

ウイルス性神経壊死症 (VNN) を耐過したヤイトハタからの 養殖期間中におけるウイルス (NNV) 保有状況 (安全安心な養殖魚生産体制整備事業)

中村博幸*, 知名真智子

Transitions in the detection rate of NNV by RT and nested - PCR during the period of aquaculture on malabar grouper, *Epinephelus malabaricus* recovered from VNN at the juvenile stage

Hiroyuki NAKAMURA*, Machiko CHINA

養殖用種苗として配布されたヤイトハタ人工種苗について、配布から1年3ヶ月後まで、3~7ヶ月おきにRT-PCR法およびnested-PCR法によるVNNウイルスの検出を試みた。配布直後にVNN特有の症状を呈した個体を検査したところ、RT-PCR法ですべての個体からウイルスが検出されVNNの発病が確認された。配布から3ヶ月後以降に実施したRT-PCR法による全ての検査で、ウイルスは検出されなかった。nested-PCR法による検査では、配布から3ヶ月後に100%の検出率であったが、ウイルスの検出率は時間の経過とともに減少し、14ヶ月後は15%であった。今回の調査期間中、VNNを耐過したヤイトハタに病状の再発は確認されなかった。

水産海洋研究センター石垣支所で生産したヤイトハタから、2005年にウイルス性神経壊死症(VNN)が初めて確認された(仲盛ほか2005, 杉山・小澤, 2005)。ヤイトハタ養殖への影響が懸念されたが、木村ほか(2006)の試験で、種苗配布から数ヶ月でVNNによる斃死は終息し、斃死率はそれほど高くないことが分かった。しかし、VNNを耐過した魚が本病原ウイルス(NNV)を保有したままの状態なのか、病状は再発するのか等、ハタ類養殖の振興を目指す本県にとって解明しなければならぬ課題が残されたままである。そこで今回、VNN発病後に生存した養殖ヤイトハタのウイルス保有状況を明らかにするため、PCR法でウイルスの保有状況を検査し、さらには養殖現場におけるVNNの再発状況について調査を行った。

材料および方法

検体に用いた供試魚は、沖縄県水産海洋研究センター石垣支所で養成している親魚から得られた受精卵を用いて同センターおよび沖縄県栽培漁業センターで生産し、2009年7月に石垣市八島地先と名護市運天原地先の漁業者に配布されたヤイトハタ人工種苗である。種苗配布直後に、両養殖場において転覆遊泳(田中, 2006)や旋回遊泳(西岡ほか, 2006)といったVNN特有の病状を呈した個体を20尾ずつ採取し検体とした。その後八島地先の養殖場では、配布から3ヶ月後、8ヶ月後、10ヶ月後および14ヶ月後、運天

原地先の養殖場では、配布8ヶ月後を除いて八島地先と同じ時期に、それぞれ20尾ずつを無作為に取り上げ検体に供した。採集した検体は、1尾ずつ脳を取り出し、検査に用いるまで-20℃で冷凍保管した。ウイルスの検出は、まず採集した個体別にRT-PCR法を実施し、ウイルスが検出された個体はVNN発病魚と判断した。RT-PCR法でウイルスが検出されなかった場合は、ウイルス検出感度の高いnested-PCR法を試み、発病していなくてもウイルスを保有しているか検査した。

VNNの再発については、配布直後の病状が終息した後、本症特有の病状を呈する個体の発生がないか養殖状況調査の実施や漁業者に情報提供を求め、再発に関する情報が得られるよう努めた。病状を示す個体が得られた場合は、RT-PCR法によりウイルスの検出を試みることにした。

結果および考察

ウイルス検出の検査結果を表1に示す。配布直後に両養殖場でVNN特有の症状を呈した魚を検査した結果、RT-PCR法で100%の個体からウイルスが検出され、今回の調査に用いた養殖群においてVNNが発生したことが確認された。そのため、配布直後のnested-PCR法による検査は実施しなかった。その後、本症特有の病状を示す個体は減少し、配布3ヶ月後以降のRT-PCR法による検査では両養殖場ともすべての検体でウイルスは検出されなかった。しか

* : Email:nakamuhi@pref.okinawa.lg.jp.

表1 VNN発症後に養殖用として配布されたヤイトハタ各20尾からのウイルス検出率（配布は2009年7月）

採集地	検査法	VNNウイルスの検出率(%)				
		配布直後	配布3ヵ月後	配布8ヵ月後	配布10ヵ月後	配布14ヵ月後
石垣市八島	RT-PCR	100	0	0	0	0
	nested-PCR	NT*	100	85	25	15
運天原	RT-PCR	100	0	NT*	0	0
	nested-PCR	NT*	100	NT*	20	15

※検査未実施

し、nested-PCR法での検出率は両養殖場とも配布3ヶ月後で100%であり、ウイルスを保有しているが病状を示さない不顕性感染（若林，2004）の状態にあることがわかった。さらに、八島地先では配布8ヶ月後でも85%の検出率であり、発病から半年以上経過した場合においても、ウイルスを保有している個体が高い割合で存在していることが明らかとなった。その後は時間の経過とともに検出率は低下し、配布から14ヶ月後には両養殖場とも15%であった。このように、配布から1年以上経過した後にもウイルス保有魚が存在することが明らかになったが、今回の調査期間中において、配布直後の斃死以外にVNNの再発による斃死事例は観察されず、漁業者からの報告もなかった。これらの事から、ヤイトハタはVNNに感染しても発症しない不顕性感染状態の魚が多く、その後は生体の免疫除菌機構によりウイルスが排除され、ウイルスの検出率が低下したものと示唆された。

ヤイトハタでVNNが初めて確認された2006年以降の魚病調査で、1歳魚以上のヤイトハタにおいてもVNNの発症が数例確認されているが（玉城ほか，2010）、散発的に発生している程度で、越年養成魚においては当歳魚のような斃死被害はない。また1歳以上で確認された病魚は、生産時にVNNの発生が確認されていない2004年（仲盛ほか，2006）と2007年（木村ほか，2008）の生産魚であるため、VNNが再発したのではなく養殖場においてウイルスに感染し発病したことが疑われる。その一方、ヤイトハタと同じマハタ属で越年養成魚のVNNによる斃死被害は、チャイロマルハタ（中村未発表）、マハタ（福田ほか，1996）およびクエ（栗山，2007）で報告されており、ヤイトハタはこれら魚種と比較して本ウイルス病に対する感受性はそれほど高くないと考えられる。

今回の調査結果からヤイトハタ養殖におけるVNN対策を考察した場合、2年以内に出荷可能な体重1kg以上にまで成長するヤイトハタ養殖では（中村ほか，2008）、生産施設でVNNを耐過した種苗を配布することで養殖現場での本ウイルス病による斃死被害が予防できると考えられる。

しかし、今回の調査はPCR法によるウイルス遺伝子の検出にすぎず、培養細胞を用いたウイルス分離を実施していない。よって、ヤイトハタ体内に存在していたウイルスが感染性を有する状態にある場合は、養殖現場においてVNNを耐過したヤイトハタがウイルスの発生源となる危険性も否定できない。また、玉城ほか（2010）によって石垣島周辺海域にVNNウイルスが常在していることが報告されており、本県全域にウイルスが常在している可能性が高い。そのため、本県において今後新たなハタ類およびその他新規養殖魚を導入する際は、その魚種のVNNに対する感受性を十分に考慮したうえで慎重に行う必要があるだろう。

文献

- 福田 穰, Nguyen H. D., 古橋 真, 中井敏博, 1996: 養殖マハタに発生したウイルス性神経壊死症. 魚病研究31 (3), 165-170.
- 木村基文, 狩俣洋文, 玉城勝行, 須永純平, 仲盛 淳, 中本光男, 呉屋秀夫, 2006: ウイルス性神経壊死症に感染したヤイトハタの飼育経過(ヤイトハタ種苗生産事業). 平成18年度沖縄県水産海洋研究センター事業報告書 66, 227-230.
- 木村基文, 狩俣洋文, 仲本光男, 呉屋秀夫, 2008: ヤイトハタの種苗生産・二次飼育・出荷(ヤイトハタ生産事業). 平成19年度沖縄県水産海洋研究センター事業報告書 69, 200-205.
- 栗山 功, 2007: 魚類養殖試験Ⅱ クエの海面養殖試験. 三重県科学技術振興センター水産研究部事業報告(平成18年度). 120-121.
- 中村博幸, 知名真智子, 須永順平, 末吉 誠, 2008: 陸上水槽を利用したヤイトハタの高密度養殖試験(海面養殖推進対策事業). 平成19年度沖縄県水産海洋研究センター事業報告書 69, 73-75.
- 仲盛 淳, 狩俣洋文, 仲本光男, 呉屋秀夫, 大浜幸司, 2005: ヤイトハタ種苗生産事業. 平成15年度沖縄県水産試験場事業報告書 65, 169-172.

仲盛 淳, 狩俣洋文, 仲本光男, 呉屋秀夫, 福德 学,
2006 : 平成16年度沖縄県水産試験場事業報告書
66, 149-155.

西岡豊弘, 森広一郎, 津村誠一, 高野正嗣, 2006 :
ウイルス性神経壊死症 (VNN) を耐過したキジハ
タにおけるベータノダウイルスの検出. 栽培漁業セ
ンター技報, 5, 62-65.

杉山昭博, 小澤明子, 2005 : 養殖魚介類の耐病性試
験. 平成15年度沖縄県水産試験場事業報告書 65,
147.

田中真二, 2006 : マハタ ウイルス性神経壊死症

(VNN). 新魚病図鑑, 恒星社厚生閣, 東京, 252.

玉城英信, 木村基文, 狩俣洋文, 太田 格, 2010 :
石垣島周辺海域におけるウイルス性神経壊死症
(VNN) の感染状況-II (養殖魚介類の耐病性試
験). 平成21年度沖縄県水産海洋研究センター事
業報告書 71, 62-67.

若林久嗣, 2004 : 第 I 章 序論. 魚介類の感染症・
寄生虫病, 恒星社厚生閣, 東京, 6