

ヒラメ種苗生産期における VNN 防除対策 -

杉本善彦・沢田健蔵

ウイルス性神経壊死症 (viral nervous necrosis : 以下 VNN) は、1980 年代後半からみられるようになった極めて致死性の高い病気で、イシダイ、キジハタ、シマアジなど数種の種苗生産対象魚種に発生している。平成 7 年度徳島県栽培漁業センターにおけるヒラメの種苗生産過程において発生した大量死が本症によるものと判断されたため、感染源として疑われたヒラメ親魚を全数処分するとともに、施設の消毒等の対策を行った。しかしながら、平成 8 年度の生産時においても、ヒラメ仔魚の一部に VNN の発生が確認されたので、その状況と講じた対策について報告する。

1. VNN の発生状況と診断材料および方法

徳島県栽培漁業センターにおける平成 8 年生産期の第 1 次から第 4 次までの生産のうち、香川県産の卵を導入した第 4 次生産において、孵化後 32 日目から死亡魚が増加した。

瀕死魚を採集し、内臓からの細菌分離を試みた。培地は BHI (ブレインハートインフュージョン) 寒天培地 (2%NaCl) を用いた。検査尾数は 6 尾であった。

ウイルス検査は、供試魚の眼球を摘出し、PCR 法によってウイルス核酸の検出を試みた。検査尾数は 10 尾であった。

PCR 法による SJNNV の構造タンパク質遺伝子 (RNA2) の検出は、Nishizawa et al.の方法により行った。すなわち、試料をホモジナイズし、Tween20 とプロテイナーゼ K で処理後、クロロホルム・フェノールで核酸を抽出し、SJNNV RNA2 遺伝子の T4 領域 (430bp) の増幅のためのプライマーを用いて PCR を 30 サイクル行った。反応後、1.5%アガロースゲル - TAE 電気泳動により PCR 産物を確認した。

結果および考察

これらの検査魚には外部症状は特になく、体表および鰓に寄生虫や長桿菌は認められなかった。BHI 寒天培地では、6 尾すべてから細菌が分離された。これらは単一なコロニーではなく菌数も少なかった。

ウイルス検査については、検査した 10 尾のサンプル全てから SJNNV RNA2 の T4 領域に相当する約 430bp の増幅産物が得られた。これらの結果から、今回の大量死の原因は VNN によるものと考えられた。

2. マダイ親魚のウイルス検査

今回の VNN の発生については、使用した卵の導入先から VNN 発生情報が無いことから、垂直感染による病原体の他機関からの侵入の可能性は低く、水平感染、すなわち生産施設内に感染源があることが疑われた。当時施設内で飼育されていた海産魚はマダイ親魚のみであった。これまでにマダイでの VNN の発生は報告されていないが、マダイ親魚池がヒラメ生産施設に隣接していること、マダイ親魚の産卵開始時期と VNN の発生時期が一致することなどから、ウイルス保有の有無について検査するべきであると考えられた。

材料および方法

マダイ種苗生産終了後、マダイ親魚をメタアミノ安息香酸エチル・メタンサルホン酸塩で麻酔し、カニューレ法により生殖巣内液を採取した。採取した生殖巣内液を遠沈し、上清を回収して、前述の仔魚と同様の手法で PCR 法によってウイルス検査を行った。検査尾数は 130 尾であった。

結果および考察

検査した 130 尾のサンプルのうち 10 尾から SJNNV RNA2 の T4 領域に相当する約 430bp の増幅産物が得られた。このことから、今回のヒラメ仔魚期の VNN 発生における感染源は、マダイ親魚である可能性が示唆された。陽性となった 10 尾については、取り上げて処分されたが、今回の検査で陰性であった個体についても、検出限界以下のウイルスの存在が否定できないため、その取り扱いには十分な注意が必要であると思われる。