

ブリとヒラマサにおけるYTAVに対する感受性の比較

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-06-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 長倉, 義智, 西村, 卓哉, 虫明, 敬一, 佐藤, 純, 服部, 圭太, 岡本, 信明 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014748

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



ブリとヒラマサにおける YTAV に対する感受性の比較

長倉 義智^{*1}・西村 卓哉^{*2}・虫明 敬一^{*3}・佐藤 純^{*3}・服部 圭太^{*1}・岡本 信明^{*4}

(^{*1} 五島栽培漁業センター, ^{*2} いなば食品株式会社, ^{*3} 上浦栽培技術開発センター, ^{*4} 東京海洋大学)

1983年に、瀬戸内海の一産苗生産場においてブリ稚魚が腹水貯留を呈して大量に死亡し、ウイルス学的研究により本病はウイルス病であることが確認された¹⁾。その後、病理組織、感染経路およびウイルス学的性状などについて検討され²⁻⁸⁾、本病は、ウイルス性腹水症 (viral ascites, 以下VA)⁹⁾、原因ウイルスは現在では国際的命名法によりYTAV (yellowtail ascites virus) と呼ばれている。

ブリ *Seriola quinqueradiata* およびヒラマサ *Seriola lalandi* の産苗生産場における本病の発生は、中間育成の段階で問題となった事例が多いが、産苗生産過程でも死亡率が90%を越えた事例が両種ともみられ、計画的な生産を行う上では大きな障害の一つになっているといえる¹⁰⁾。しかし、これら両魚種間におけるYTAVに対する感受性を比較した報告はこれまでにない。そこで、両魚種で感染実験を行い、YTAVに対する感受性を比較したので報告する。

材料と方法

供試魚 試験には、2002年に五島栽培漁業センターで産苗生産されたブリ稚魚200尾 (平均全長50mm, 平均体重1.36g) およびヒラマサ稚魚250尾 (平均全長54mm, 平均体重1.71g) を用いた。

供試ウイルス VAで死亡したブリ幼魚からCHSE-214 (マスノスケの胚由来) 細胞により分離されたYTAVを、CHSE-214細胞に接種し20℃で6日間培養後、遠心分離 (3,000×g, 4℃, 5分) により得られた上清を-80℃で凍結保存した。なお、CHSE-214細胞を用いて測定したウイルス感染価は、 $10^{8.0}$ TCID₅₀/mlであった。

感染方法と飼育 ブリおよびヒラマサのそれぞれについて、供試ウイルスを100倍および1,000倍に希釈した海水2.5ℓ (ウイルス感染価： $10^{6.0}$ TCID₅₀/mlおよび $10^{5.0}$ TCID₅₀/ml) に、供試魚各50尾を60分間浸漬して感染させた後、各区分々に円形ポリエチレン水槽 (実水量60ℓ) に収容して11日間飼育した (表1)。なお、対照区はMEM₁₀ (ウシ胎児血清10%添加イーグルMEM培地) を100倍に希釈した海水に、それぞれブリ稚魚およびヒラマサ稚魚を浸漬し、その後、同様に飼育した。浸

漬感染中は通気し、その間の水温は20.0 ~ 20.8℃であった。感染後の飼育試験期間中は、各水槽に配合飼料を1日当たり5g/50尾給餌した。また、20℃に調温した海水を換水率が1日当たり12回転となるように注水するとともに、ウォーターバス方式により飼育水温を20℃に維持した。死亡魚は適宜取上げ、体測後、その症状を観察し、肝臓を摘出して-80℃に保存した。所定の観察期間が経過した生残魚についても、同様に肝臓を摘出し、-80℃に保存した。また、実験終了時における両魚種間の累積死亡率についてMann-Whitney検定を行った。

ウイルス検査 凍結保存した死亡魚および生残魚の肝臓の一部について、ポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction: PCR) 法によるウイルス検査を行った。PCR法によるウイルス検査は、常法に従ってISOGEN (日本ジーン製) を用いてウイルスRNAを抽出し、Suzuki et al.¹¹⁾ の方法に準じてPCR反応を行った後、増幅産物の有無を確認した。なお、実験開始直前に供試魚の一部の魚についてPCR法を用いたウイルス検査を行ったが、ブリおよびヒラマサともウイルスは検出されなかった。

結 果

感染実験 ブリにおいては、YTAV感染3日後から死亡がみられ、供試ウイルスを100倍に希釈した実験区では累積死亡率が4日後から6日後にかけて急激に上昇して58 ~ 66%に達し、その後、9日後まで漸増し、最終的な累積死亡率は65 ~ 72%となった (図1)。また、1,000倍に希釈した実験区では、累積死亡率は4日後から8日後にかけほぼ一定の割合で上昇し、最終的には24%となった (図1)。これらの死亡魚の大半は腹水症状を呈し、肝臓に著しい出血が観察された。実験終了時の生残魚の平均全長は61 ~ 63mm, 平均体重は2.0 ~ 2.1gであった。なお、対照区では死亡は全く認められなかった。

一方、ヒラマサでは、YTAV感染2日後から死亡がみられ、供試ウイルスを100倍に希釈した実験区では累積死亡率が4日後に急激に上昇し、その後、8日後までほぼ一定の割合で上昇し、最終的な累積死亡率は55%となった (図2)。また、1,000倍に希釈した実験区における累積死亡率は、ブリと同様に4日後から8日後にかけほぼ一定の

表1 Y T A V感染実験における実験区設定

魚種	実験区	供試尾数 (尾)	供試ウイルス原液 あるいは MEM ₁₀ *1	浸漬液におけるウイルス 原液あるいは MEM ₁₀ の希釈倍率 (倍)	浸漬液の ウイルス濃度 (TCID ₅₀ /ml)	浸漬時間 (分)
ブ リ	対照区	50	MEM ₁₀	100	0	60
	100 倍区	1	YTAV (10 ^{8.0} TCID ₅₀ /ml)	100	10 ^{6.0}	60
		2	YTAV (10 ^{8.0} TCID ₅₀ /ml)	100	10 ^{6.0}	60
	1000 倍区	50	YTAV (10 ^{8.0} TCID ₅₀ /ml)	1000	10 ^{5.0}	60
ヒラマサ	対照区	50	MEM ₁₀	100	0	60
	100 倍区	1	YTAV (10 ^{8.0} TCID ₅₀ /ml)	100	10 ^{6.0}	60
		2	YTAV (10 ^{8.0} TCID ₅₀ /ml)	100	10 ^{6.0}	60
	1000 倍区	1	YTAV (10 ^{8.0} TCID ₅₀ /ml)	1000	10 ^{5.0}	60
		2	YTAV (10 ^{8.0} TCID ₅₀ /ml)	1000	10 ^{5.0}	60

*1 ウシ胎児血清10%添加イーグルMEM培地

表2 Y T A V感染実験におけるPCR法によるウイルス検査結果

魚種	実験区	生残個体			死亡個体		
		検査個体数 (尾)	陽性個体数 (尾)	陽性率 (%)	検査個体数 (尾)	陽性個体数 (尾)	陽性率 (%)
ブ リ	対照区	15	0	0	—	—	—
	100 倍区	1	11	2	35	32	91
		2	17	1	31	31	100
	1000 倍区	36	4	11	10	9	90
ヒラマサ	対照区	20	0	0	—	—	—
	100 倍区	1	21	6	27	27	100
		2 *1	0	—	0	—	—
	1000 倍区	1	36	6	13	13	100
		2 *1	0	—	0	—	—

*1 未検査

割合で上昇し、最終的に26%となった(図2)。これらの死亡魚には腹水症状を呈する個体とそうでない個体があり、肝臓にはブリの死亡魚でみられたような顕著な出血は観察されなかった。実験終了時の生残魚の平均全長は65～68mm、平均体重は2.9～3.3gであった。なお、対照区では死亡は全く認められなかった。

同一のウイルス株による感染実験の結果、両魚種間で累積死亡率に有意な差は認められなかった(p<0.05)。

ウイルスの検出 ブリでは一部の死亡魚でウイルスが検出されなかったが、ヒラマサではすべての死亡魚でウイルスが検出された。また、生残魚でもブリで6～18%、ヒラマサで17～29%からウイルスが検出された(表2)。なお、対照区からはウイルスは検出されなかった。

考 察

本感染実験では、ブリとヒラマサの間で累積死亡率に有意な差が認められず、また、同様の死亡状況を示したことから、今回設定したウイルス濃度では両魚種間でYTAVに対する感受性に差がないことが示唆された。しかし、今回よりもさらに高い希釈倍率、すなわち、ウイルス力価の低い濃度での感染実験の結果がないため、今後、さらに検討を要するものと考えられた。一方、ブリではほとんどの死亡魚が腹水症状を呈していたのに対し、ヒラマサでは腹水症状を呈する個体とそうでない個体とがあった。また、ブリで肝臓に出血が認められたのに対し、ヒラマサでは必ずしも認められず、YTAVによる死亡魚

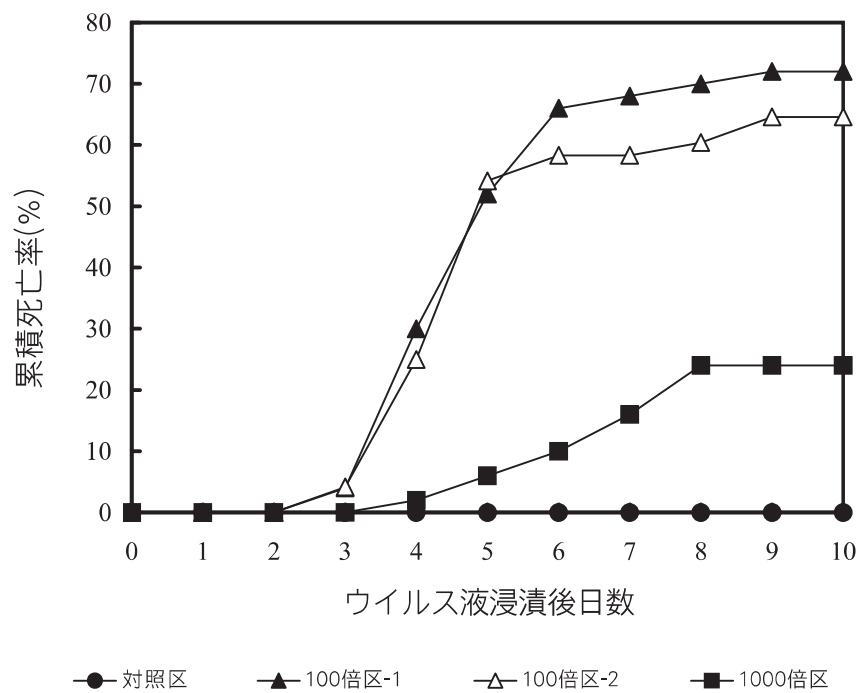


図1 プリのY T A V感染実験における累積死亡率の推移

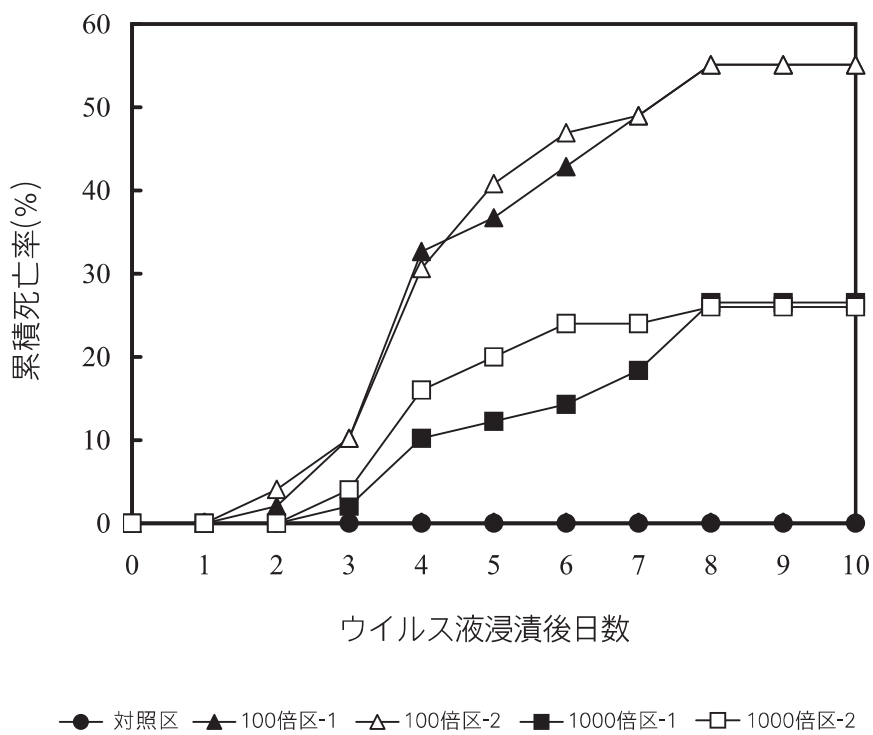


図2 ヒラマサのY T A V感染実験における累積死亡率の推移

の症状には違いがみられた。

今回は、ブリとヒラマサの2魚種での実験であったが、ブリ属における感受性を比較するという観点から、重要種であるカンパチ *Seriola dumerili* についても、このような症状の違いも含めたYTAVに対する感受性の検討が必要であろう。

本報では、実験スペースの兼ね合いから、小型水槽（実水量60ℓ）を用いた感染方法および飼育方法の標準化を行った（長倉，未発表）。その結果、ブリおよびヒラマサにおいてダブルで設定された実験区での累積死亡率はほぼ同じ、とくにヒラマサでは同じ死亡率を示したことから、精度の高い実験が可能となった。この標準化された方法を用いることでYTAVの病原性あるいは宿主の抵抗性を正しく評価できるものと考えられた。ブリ稚魚のYTAVに対する感受性は魚の大きさにより異なる⁵⁾ことから、実験に先立ち、供試魚の大きさを揃えることも重要な要因となり得ることが示唆された。そのため、事前に供試魚の大きさを揃えるための選別を行うなどの工夫も必要と考えられた。

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) 藤巻由紀夫・服部浩一・畑井喜司雄・窪田三朗 (1986) 腹水症を伴うブリ稚魚の光顕的ならびに電顕的研究. 魚病研究, **21**, 105-111.
- 3) 江草周三・反町 稔 (1986) ブリ稚魚のYellowtail Ascities Virus (YAV) 感染症の病理組織学的研究. 魚病研究, **21**, 113-121.
- 4) 宮崎照雄 (1986) 三重県下で発生したブリ稚魚のウイルス性腹水症重篤例の病理組織像. 魚病研究, **21**, 123-127.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 西岡豊弘・塩澤 聡・小金隆之・小磯雅彦・虫明敬一・有元 操 (2006) 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. 栽培技研, **33**, 77-83.
- 11) Suzuki, S., N. Hosono, and R. Kusuda (1997) Detection of the aquatic birnavirus gene from marine fish by using a combination of reverse transcription- and nested-PCR. *J. Mar. Biotechnol.*, **5**, 205-209.