられる。このことは、実験的にも浸漬攻撃が容易に成立すること³⁾からも裏づけられよう。

対策 本研究では、VAが自然発生したブリ稚魚の飼育水温を加温し、22°Cから26°Cまで上昇させることにより、自然水温区(対照区)に比べ死亡率を著しく低減できることが明らかとなった。また、図2に示されるように、水温25°C以上での自然発生例は非常に少ないことから、飼育水温を25°C以上に設定することにより本症の発病をある程度抑制できると考えられた。今後、ブリやヒラマサでの種苗生産試験では、親魚の産卵水温よりも6~7°C高い水温(25~26°C)で飼育することが、本症の発病抑制に効果があると考えられる。同様の知見については、浸漬攻撃を行った後に水温25°Cで飼育することに

* 五島栽培漁業センター 長倉義智氏私信

より、20°Cで飼育した場合よりも死亡率が低く、腹水貯留の症状も少なかったことが報告されている¹⁾。

海産魚のウイルス性疾病において、前述したシマアジのVNNでは、親魚からの垂直感染が主たる感染経路であることが証明されている¹⁹⁾。防除対策としては、産卵直前の親魚生殖腺をPCR法により検査し、その検査結果に基づく親魚の選別と得られた卵の消毒が、種苗生産過程におけるVNNの防除に有効であることが報告されている^{12, 20~22)}。ブリやヒラマサの種苗を計画的かつ安定して確保するためには、VAの発生を防除する必要があり、そのためにはPCR法などを用いてYTAVを保有する親魚を選別し、PCR陰性と判定された親魚のみから採卵する手法が有効であると考えられる。ただ、VA防除のための卵消毒については、YTAVが卵内に侵入しているか否かは調べられていないため、効果は不明といわざるをえない。

VAのワクチン開発による防除の可能性もあるが、実際のところはワクチン開発の要請自体はさほど高くないと思われる。したがって、種苗生産におけるVAの防除には、産卵直前のウイルス検査に基づいてウイルスを保有しない親魚の選別と種苗の飼育水温を25~26°Cに高める方法が最も現実的であると考えられた。

謝 辞

本報告を取りまとめる機会を与えられるとともに、貴重なご助言をいただきました独立行政法人水産総合研究センター上浦栽培漁業センターの岡 雅一場長、中野昌次技術開発員に感謝します。また、データの取りまとめに当たり、種々のご協力をいただきました伯方島栽培漁業センターの高橋 誠技術開発員ならびに五島栽培漁業センターの濱田和久技術開発員にお礼申し上げます。

参考文献

- 1) 反町 稔・原 武史 (1985) 腹水症を呈するブリ稚魚から分離されたウイルスについて. 魚病研究, **19**, 231-238.
- 2) 日本魚病学会 (2004) 選定された魚病名 (2004年改訂). 魚病研究, **39**, 223-233.
- 3) 反町 稔・江草周三 (1986) ブリ稚魚に対するウイルスYAVの感染実験. 魚病研究, **21**, 133-134.
- 4) 一色 正・川合研児・楠田理一 (1989) 天然採捕ブリ稚魚におけるYAV感染. 日水誌, **55**, 633-637.
- 5) 一色 正・川合研児・楠田理一 (1989) 養殖ブリにおけるYAVと抗YAV中和抗体の保有の推移. 日水誌, **55**, 1305-1310.

- 6) 一色 正・川合研児・楠田理一 (1993) 採卵用ブリ親魚からのYAVと抗YAV中和抗体の検出. 魚病研究, **28**, 65-69.
- 7) WOLF, K., and M. C. QUIMBY (1962) Established eurythermic line of fish cell *in vitro*. *Science*, **135**, 1065-1066.
- 8) FRYER, J. L., A. YUSHA, and K. S. PILCHER (1965) The *in vitro* cultivation of tissue and cells of Pacific salmon and steelhead trout. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **126**, 566-586.
- 9) SUZUKI, S., N. HOSONO, and R. KUSUDA (1997) Detection of aquatic birnavirus gene from marine fish using a combination of reverse transcription- and nested PCR. *J. Mar. Biotechnol.*, **5**, 205-209.
- 10) 楠田理一・一色 正 (1987) ブリ稚魚のYAVに対する感受性. 高知大海洋生物研究報告, **9**, 51-57.
- 11) 一色 正・楠田理一 (1987) 各種海産魚のYAVに対する感受性. 魚病研究, **22**, 191-194.
- 12) 室賀清邦・古澤 徹・古澤 巖 (1998) 総説シマアジのウイルス性神経壊死症. 水産増殖, **46**, 473-480.
- 13) MORI, K., T. NAKAI, K. MUROGA, M. ARIMOTO, K. MUSHIAKE, and I. FURUSAWA (1992) Properties of a new virus belonging to Nodaviridae found in larval striped jack (*Pseudocaranx dentex*) with nervous necrosis. *Virology*, **187**, 368-371.
- 14) 虫明敬一 (2000) シマアジ親魚の産卵に伴って増殖するウイルス性神経壊死症(VNN)原因ウイルス(SJNNV)とその抑制対策. 水産増殖, **48**, 109-115.
- 15) 愛媛県魚病指導センター (1984) 2. 事業の実施状況. 愛媛県魚病指導センター事業報告書 (昭和58年度), pp. 3-37.
- 16) 愛媛県魚病指導センター (1984) (2) ハマチ稚魚の腹水症について. 愛媛県魚病指導センター事業報告書 (昭和58年度), pp. 53-56.
- 17) 愛媛県魚病指導センター (1985) 2. 診断治療業務. 愛媛県魚病指導センター事業報告書 (昭和59年度), pp. 5-20.
- 18) 愛媛県魚病指導センター (1985) 2) ブリ稚魚の腹水症について. 愛媛県魚病指導センター事業報告書 (昭和59年度), pp. 33-34.
- 19) ARIMOTO, M., K. MUSHIAKE, Y. MIZUTA, T. NAKAI, K. MUROGA, and I. FURUSAWA (1992) Detection of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Fish Pathol.*, **27**, 191-195.
- 20) MUSHIAKE, K., T. NISHIZAWA, T. NAKAI, I. FURUSAWA, and K. MUROGA (1994) Control of VNN in striped jack: Selection of spawners based on the detection of SJNNV gene by polymerase chain reaction (PCR). *Fish Pathol.*, **29**, 177-182.
- 21) MORI, K., K. MUSHIAKE, and M. ARIMOTO (1998) Control measures for viral nervous necrosis in striped jack. *Fish Pathol.*, **33**, 443-444.
- 22) 虫明敬一・有元 操 (2000) 総説 シマアジのウイルス性神経壊死症(VNN)に関する防除対策. 栽培技研, **28**, 47-55.