

安全な農畜水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業

「アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発」(令和2年度/国庫委託)

一天然水域における PaPV 動態調査 2—

石川孝典・西村友宏・野中信吾・森 竜也・小原明香・小堀功男

久保田仁志・和田新平¹・佐野元彦²

目 的

アユ養殖における異型細胞性鰓病 (ACGD) は、細菌性冷水病と同様に大きな魚病被害を生じさせている。しかし、発症メカニズムの解明や予防方法の開発には未だに至っていない。そこで、ACGD の主因として疑われるアユボックスウイルス (PaPV) に注目し、天然水域における動態を把握するために県内那珂川で採捕されたアユを対象に PaPV の保菌検査を実施した。

材料および方法

調査対象 茂木町内の那珂川で 2019 年 4 月から 5 月および 2020 年 3 月から 5 月にかけて採捕された遡上稚魚、ならびに 2020 年 6 月から 10 月に大田原市湯津上地区から那珂川町小川地区の那珂川および支流箒川で採捕された生息魚を調査対象とした (表 1 および 2)。

調査方法 調査個体の鰓弁の一部から抽出した DNA を鋳型 DNA として Semi-nested PCR 法による

PaPV の検出を試みた。

DNA の抽出は、市販試薬 (MightyPrep reagent for DNA, タカラバイオ) を使用し、マニュアルに従って行った。Semi-nested PCR 法の初回 PCR は、前述の抽出 DNA を鋳型 DNA として実施した。2 回目の PCR は、陰性となった初回の PCR 産物を TE バッファーにより 50 倍希釈したものを鋳型 DNA として行った。プライマー、PCR 反応試薬の組成および PCR 条件は既報に従った。¹⁾ 増幅された DNA 断片の確認は、1%アガロースゲルによる電気泳動を行い、GelRed (Biotium) により染色することで確認した。

結果および考察

遡上稚魚 当県におけるアユの遡上稚魚は、3 月下旬から 4 月初旬に初確認される。本調査でも遡上確認当初の個体から PaPV の保菌が確認され、この傾向は調査終期の 5 月下旬まで続いた (表 1)。和歌山県の海域ではアユ稚魚やマイワシ稚魚から PaPV の保菌が確

表 1 アユ遡上稚魚における PaPV の保菌検査結果

採捕日	調査 個体数	平均 魚体重(g)	1st PCR		2nd PCR		Total		
			陽性 尾数 / 検査 尾数	陽性率 (%)	陽性 尾数 / 検査 尾数	陽性率 (%)	陽性 尾数 / 検査 尾数	陽性率 (%)	
2019年	4 月 3 日	2	4.4	0 / 2	0.0	1 / 2	50.0	1 / 2	50.0
	4 月 9 日	10	2.6	2 / 10	20.0	8 / 8	100	10 / 10	100
	4 月 16 日	21	3.7	4 / 21	19.0	12 / 17	70.6	16 / 21	76.2
	4 月 23 日	8	4.5	6 / 8	75.0	1 / 2	50.0	7 / 8	87.5
	5 月 7 日	30	4.7	10 / 30	33.3	17 / 20	85.0	27 / 30	90.0
	5 月 14 日	20	5.3	5 / 20	25.0	15 / 15	100.0	20 / 20	100
	5 月 22 日	30	7.7	4 / 30	13.3	24 / 26	92.3	28 / 30	93.3
	5 月 28 日	30	6.9	5 / 30	16.7	24 / 25	96.0	29 / 30	96.7
2020年	3 月 19 日	5	3.2	5 / 5	100	—	—	5 / 5	100
	3 月 26 日	12	3.4	11 / 12	91.7	1 / 1	100	12 / 12	100
	4 月 2 日	23	4.7	1 / 23	4.3	22 / 22	100	23 / 23	100
	4 月 9 日	30	5.0	1 / 30	3.3	29 / 29	100	30 / 30	100
	4 月 16 日	30	6.1	7 / 30	23.3	23 / 24	95.8	29 / 30	96.7
	4 月 23 日	30	4.0	2 / 30	6.7	28 / 28	100	30 / 30	100
	4 月 30 日	30	6.0	6 / 30	20.0	21 / 24	87.5	27 / 30	90.0
	5 月 7 日	30	9.1	0 / 30	0.0	30 / 30	100	30 / 30	100
	5 月 14 日	30	9.6	7 / 30	23.3	22 / 23	95.7	29 / 30	96.7
	5 月 22 日	30	6.1	1 / 30	3.3	28 / 29	96.6	29 / 30	96.7
	5 月 29 日	30	8.6	0 / 30	0.0	29 / 30	96.7	29 / 30	96.7

¹ 日本獣医生命科学大学, ² 東京海洋大学

表 2 アユ採捕成魚における PaPV の保菌検査結果

サンプリング日	採捕方法	平均魚体重(g)	1st PCR			2nd PCR			Total		
			陽性尾数	検査尾数	陽性率(%)	陽性尾数	検査尾数	陽性率(%)	陽性尾数	検査尾数	陽性率(%)
6月15日	友釣り	30.2	8	30	26.7	20	22	90.9	28	30	93.3
7月22日	友釣り	32.0	0	26	0.0	19	26	73.1	19	26	73.1
8月21日	投網	56.2	0	30	0.0	26	30	86.7	26	30	86.7
9月24日	投網	35.9	0	35	0.0	31	35	88.6	31	35	88.6
10月24日	投網	41.2	0	30	0.0	28	30	93.3	28	30	93.3

認されている。²⁾ 海域に存在する PaPV が海域生活期のアユ仔稚魚に水平感染すること魚に水平感染することで、PaPV を保菌したアユ稚魚が本県に遡上している可能性が示唆された。

生息魚 県内の那珂川では6月からアユの漁獲が解禁されているが、解禁当初の個体からも9割を超える高頻度で PaPV の保菌が確認された(表2)。また、その後も保菌が高頻度に確認され、アユ漁終期の10月までその状況は続いた。

以上の結果から、内陸県である当県の天然水域は、遡上稚魚が確認される春期から産卵のために降河する秋期まで PaPV は天然水域に存在するものと考えられる。今後は、ACGD が発症する養殖場への侵入経路の解明が求められる。

謝辞

試料の遡上稚アユの採捕にご協力いただいた栃木県那珂川漁業協同組合連合会代表理事会長の佐藤文男氏に深謝する。なお、本研究は農林水産省「安全な農畜水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業(国内主要養殖魚の重要疾病のリスク管理技術の開発)」(JPJ00867. 19190702)により実施した。

引用文献

- 1) 石川孝典・西村友宏・石原学・森竜也・和田新平・佐野元彦. 戦略的プロジェクト研究推進事業「アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発」-天然水域における PaPV 動態調査-. 栃木県水産試験場研究報告. 2020 ; 64 : 11-12.
- 2) Nakayama H, Uno E, Ashizawa T, Miwa S. PCR-detection of *Plecoglossus altivelis* Poxvirus-like Virus (PaPV) in wild ayu. *Fish Pathol.* 2016 ; 51 : 121-124.

(水産研究部)