

魚病対策研究

湯浅明彦・住友寿明

魚介類のへい死、衰弱、異常行動等の原因を究明し、魚病感染症の治療法や防除法を調査研究する。徳島県水産振興公害対策基金加島事業場ではクルマエビ種苗を生産しているが、東部瀬戸内海のクルマエビ資源量が減少し、生産に不可欠な採卵用親エビの確保が難しくなっている。一方、紀伊水道でアジアカエビと呼ばれるクマエビの漁獲量が増加し市場の評価も良いことから、同種の種苗放流の要望が多い。生息環境等は異なるが、幼生の変態や食性がクルマエビと類似するクマエビの種苗生産を試験的に実施することになった。そこで、防疫上重要な採卵用親エビのPRDV感染を検査するとともに、親エビから稚エビへのPRDVの感染防除法としてポピドンヨード製剤による受精卵の消毒法について検討した。

方 法

魚病診断

主に養殖業関係者等から依頼された検体について死亡状況等を確認後、美波庁舎病理研究室で外部症状等を観察するとともに必要な項目を検査して診断した。

クマエビのPAV防疫対策

5月26日、6月15及び16日に加島事業場に搬入した平均体重73.9gのクマエビの成熟雌エビ171尾のうち、翌日及び翌々日に産卵した40尾の受精囊のPRDV遺伝子をLAMP法で検査した。内10尾については、受精囊の他に卵巣と胃もLAMP法で検査した。検査は1尾を1検体として受精囊を摘出し、抽出試薬(DNAzo1, インビトロジェン)で常法に従ってDNAを抽出した。標的DNAの増幅は昨年と同じ改良LAMP法によったが(湯浅2016)、初回の検査は擬陽性を確認するためにPCR法を併用した。LAMP法が陽性でPCR

法が陰性の場合は陰性とした(表3脚注2)。

クルマエビの種苗生産では有効ヨウ素濃度5ppmで5分間浸漬する方法が推奨されている。ところが同法でクマエビ受精卵を消毒すると孵化率が大幅に低下したことから、3段階の有効ヨウ素濃度(1.0, 2.5, 5.0ppm)消毒液にクマエビ受精卵を5分間浸漬して、孵化率と孵化後の幼生死亡率を比較した。

結 果

魚病診断

内水面養殖魚の診断件数は18件で昨年より15件減少し、特にアユは12件減少した(表1)。近年県内では発病事例のないIHNが、4月に他県から受精卵を導入した養殖場で発生した。当該業者には、ウイルス病を防除するヨウ素剤による消毒法を指導した。6月に飼育中のアユ人工種苗に、体表の発赤、軽度の眼球突出、肛門の拡張等を外部症状とする細菌感染症が発生した。腹腔内の出血や脾臓の肥大が認められ、組織スタンプ染色標本から、脳、腎臓、脾臓に原因菌が増殖していることを確認した。特に脾臓の菌数が多かった。原因菌はグラム陰性桿菌で、オキシテトラサイクリン、スルフィソゾールおよびオキシリニン酸に強い感受性を示した。2月に琵琶湖産種苗がエドワジエライクタルリ感染症を発病した、琵琶湖周辺の養殖場では稚アユの発病が見られるが、県下では初めての事例である。腹部、肛門周辺の発赤および鰓の貧血が主な外部症状で、脾臓に結節が形成される場合があった。TSA培地上の発育は悪く、4日間培養しても菌コロニー径は0.6mm以下でしかなかった。スルファモノトキシンとスルフィソゾールに薬剤耐性が認められた。

表1. 内水面養殖魚の月別診断結果

魚種名	魚病名	魚病診断件数												計		
		平成28年										平成29年				
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
アマゴ	IHN	1														1
	セツウ病		1													1
	細菌性鰓病				1									1		2
アユ	冷水病									1			1			2
	エドワジエライクタルリ症												2			2
	細菌性鰓病		1		1	1										3
	異型細胞性鰓病							1								1
	細菌感染症			1												1
	不明													1		1
	ウナギ	シュートダクテルギルス症													1	
	亜硝酸中毒症				1			1					1			3
	合 計	1	2	1	3	1	2	0	1	0	1	3	3			18

海面養殖魚の診断件数は、昨年と同数であった（表2）。7月に地理的に離れた二箇所のブリ養殖場で、細菌性溶血性黄疸症が相次いで発病した。3年魚が発病した養殖場の被害が大きかった。頭部表皮の黄色化、筋肉の白濁と軟化などの症状は認められなかったが、脾臓の肥大と脆弱化が顕著であった。比脾重（体重に対する脾臓重量の割合％）は0.77～1.59、ヘマトクリット値は16.5～17.5を示した。確定診断は原因細菌のDNAを検出するPCR法で判定するが、原因細菌DNAを効率的に抽出して検出感度を高めるためには、遠心分離した血液の凝固沈殿物をDNA抽出試薬で処理すると良い。1～3月に死亡したカンパチはゼウクサブタ症による貧血が重篤で、低水温による

絶食も死亡の要因と考えられた。

クマエビのPAV防疫対策

40検体の内9検体からPRDV遺伝子を検出し、陽性率は22.5%であった。クマエビのPRDV陽性率は、5月18日から29日に検査した採卵クマエビ180尾の陽性率（2.2%）の約10倍であった（表3、4）。施設搬入後1日めのクマエビ産卵エビの陽性率は10.3%、2日めは54.5%、一方クマエビではそれぞれ1.6%と4.9%であった（表4）。受精嚢が陽性の個体は卵巣と胃も陽性を示したが、卵巣と胃が陽性にもかかわらず受精嚢が陰性の個体があり（表5）、受精嚢のみの検査では感染個体を検出できない可能

表2. 海面養殖魚の月別診断結果

魚種名	魚病名	魚病診断件数												計			
		平成28年										平成29年					
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3				
カンパチ	イリドウイルス病					1											1
	ゼウクサブタ症													2	1	1	4
ブリ	細菌性溶血性黄疸症				2												2
クエ	ウイルス性神経壊死症			1		1											2
メジナ	不明				1												1
マアジ	スクーチカ症			1													1
アコヤガイ (D型幼生)	不明	1															1
合計		1	1	2	2	2	0	0	0	0	2	1	1				12

表3. クマエビ産卵エビの採卵日ごとのPRDV検査結果

購入日	検査日	採卵尾数	産卵尾数	平均 ¹⁾ 体重(g)	検査検体数	陽性検体数	陽性率(%)	検査法 ²⁾
5/26	5/27	61	9	71.1	9	1	11.1	LAMP-C
	5/28	48	3		3	1	33.3	LAMP
6/15	6/16	29	10	76.9	10	0		LAMP
	6/17	10	8		8	5	62.5	LAMP
6/16	6/17	23	10	77.4	10	2	20.0	LAMP
合計		171	40	73.9	40	9	22.5	

1) 搬入日の翌日のみ測定した

2) LAMP-CはPCR法の結果と比較して、陽性3検体の内PCR法陰性の2検体を陰性とした

表4. クルマエビとクマエビの経過日数別のPRDV陽性率

魚種	購入日 月/日	経過日数		
		1	2	3
		陽性数/検査尾数		
ク ル マ エ ビ	5/18	1/14	2/17	0/7
	5/19	0/34	0/14	0/4
	5/20	1/25	0/10	0/4
	5/22	0/24		
	5/29	0/27		
合計		2/124	2/41	0/15
ク マ エ ビ	5/26	1/9	1/3	
	6/15	0/10		
	6/16	2/10	5/8	
	合計	3/29	6/11	

表5. クマエビ産卵エビの器官別のPRDV検査結果

No.	体重(g)	LAMP法による判定		
		受精嚢	卵巣	胃
1	57.8	-	-	-
2	69.4	+	+	+
3	63.9	-	-	-
4	51.5	-	-	-
5	65.1	-	-	-
6	51.6	-	+	+
7	61.1	-	-	-
8	52.5	-	-	-
9	70.2	-	-	-
10	60.6	-	-	-

性がある。

42時間後の孵化幼生数は20時間後から1個体増えたのみで、20時間後に孵化はほぼ終了したと考えられる。有効ヨウ素濃度2.5ppmと5.0ppm消毒区の20時間後の孵化率は、対照区よりそれぞれ63%と81%低下した。一方、1ppm消毒区の孵化率の低下は7%にとどまった(表6)。また20時間後の孵化幼生の死亡率は、消毒区が対照区より2.3~4.8倍も高く消毒の影響があったと考えられる。未孵化発生卵は卵発生が停止して孵化にいたらない受精卵のことで、2.5ppm消毒区が計数誤差による過小値と考えられることから、未孵化発生卵はヨウ素濃度依存的に増加したと考えられる。未発生卵には未受精卵が含まれるが、通常クルマエビの受精率が90%以上あることから(佐藤ら2006)、未発生卵の増加は輸送や消毒液から卵を網地で分離する衝撃などのヨウ素濃度に依存しない要

因によると考えられる。

本試験の消毒液に対する卵密度は0.21~0.28g/Lであり、卵密度が0.33g/L以下では有効ヨウ素濃度が減衰しないことから(佐藤ら2006)、有効ヨウ素濃度の低下はなかったと考えられる。卵消毒の影響は卵発生の停止と孵化幼生の死亡であり、ヨウ素濃度1%, 5分間の消毒で孵化率の低下より孵化幼生の死亡により生残率が低下する可能性がある。

文献

湯浅明彦. 魚類防疫体制推進整備事業. 平成27年度徳島水研事報 2016: 35-36

佐藤純, 森広一郎, 西岡豊弘, 服部圭太, 岡雅一, 渡辺研一. ポピドンヨードを用いたクルマエビ受精卵の消毒法. 魚病研究2006; 41(3), 117-120.

表6. ポピドンヨード剤消毒によるクルマエビ受精卵の孵化率低下等の影響

項目	対照区			ポピドンヨード液消毒区								
				1.0ppm			2.5ppm			5.0ppm		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
卵数	87	112	101	87	59	80	120	113	148	114	91	83
20h孵化幼生数	8	22	24	15	10	13	10	8	8	3	2	5
(死亡幼生数)	0	2	2	4	3	2	0	2	3	2	1	2
未孵化発生卵数	50	61	47	50	32	38	63	38	81	75	62	46
未発生卵数	29	29	30	22	17	29	47	37	59	36	27	32
42h孵化幼生数	8	22	24	16	10	13	10	7	8	3	3	5
(死亡幼生数)	2	5	7	4	3	4	1	3	3	3	2	2
孵化率*	9.2	19.6	23.8	17.2	16.9	16.3	8.3	7.1	5.4	2.6	2.2	6.0
試験区平均*	18.0			16.8			6.8			3.5		
幼生死亡率*	0.0	9.1	8.3	26.7	30.0	15.4	0.0	25.0	37.5	66.7	50.0	40.0
試験区平均*	7.4			23.7			19.2			50.0		
未孵化発生卵率*	57.5	54.5	46.5	57.5	54.2	47.5	52.5	33.6	54.7	65.8	68.1	55.4
試験区平均*	52.7			53.1			47.8			63.5		
未発生卵率*	33.3	25.9	29.7	25.3	28.8	36.3	39.2	32.7	39.9	31.6	29.7	38.6
試験区平均*	29.3			30.1			37.5			33.0		

* 孵化率, 幼生死亡率, 未孵化発生卵率はいずれも20時間後, 単位は%