

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5年度/国庫委託)

一異型細胞性鰓病の発症要因の解明4一

高木優也・渡邊長生・武田維倫・和田新平¹・佐野元彦²

目 的

アユの異型細胞性鰓病(以下『ACGD』)は、県内の養殖場において細菌性冷水病と並び大きな魚病被害を生じさせている。一方で、那珂川の天然遡上稚魚でも3月頃から高い陽性率でACGDの原因となるアユポックスウイルス(以下『PaPV』)が検出されるが¹⁾、栃木県内では天然水域での被害発生は見られない。このことは、魚体が小型で感染した場合には発症せず、感染耐過魚となっている可能性を示唆する。

また、養殖場内の汚染状況から、感染のまん延は感染魚を含んだ凍結加工原料等に起因すると推測されている。²⁻³⁾

そこで、魚体サイズ別感染試験及び耐過魚への再感染試験によって、魚体サイズが死亡率に与える影響及び耐過魚が免疫を獲得するかどうかを調査した。さらに、県内の4業者に聞き取った保存温度(-18~-20℃)で2ヶ月保存した発病魚を感染源とした感染実験によって、凍結加工原料からの感染が起こり得るかを調査した。

材料および方法

サイズ別感染試験

供試魚 栃木県漁業協同組合連合会種苗センターで生産された人工種苗を当场で育成した平均体重0.5g, 1.8gのアユ(七色系), 及び東京海洋大学吉田フィールドステーションで生産された人工種苗を当场で育成した平均4.1gのアユ(吉田ST)を用いた。細菌性鰓病(BGD)原因菌対策として、接種前日にニフルスチレン酸(商品名:エルバージュエース)水溶液に100ppmの濃度で4時間浸漬した。

設定区 2区を設け、攻撃区では供試魚を後述の濾過液に6時間浸漬し、対照区ではMEMに6時間浸漬した。一連の実験を、供試魚のサイズ別に計3回実施した。

観察期間と項目 0.5gサイズについては、1月21日から2月10日の21日間、1.8gサイズについては4月8日から4月28日までの21日間、4.1gサイズについては、7月14日から8月28日までの28日間とした。4.1gサイズについては20日目に急激な死亡が見られ

たため観察期間を1週間延長した。

毎日、遊泳状況や摂餌状況を観察した。また、サンプリングした供試魚および死魚(瀕死魚)は鰓の肉眼観察(異常が疑われるものは顕微鏡観察)をし、PaPVのPCR検査を実施した。

接種源及び接種方法 前掲の試験と同様とした。⁴⁾

飼育条件 水量を約360LとしたヨーロッパタイプFRP水槽に、オゾン殺菌河川水を換水率2回/日の割合で注水し、観賞魚用ヒーターおよびクーラーで水温20℃となるように調温しながら供試魚を50尾/区の密度で収容し、飼育観察を開始した。飼育期間中は魚体重の1.0~3.0%を目安に配合飼料を毎日給餌した。各池にライトを設置し、試験開始前も含めて、24時間の長日処理を行うことで成熟を抑制した。

再感染試験

供試魚 サイズ別感染試験で感染耐過魚となったと考えられる1.8gサイズの試験区のアユ(表1のNo.3)をそのままの条件で飼育し、平均13.2gまで成長させた耐過魚(以下、七色系耐過魚)及び平均12.5gまで成長させた吉田STの種苗を用いた。

設定区 3区を設け、攻撃区では七色系耐過魚及び吉田STを濾過液に6時間浸漬し、対照区では吉田STの供試魚をMEMに6時間浸漬した。

観察期間と項目 9月1日から9月29日までの28日間とした。観察項目は1の試験と同じとした。

接種源及び接種方法 1の試験と同じとした。

飼育条件 供試魚を10尾/区の密度で収容し、魚体重の3.0%を目安に配合飼料を毎日給餌した。その他の飼育条件は1の試験と同じとした。

加工原料からの感染試験

供試魚 平均22.5gまで成長させた吉田STの種苗を用いた。

設定区 2区を設け、-28~-20℃の冷凍庫で2ヶ月間冷凍保存したアユを各3尾、池に直接浸漬した。攻撃区では発症魚(表1のNo.5)を、対照区では非感染魚(表1のNo.6)を用い、浸漬開始から6時間で投入したアユの死体を除去した。

観察期間と項目 11月24日から12月22日までの28日間とした。観察項目は1の試験と同じとした。

接種源及び接種方法 1の試験と同じとした。

飼育条件 供試魚を10尾/区の密度で収容し、魚体重の3.0%を目安に配合飼料を毎日給餌した。その他の飼育条件は1の試験と同じとした。

結果および考察

サイズ別感染試験 0.5gサイズ、1.8gサイズでは攻撃区、対照区ともに死亡は見られなかった。攻撃区ではPaPVのPCR検査で陽性(0.5gサイズ:2/10, 1.8gサイズ:4/10)が確認されたが、対照区の個体はPCR陰性であった。このことは、小型魚では感染しても発症しにくいことを示唆する。一方で、4.1gサイズでは攻撃区で19日目から異常遊泳と急激な死亡が見られ累積死亡率は72%に達した(表1, 図1)。死亡魚では、PaPVのPCR検査で陽性(16/20)であり、鰓弁が棍棒化した個体も観察された。これらから、ACGDが発症したものと考えられる。

対照区でも、累積22%の死亡が見られたが、PaPVのPCR検査結果がすべて陰性であったことや、死亡状況やその症状から“コツキ”による死亡であると考えられた。

表1 サイズ別感染試験の結果

4.1gサイズでは攻撃区のほうが対照区より死亡が多い(正確確率検定 $p < 0.001$)

No.	設定区		供試魚		観察期間(日)	死亡尾数(尾)	累計死亡率(%)	
			系統	平均サイズ(g)				尾数(尾)
1	0.5gサイズ	攻撃区	七色系	0.5	50	21	0	0
2		対照区	七色系	0.5	50	21	0	0
3	1.8gサイズ	攻撃区	七色系	1.8	50	21	0	0
4		対照区	七色系	1.8	50	21	0	0
5	4.1gサイズ	攻撃区	吉田ST	4.1	50	28	36	72
6		対照区	吉田ST	4.1	50	28	11	22

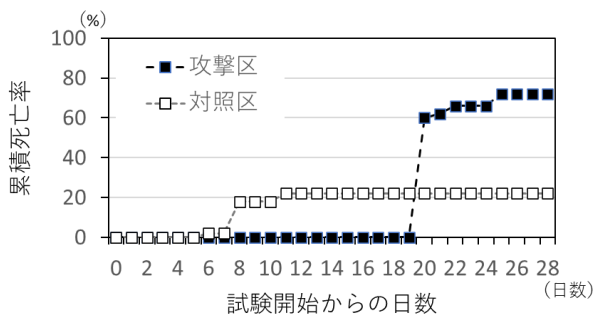


図1 サイズ別感染試験における死亡状況の推移(4.1gサイズ)

再感染試験 サイズ別感染試験で死亡が見られたサイズ(4.1g)の約3倍の魚体重である平均13gまで飼育した個体であっても感染耐過魚での死亡は見られなかった(表2, 図2)。一方、対照区では19日目から異常遊泳と死亡が見られ、死亡個体はPaPVのPCR検査ですべて陽性であり、鰓弁が棍棒化した個体も観察された。これらから、ACGDが発症したものと考えられる。

これらから、同一系統魚の感染対照群がなく、明確ではないものの、小型魚は保菌するが死亡せずに免疫を獲得する可能性があることが示唆された。

表2 再感染試験の結果

攻撃区の吉田STのみ死亡が見られ、攻撃区の七色系耐過魚や対照区より死亡が多い傾向(正確確率検定 $p = 0.08$)

No.	設定区	供試魚			観察期間(日)	死亡尾数(尾)	累計死亡率(%)
		系統	平均サイズ(g)	尾数(尾)			
1	再感染_攻撃区	吉田ST	12.5	10	28	4	40
2		七色系耐過魚	13.2	10	28	0	0
3	再感染_対照区	七色系耐過魚	12.5	10	28	0	0

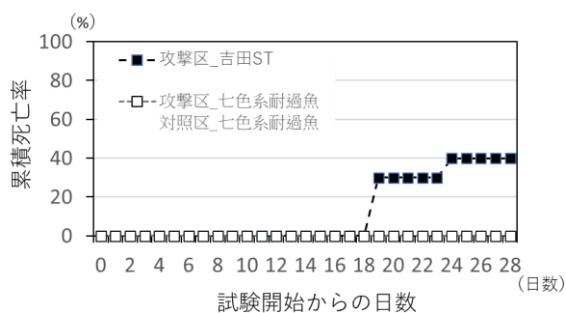


図2 再感染試験における死亡状況の推移

加工原料からの感染試験 実際の業者の保存温度で約2ヶ月凍結保存した発症魚を感染源とした感染試験において、20日目から異常遊泳と急激な死亡が見られ、累積死亡率は80%に達した(表3, 図3)。死亡個体はPaPVのPCR検査ですべて陽性であり、鰓弁が棍棒化した個体も観察された。一方、対照区では死亡は見られず、PaPVのPCR検査結果もすべて陰性であった。これらから、ACGDが発症したものと考えられる。このことは、凍結加工原料からの感染が起こり得ることを意味し、加工場からのウイルス汚染拡大防止が重要であると考えられた。

表 3 加工原料からの感染試験の結果

攻撃区のほうが対照区より死亡が多い (正確確率検定

$p < 0.001$)

No.	設定区	供試魚			観察期間 (日)	死亡尾数 (尾)	累計死亡率 (%)
		系統	平均サイズ (g)	尾数 (尾)			
1	加工原料からの感染_攻撃区	吉田ST	22.5	10	28	8	80
2	加工原料からの感染_対照区	吉田ST	22.5	10	28	0	0

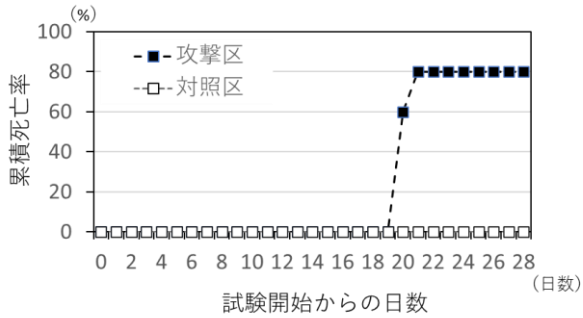


図 3 加工原料からの感染試験における死亡状況の推移

謝 辞

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・野中信吾・森 竜也・小原明香・小堀功男・久保田仁志・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要因の解明と防除法の開発」－天然水域における PaPV 動態調査 2-1. 2020 ; 65 : 9-10.
- 2) 石川孝典・野中信吾・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要因の解明と防除法の開発」－養魚場における PaPV 動態調査 2-1. 栃木県水産試験場研究報告. 2023 ; 67 : 14-15.
- 3) 石川孝典・野中信吾・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要因の解明と防除法の開発」－養魚場における PaPV 動態調査 3-1. 栃木県水産試験場研究報告. 2023 ; 67 : 18-19.
- 4) 石川孝典・野中信吾・森 竜也・久保田仁志・和田新平・佐野元彦. 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)－異型