

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)

一異型細胞性鰓病の発症要因の解明一

石川孝典・野中信吾・森 竜也・久保田仁志・和田新平¹・佐野元彦²

目的

アユの異型細胞性鰓病(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ポックスウイルス(PaPV)に注目し、人為感染試験により異なる飼育環境下における病徴の再現を試みた。

材料および方法

供試魚 県漁連で生産された人工種苗を当场で育成した平均体重2.6gのアユ(全雌系)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。

観察期間 2020年6月23日から7月21日までの28日間とした。

設定区 試験区は供試魚を後述の濾過液に浸漬し、異なる水温(18°C, 23°Cおよび28°C)で飼育する3区を設けた。さらにMEMに浸漬した対照区を各飼育水温区に1区ずつ設けた(表1)。

表1 設定区及び接種方法

区名	供試尾数	水温(°C)	接種物	接種方法
試験区①	50	18	鰓磨碎液, 病魚鰓組織重量換算で1/2,000希釈	浸漬, 6時間
試験区②	50	23		
試験区③	50	28		
対照区①	50	18		
対照区②	50	23	MEM	
対照区③	50	28		

接種源および接種方法 前掲の試験と同様とした。¹⁾なお、接種用の濾過液のPaPVのDNAコピー数は 5.3×10^{10} PaPV DNA copies/mLであった。

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規定の水温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%を目安に配合飼料を毎日給餌した。

観察項目 毎日、遊泳状況や摂餌状況を観察した。また、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)を行い、前掲課題と同様の条件でPaPVおよびBGD原因菌のPCR検査を実施した。¹⁾さらに、一部の死亡個体の鰓をリン酸緩衝10%ホルマリン液で固定後、常法によりパラフィン薄切標本作製し、H&E染色の後、鰓弁の状態や異型細胞の有無などACGDに特徴的な病徴を観察した。

結果

飼育および死亡状況 飼育期間中、対照区では異常や死亡は確認されなかった。一方で、試験区①では接種15日後に、試験区②では接種10日後に異常遊泳および鰓蓋が開く個体が目立つようになり、死亡も始まった(図1)。その後、これらの区では3日間死亡が続いた後、終息した。一方で、試験区③および対照区では異常や死亡は観察されなかった。なお、接種10日後から全区で餌止めした。

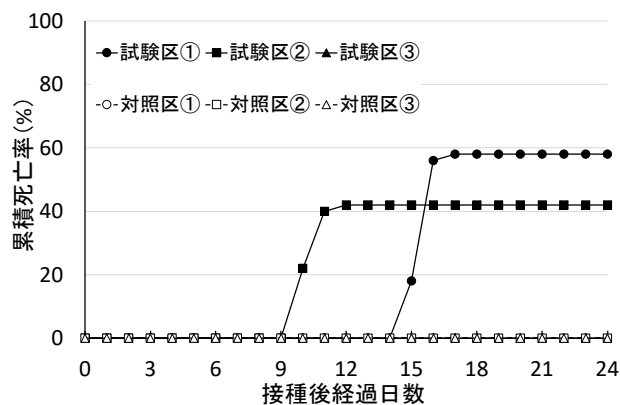


図1 日間死亡尾数変化

PaPVおよびBGD原因菌の保菌 試験区①および②で生じた死亡魚のPCR検査を行った結果、PaPVでは全て陽性、BGD原因菌で全て陰性となった。(表2)。また、死亡魚鰓の顕微鏡ウェットマウント観察でも長桿菌は観察されなかった。

異型細胞の出現状況 死亡魚のうち試験区①の12尾および試験区②の11尾の鰓病理組織標本観察により、全個体で大型異型細胞が観察された(表3)。

¹ 日本獣医生命科学大学, ² 東京海洋大学

表 2 死亡魚の PaPV および BGD 原因菌の PCR

区名	接種後 日数	死亡 尾数	検査結果			
			PaPV		BGD原因菌	
			陽性 尾数	陽性 率(%)	陽性 尾数	陽性 率(%)
試験区①	15	9	9	100	0	0
	16	19	19	100	0	0
	17	1	1	100	0	0
	合計	29	29	100	0	0
試験区②	10	11	11	100	0	0
	11	9	9	100	0	0
	12	1	1	100	0	0
	合計	21	21	100	0	0

型細胞性鰓病の病徴の再現 2-1. 栃木県水産試験場研究報告. 2021 ; 65 : 68-70.

(水産研究部)

表 3 死亡魚の異型細胞の出現状況

区名	接種後 日数	死亡 尾数	異型細胞		
			調査 尾数	陽性 尾数	陽性 率(%)
			試験区①	15	9
16	19	3		3	100
17	1	0		0	0
合計	29	12		12	100
試験区②	10	11	11	11	100
	11	9	0	0	0
	12	1	0	0	0
	合計	21	11	11	100

考察

今回の感染試験では、18°C および 23°C の飼育水温では ACGD が発症し死亡が生じたが、28°C では発症がなかった。県内のアユ養殖環境では、通常 16°C から 23°C の水温帯で飼育されることが多く、ACGD は通常のアユ飼育水温帯で発症する可能性が高い。一方で、28°C で飼育した試験区では ACGD の発症が見られなかったことから、ある一定以上の高水温帯では PaPV に感染しても ACGD が発症しないことが示唆された。今後、水温以外の発症要因あるいは発症抑制要因についてさらに調査を進める必要がある。

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・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