

長崎市多以良町地先における海面飼育魚の VNN発生状況

宮原 治郎, 松田 正彦, 高見 生雄, 杉原 志貴*, 横山 文彦

Occurrence of VNN for breeding fish in Taira, Nagasaki

Jirou Miyahara, Masahiko Matsuda, Ikuo Takami,
Yukitaka Sugihara*, Fumihiko Yokoyama

The occurrence of viral nervous necrosis (VNN) in moribund and dead breeding fish were examined at Taira, Nagasaki from July 2004 to January 2006.

The kelp grouper, *Epinephelus bluneus* Bloch, black rockfish, *Sebastes inermis*, and sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* of seedling production and natural chub mackerel, *Scomber japonicus* (Houttuyn) were confirmed to be infected with or to carry redspotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV).

We considered that black rockfish and chub mackerel were few in danger of loss due to VNN, and that in kelp grouper and sevenband grouper loss due to VNN was decreased for the endured fish suffered from considerable loss due to VNN.

The dangerous period for losses due to VNN was from the high water temperature period to the 14°C level, and the water temperature for concentrated losses due to VNN was as far as the 19°C level.

Depending on the breeding environment, the losses due to VNN may occur even during the low water temperature period, because a few losses due to VNN was occurred at 12°C level in the farming grounds of Nagasaki prefecture.

ウイルス性神経壊死症 (viral nervous necrosis : 以下VNNと称す) は, 世界各地でマダラ, コチ, パラマンディー, スズキ, キジハタ, クエ, マハタ, シマアジ, カンパチ, ホワイトシーバス, イシダイ, イシガキダイ, マツカワ, ハリバット, ヒラメ, ターボット, トラフグなどの30種以上の海産魚類に発生しており, 特に種苗生産時において大量斃死を引き起こすことが知られている。海面魚類養殖においては, 特にハタ類で大きな被害を与えることから, その対策が求められ, ワクチン開発が進められている。^{1,2)} ワクチンが開発されるまでの対策を考える上で, 飼育魚のVNN発症の有無, 発症時期や水温などの基礎情報を把握しておくことは重要である。本研究で

は, 当場の棧橋生簀において飼育魚のVNN発生状況について調査し, 知見を得たので報告する。

材料と方法

調査は, 2004年7月28日から2006年1月6日まで, 長崎市多以良町地先海面で行った。水温(2m層)は, 給餌日の午前9~10時にHORIBA社製U-21XDで測定した。

供試魚は, 2002年産人工種苗クエ, 2003年と2005年産人工種苗メバル, 2004年産天然種苗マサバ, 2003年と2004年産人工種苗マハタとした。なお, 人工種苗は全て当場で生産された種苗で, 天然種苗マサバ

* 長崎県対馬水産業普及指導センター

は長崎市地先の定置網で漁獲された種苗であった。

各供試魚は、棧橋生簀の3×3×3m小割生簀で、市販のEPを給餌して飼育し、瀕死および斃死個体のうちVNNの疑いがあるものについて、polymerase chain reaction法(以下PCR法と称す)によりRGNNV(キジハタの神経壊死症ウイルス)の保有検査を行った。なお、PCRは、reverse transcription-PCR法(以下RT-PCR法と称す)とnested-PCR法で行った。

検体数は、2002年産人工種苗クエが19検体、2003年産人工種苗メバルが3検体、2005年産人工種苗メバルが5検体、2004年産天然種苗マサバが25検体、2003年産人工種苗マハタ317検体、2004年産人工種苗マハタ118検体であった。

結 果

水 温

Fig. 1 に示すとおり、調査期間中の2m層水温は12.4~30.5℃で推移した。

2002年産人工種苗クエの生残率と検査結果

Fig. 2 にクエの生残率とRGNNV検査状況を、Table 1 にクエのRGNNVの検査結果を示した。

2002年産クエは2002年5月中~下旬に採卵され、同年9月10日に500尾を沖出しした。陸上水槽飼育時の同年8月下旬にRT-PCR法でRGNNVが確認され、沖出し後から同年12月下旬までにVNNが主要因と思われる減耗が約15%あった。2003年には7月下旬にRT-PCR法でRGNNVが確認され、同年10月中旬までにVNNが主要因と思われる減耗が約24%あった。しかし、2004年9月20日から2006年1月6日までのRGNNV検査では、RT-PCR法で19検体全て陰

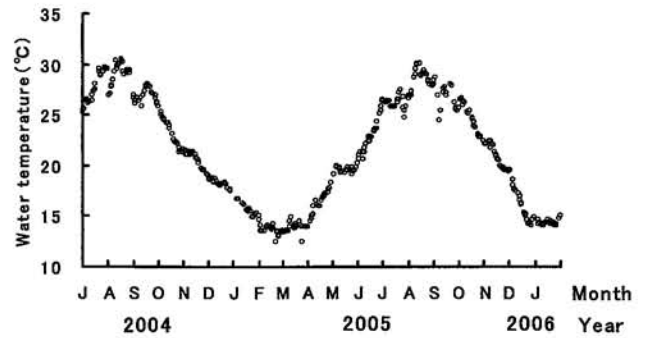


Fig. 1. Change in the water temperature of two meter depth in Taira, Nagasaki from July 2004 to January 2006.

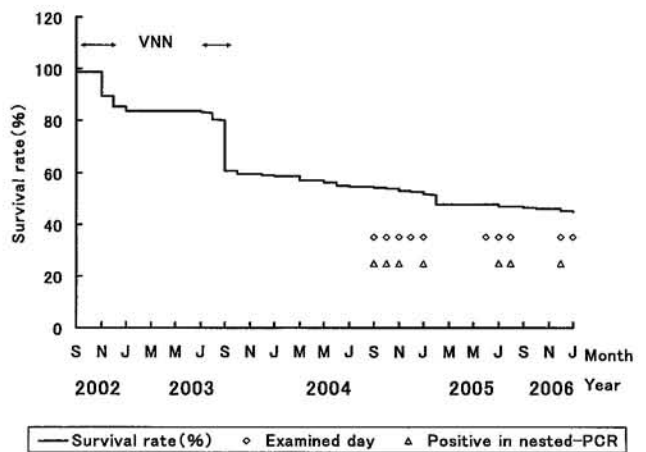


Fig. 2. Results of survival rate and RGNNV examination for kelp grouper, *Epinephelus bluneus* Bloch in 2002 yearly output.

性、nested-PCR法で13検体が陽性であり、nested-PCR法でRGNNVの陽性魚が確認されたときの水温は14.2~30.1℃、体重は104.1~1,334.0gであった。

2003年産人工種苗メバルの検査結果

Table 2 にメバルのRGNNVの検査結果を示した。2003年1月下旬に産仔され、同年4月下旬に沖出したメバル4,000尾は、同年9月上旬の高水温(29

Table 1. Results of RGNNV examination for kelp grouper, *Epinephelus bluneus* Bloch in 2002 yearly output

Examined period		2004/9/20~2006/1/6
Examined number		19
Positive number	RT-PCR method	0
	Nested-PCR method	13
Water temperature of positive case(°C)	RT-PCR method	—
	Nested-PCR method	14.2~30.1
Body weight of positive fish(g)	RT-PCR method	—
	Nested-PCR method	104.1~1,334.0

Table 2. Results of RGNNV examination for black rockfish, *Sebastes inermis* in 2003 yearly output

Examined period	2004/7/28	
Examined number	3	
Positive number	RT-PCR method	1
	Nested-PCR method	1
Water temperature of positive case(°C)	29.6	
Body weight of positive fish(g)	45.7	

℃前後) 時に行った選別が影響し、同年10月下旬までに約70%が減耗した。2004年には、水温が28℃を超えた7月中旬より摂餌不良となり、7月28日に斃死がみられた。斃死魚3検体中1検体からRT-PCR法でRGNNVが確認された。この後、マイクロコチレ(エラムシ) 症対策の薬浴や高水温(30.5℃) による斃死が多くみられたことから8月下旬に飼育を中止した。検査時の水温は29.6℃、RT-PCR法でRGNNVが陽性魚の体重は45.7gであった。

2005年産人工種苗メバルの検査結果

Table 3 に2005年産人工種苗メバルのRGNNVの検査結果を示した。

2005年1月中旬に産仔され、同年5月9日に沖出したメバル2,900尾は、水温が28℃を超えた8月中旬に摂餌不良となり、水温が30℃を超えた8月15日に全滅した。全滅した8月15日の5検体中1検体からnested-PCR法でRGNNVが確認された。このときの水温は30.1℃、陽性魚の体重は8.4gであった。

Table 3. Results of RGNNV examination for black rockfish, *Sebastes inermis* in 2005 yearly output

Examined period	2005/8/15	
Examined number	5	
Positive number	RT-PCR method	0
	Nested-PCR method	1
Water temperature of positive case(°C)	30.1	
Body weight of positive fish(g)	8.4	

Table 4. Results of RGNNV examination for chub mackerel, *Scomber japonicus* (Houttuyn) in 2004 yearly output

Examined period	2004/10/4~2005/8/15	
Examined number	25	
Positive number	RT-PCR method	0
	Nested-PCR method	8
Water temperature of positive case(°C)	RT-PCR method	—
	Nested-PCR method	17.6~30.1
Body weight of positive fish(g)	RT-PCR method	—
	Nested-PCR method	108.3~410.2

2004年産天然種苗マサバの生残率と検査結果

Fig. 3 にマサバの生残率とRGNNV検査状況を、Table 4 にマサバのRGNNVの検査結果を示した。

2004年6月18日に搬入した590尾のマサバは、測定や網替え時のスレ、ノカルジア症、ネオベネデニア症などにより徐々に減耗した。水温が29℃を超えた

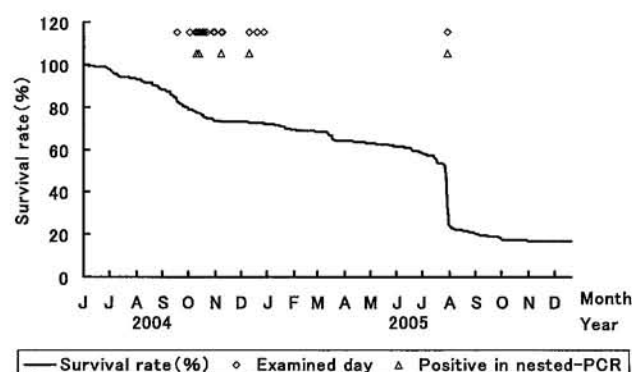


Fig. 3. Results of survival rate and RGNNV examination for chub mackerel, *Scomber japonicus* (Houttuyn) in 2004 yearly output.

2005年8月中旬には摂餌不良症状と併に斃死が増加し、水温が30℃を超えた8月15日が斃死のピークであった。8月中～下旬の減耗は約31%であった。2004年10月4日から2005年8月15日までのRGNNV検査では、RT-PCR法で25検体全て陰性、nested-PCR法で8検体が陽性であった。nested-PCR法でRGNNVの陽性魚が確認されたときの水温は17.6～30.1℃、体重は108.3～410.2gであった。

2003年産人工種苗マハタの生残率と検査結果

Fig. 4 にマハタの生残率とRGNNV検査状況を、Table 5 にマハタのRGNNVの検査結果を示した。

2003年産マハタは2003年5月15日に採卵され、同年11月6日に9,000尾沖出しした。陸上水槽飼育時の同年9月上旬にRT-PCR法でRGNNVが確認されたが、沖出し後から0歳魚の期間はVNNによる減耗はみられなかった。2004年9月上旬にRT-PCR法でRGNNVが確認され、2005年1月中旬までにVNNが主要因と思われる減耗が約1%あった。また、2005

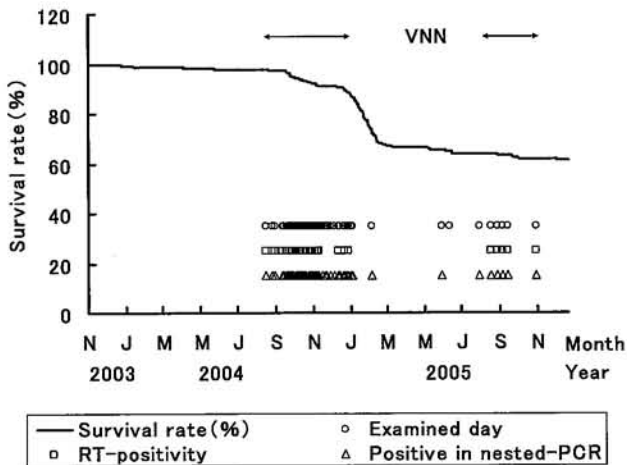


Fig. 4. Results of survival rate and RGNNV examination for sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* in 2003 yearly output.

Table 5. Results of RGNNV examination for sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* in 2003 yearly output

Examined period		2004/9/1～2005/11/14
Examined number		317
Positive number	RT-PCR method	40
	Nested-PCR method	185
Water temperature of positive case (°C)	RT-PCR method	16.1～28.7
	Nested-PCR method	12.4～30.1
Body weight of positive fish(g)	RT-PCR method	85.9～717.0
	Nested-PCR method	79.3～717.0

年1月上旬から3月下旬にかけての低水温期（水温12.4～16.7℃）に約24%の減耗があったが、RT-PCR法でRGNNVが確認されず、瀕死や斃死の主要因となるほどの細菌や寄生虫なども確認されなかった。2005年9月上旬にRT-PCR法でRGNNVが確認され、2006年1月上旬までにVNNが主要因と思われる減耗が約2%あった。2004年9月1日から2005年11月14日までのRGNNV検査では、317検体中RT-PCR法で40検体、nested-PCR法で185検体が陽性であった。なお、2005年の低水温期における不明病検体は131検体であった。RT-PCR法でRGNNVの陽性魚がみられたときの水温は16.1～28.7℃、体重は85.9～717.0g、nested-PCR法でRGNNVの陽性魚がみられたときの水温は12.4～30.1℃、体重は79.3～717.0gであった。

2004年産人工種苗マハタの生残率と検査結果

Fig. 5 にマハタの生残率とRGNNV検査状況を、Table 6 にマハタのRGNNVの検査結果を示した。

2004年産マハタは2004年5月20日に採卵され、同

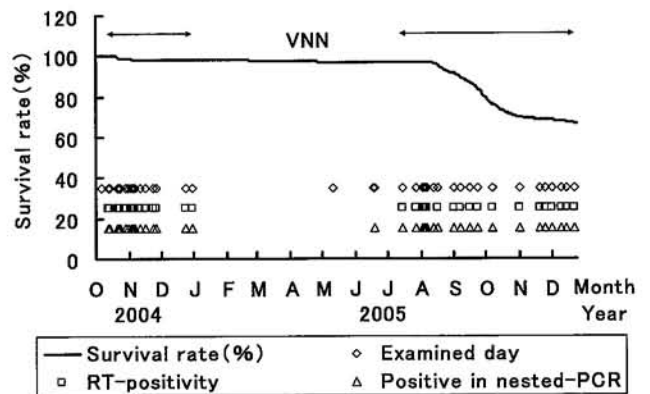


Fig. 5. Results of survival rate and RGNNV examination for sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* in 2004 yearly output.

Table 6. Results of RGNNV examination for sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* in 2004 yearly output

Examined period		2004/10/19~2006/1/4
Examined number		118
Positive number	RT-PCR method	97
	Nested-PCR method	107
Water temperature of positive case(°C)	RT-PCR method	14.1~30.1
	Nested-PCR method	14.1~30.1
Body weight of positive fish(g)	RT-PCR method	29.3~454.8
	Nested-PCR method	29.3~454.8

年10月14日に5,719尾沖出しした。陸上水槽飼育時にはRT-PCR法でRGNNVがみられなかったが、沖出しの11日後にはRT-PCR法でRGNNVが確認され、2005年1月中旬までVNNが主要因と思われる約2%の減耗があった。その後、2003年産人工種苗マハタにみられたような低水温期の斃死はなかった。2005年7月下旬にRT-PCR法でRGNNVが確認され、2006年1月上旬までにVNNが主要因と思われる減耗が約26%あった。2004年10月19日から2006年1月4日までのRGNNV検査では、118検体中RT-PCR法で97検体、nested-PCR法で107検体が陽性であり、RT-PCR法およびnested-PCR法でRGNNVの陽性魚がみられたときの水温は14.1~30.1℃、体重は29.3~454.8gであった。

考 察

今回の調査では、水温14.1~30.1℃の範囲でRT-PCR法でRGNNVの陽性魚が確認された。マハタについて、RT-PCR法でRGNNVの陽性魚は、0歳魚では秋期の沖出し後、水温が19℃前後に下降するまでが多く、16℃台に低下するまでみられ、1歳魚では水温が上昇期の25℃前後でみられ始め、30℃のピークを過ぎたところから19℃前後に下降するまでが多く、14℃台に低下するまでみられ、2歳魚の期間では高水温のピークを過ぎた28℃台から19℃前後に下降するまでに多くみられることがわかった。0歳魚の期間にVNNによる被害が大きかった2003年産は沖出し後にVNNでさほど減耗しておらず、0歳魚の期

間にVNNによる被害が小さかった2004年産が1歳魚の期間にVNNでかなり減耗していることから、VNNの感染耐過魚については、その後の被害が少なくなると考えられた。

クエは、0歳魚の9月中旬から12月下旬までに約15%、1歳魚の7月下旬から10月中旬までに約24%のVNNが主要因と思われる減耗がみられたが、2~3歳魚ではRT-PCR法でRGNNVの陽性魚はみられず、RGNNVにさらされている期間が長くなると被害が少なくなると考えられた。

メバルは、28℃以上の高水温になるまで特に斃死がなかったが、高水温で摂餌不良となった後に大量斃死が発生し、検査した8尾中1尾がRT-PCR法でRGNNV陽性であったものの、飼育状況からVNNによる被害は少ないと考えられた。

マサバは、25検体中、RT-PCR法で全てRGNNV陰性、nested-PCR法で8検体が陽性であったことから、VNNによる被害の恐れは少ないと考えられた。

これらのことから、今回検査した人工種苗のクエ・メバル・マハタ、天然種苗のマサバはいずれもRGNNVに感染・保有することがわかった。メバルとマサバはVNNによる被害の恐れが少なく、クエとマハタではVNNでかなりの被害を受けた耐過魚については、その後の被害が少なくなる可能性が指摘できる。

RGNNV typeのVNNが多発する水温は25℃以上で、RGNNVの至適増殖温度は25~30℃、感染実験では16℃でも発病・致死することが報告されている。^{*1)} 当場の地先における水温が25~30℃の時期は

*1) 平成13年ハタ類種苗生産技術交流会(第2回)資料

概ね6月下旬から10月中旬であり、7月下旬からVNNが散発的に発生し、9月上旬前後よりVNNが増加し、11月中旬前後に終息に向かう傾向がみられたことから、RGNNVの至適増殖温度と今回調査した斃死状況はよく一致することが判明した。

また、VNNによる被害の恐れがある水温は高水温期から水温下降期の14℃台までで、被害が集中するのは19℃台までであることが明らかになった。ただし、県内の養殖場では、水温が12℃台でもVNNによる被害が確認されることがあり、飼育環境によっては低水温期であっても被害が発生する可能性が考えられた。

最近、種苗生産や養殖場でのVNNの感染源を特定することを目的として、天然親魚、親魚用の餌料魚および海面筏周辺で漁獲される天然魚対象に調査が進められており^{*2),3)}、RT-PCR法では、キジハタ、クロマグロ、マアジおよびカワハギでNNVが確認され、nested-PCR法では、キジハタ、クロマグロ、マアジ、マサバ、ウルメイワシ、カワハギおよびギンガメアジでRGNNVが確認されている。従って、RGNNVの感染が確認された天然魚が生息している海域ではVNNによる被害に注意しなければならない。

養殖現場でのVNNによるマハタの被害は、高水温期に入っても給餌頻度が高く、かつ太った状態の魚で大きく、また、VNN耐過魚でも過食を続けるとかかなりの被害が発生するとされる。VNNワクチンが開発されるまでとしては、高水温期に入る前からの給餌制限も対策として検討する必要がある。

謝 辞

本稿をとりまとめるにあたり種々ご教示いただいた長崎大学水産学部金井教授に深謝の意を表する。

文 献

- 1) 江草周三：魚介類の感染症・寄生虫病，恒星社厚生閣，東京，2004，pp.81～86.
- 2) 畑井喜司雄，小川和夫：新魚病図鑑，緑書房，東京，2006，pp.198，235，252.
- 3) 高見生雄，杉原志貴：マハタのウイルス性神経壊死症（VNN）の防除対策，長崎県総合水産試験場事業報告，165，（2004）.

*2) 平成17年度種苗期疾病別検討会資料