

## 内水面研究所で発生したアユのボケ病について

篠原 直哉  
(内水面研究所)

2008年4月下旬から5月、2009年7月下旬から8月にかけて内水面研究所内の飼育アユ *Plecoglossus altivelis altivelis* にボケ病が発症した。へい死個体の鰓生鮮標本観察では鰓弁の一部に出血点がある個体が確認された。PCR検査の結果、今回、発症した疾病はボケ病原因ウイルスが陽性、細菌性鰓病細菌は陰性であり、ウイルス由来のボケ病であることが確認された。この疾病による累積死亡率は低い場合は2.4%、高い場合では90.9%であり、状況により大きく異なった。対処方法として2008年の発症時にへい死抑制の効果がみられた飼育密度の低減処置について、2009年も同様に実施したところ、効果が認められたのは5水槽のうち2水槽のみであった。しかし、飼育密度を低減する対処方法についてはすべての事例ではないもののへい死を軽減できた事例もあり、飼育密度の低減方法について今後、検討の余地があるものと思われる。

キーワード：アユ、ボケ病、PaPV、PCR、細菌性鰓病、飼育密度

ボケ病は、かつては徳島県の養殖業者の間で使われていた細菌性鰓病 (Bacterial gill disease 以後：BGD) のことを指す用語であった。しかし、1980年代以降は従来の BGD とは異なり、数日の間に急激に大量死亡を引き起こす事例に対しても同じ名称が使用されるようになった。<sup>1)</sup> ボケ病は全国に広がりつつあり、日本獣医生命科学大学が行ったアンケート調査<sup>2)</sup>によると現在16県で確認されている。

ボケ病に関する研究は、各県、大学において行われており、アユ養殖関係各県が参加する「アユ疾病対策部会」でもボケ病を共通課題とし、防疫対策等に関する検討が行われている。また、栃木県は2005年のアユ魚病被害のうちボケ病による被害が45%を占めるなど、養殖経営を圧迫する大きな問題となっており、発症状況の把握、飼育環境との関連性、感染試験、対処方法などの研究が行われている。<sup>6-22)</sup> さらに、栃木県は東京海洋大学及び日本獣医生命科学大学と共同でボケ病に関する研究も行っている。

ボケ病の知見について整理すると、これまでの各地で発症した症例について病理組織学的に検査した結果、鰓に大型の異形細胞が多数出現する増殖性鰓炎が主病変で、異形細胞の細胞質及び核内にボックスウイルス様の粒子が観察されている。現在はこれがボケ病の原因ウイルス (*Plecoglossus altivelis* poxvirus 以後：PaPV) として考えられている。また、ボケ病には複数の症例があり、病魚の鰓弁にみられる病理組織学的所見により、

これまでBGDとして知られていたグラム陰性長桿菌が多数出現して鰓薄板の癒合が顕著な型に加え、異形細胞の出現が顕著な型、長桿菌及び異形細胞が出現する型および鰓薄板が萎縮したように壊死する型の4型に類別されることが報告されている。<sup>2-7)</sup>

検査手法については、BGDでは確立しており、病原菌はグラム陰性長桿菌の *Flavobacterium branchiophilum* (以後：BGD原因菌) であるとされ、これを検出するPCR検査手法が報告されている。また、ボケ病の病原とされるPaPVについても検出するためのPCR検査手法が近年開発されたところである。<sup>2-7)</sup>

福岡県においてもこれまでボケ病と思われる症例は見受けられたが、BGD以外の症例については明瞭な診断手法がなかったため、鰓上の細菌の有無を確認するなどのほかは有効な診断手法がなく、ボケ病の発症を確認することが出来なかった。しかし、今回開発されたPaPV検査手法など新たな知見を得ることが出来、十分な診断体制が整った。今回の報告では、2008年、2009年に当研究所の飼育アユがボケ病と思われる症状を発症したことから、新たな検査手法による診断を行うとともに、これらの発症状況についての記録を行った。

### 方 法

2008年及び2009年にボケ病と思われる症状を発症したアユについては種苗の来歴、飼育状況、移動状況につい

での整理を行った。また、疾病発症後は毎日記録するとともに施した処置の記録を取り、時系列に整理を行った。さらに、へい死したアユの鰓は光学顕微鏡で検鏡し、出血点の有無、細菌の付着状況等を確認した。

また、病原を確認するため、サンプル魚から鰓組織の一部を採取し、キアゲン社の DNeasy キットで DNA を抽出したのち、これをテンプレートとして PCR 法による PaPV、BGD 原因菌の検出を行った。Taq ポリメラーゼは TAKARA Extaq Hot Start Version、サーマルサイクラーは ASTEC 社の PC-812 を用いた。DNA 増幅については東京海洋大学海洋科学部<sup>4,5)</sup> 栃木県水産試験場の報告<sup>6,7)</sup>に従った。

## 結 果

### 1. 2008年の症例の推移

2008年におけるアユの飼育状況を表1に示した。飼育に用いた水槽は5 kl水槽が6水槽、10kl 及び80kl水槽が各1水槽の計8水槽である。このうち、80kl水槽でのみ河川水を使用し、他の水槽はすべて井戸水を使用した。

表1 2008年におけるアユの飼育状況

系列	由来	飼育水槽	収容尾数	収容密度	研究所での飼育状況
全雌生産試験群 (2008-①)	内水面 研究所 栽培漁業 公社	1基 (10kl)	20g (3,000尾)	8kg/kl	井戸水飼育。研究所生産群(20g)と公社生産群(6g)を混養。雄性ホルモン飼料を給餌
			6g (3,000尾)	(3.7kg/m <sup>3</sup> )	
継代生産群 (2008-②)	内水面 研究所	1基 (80kl)	6g (5,000尾)	0.4kg/kl (0.4kg/m <sup>3</sup> )	河川水飼育。通常飼料を給餌。
継代生産群 (2008-③)	内水面 研究所	3基 (5kl)	6g (1,500尾)	1.8kg/kl (2.1kg/m <sup>3</sup> )	井戸水飼育。通常飼料を給餌。

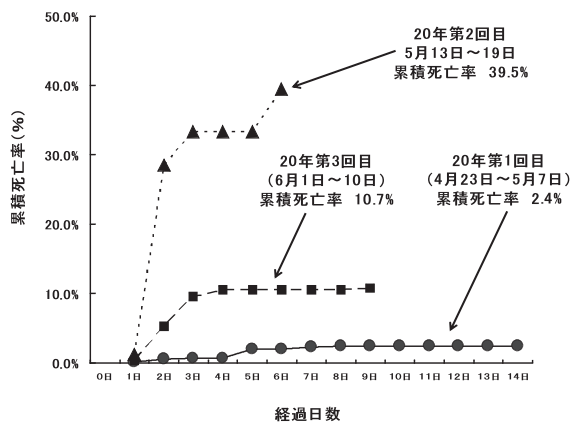


図1 2008年におけるボケ病による累積死亡率

また飼育したアユは当研究所で種苗生産した継代飼育群と全雌種苗生産試験用アユ種苗及び矢部川天然遡上アユである。このうち、全雌種苗生産試験に供したアユはすべて当研究所で受精卵を生産したのち、その半数を福岡県栽培漁業公社(宗像市)で稚魚まで育成したのち、内水面研究所に移送したものである。

2008年にボケ病が発症したのは10kl水槽で育成していた全雌生産試験群(2008-①)、80kl水槽で育成していた継代生産群(2008-②)、5kl水槽で育成していた継代生産群(2008-③)の3群である。

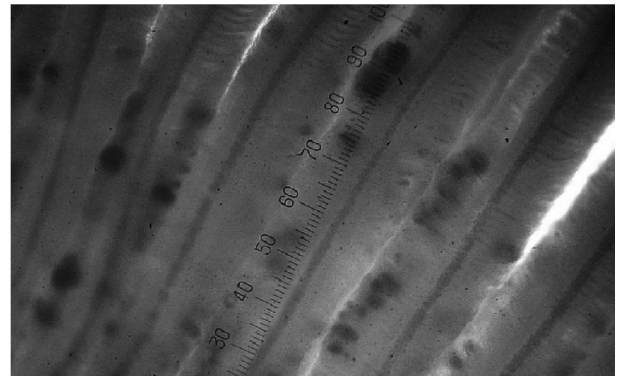


図2 7日目のへい死魚にみられた鰓弁の状況

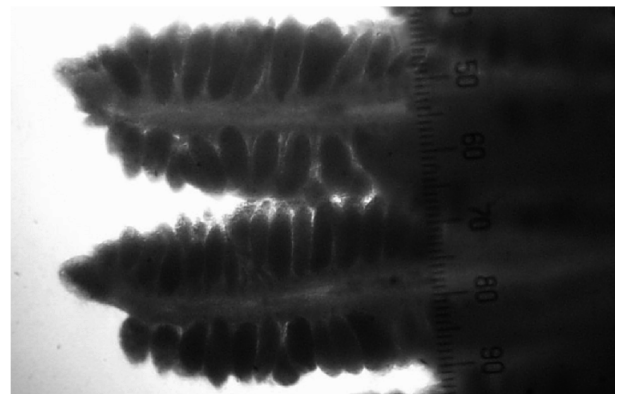


図3 8日目の生残魚にみられた鰓弁の状況

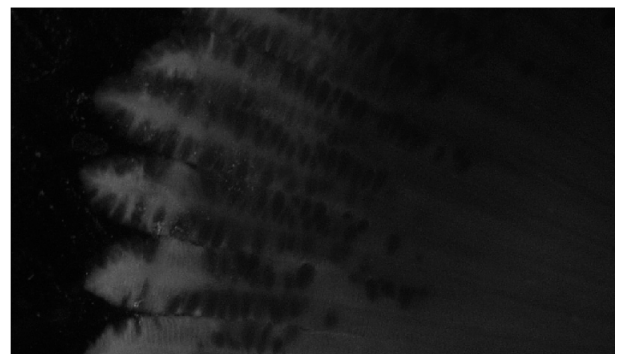


図4 14日目の生残魚にみられた鰓弁の状況

最初に発症した群（2008-①）は、4月23日に飼育中のアユのほとんどが鼻上げをしており、鰓の開閉も速いなど呼吸状態に異常が確認された。当時の収容密度は飼育水1 *kl* あたり 8 kg, 1 *m*<sup>2</sup> あたり 3.7kg であった。また、飼育水の溶存酸素を測定したところ、約 4.0 mg/l と低かったことから酸素不足による症状と判断し、エアレーションを増やすなどの処置により状況が回復した。当群は翌日以降も1日当たり6尾～82尾の範囲でのへい死が続いたため、その都度、診断のため、へい死魚の鰓を検鏡した。しかし、鰓表面の粘液が多いと感じたものの、他に異常はみられず、「ボケ病」という診断はしなかった。

6日目までは鰓の異常は特に確認できなかったが、7日目に図2に示すように鰓弁内の一部の鰓薄板で出血点を確認された。また、9日目には生残個体で図3に示すような鰓薄板全体が出血で膨満し、図2とはあきらかに異なる症状も確認された。14日目の生残個体では図4のように膨満した鰓薄板の先端が脱血により白化したとみられる症状も確認された。しかし、発症から26日目では、鰓に異常のある個体はみられなくなった。

対処として、発症1日目と7日目に0.5%の塩水浴を行ったが、十分な効果は見られなかった。また、9日目に水槽内のアユの酸素消費量を考慮して水槽内の1/2相当量のアユを同規模の水槽に移動し、飼育密度を低減する処置を行った結果、以降へい死は見られなかった。へい死が落ち着いた段階での累積死亡率は2.4%であった。

5月13日に発症した群（2008-②）は80*kl* 水槽で飼育していたため、飼育密度は1 *kl* 及び1*m*<sup>2</sup>あたりでいずれの場合も0.4 kg と低かった。飼育水は河川水を使用していたため、井戸水に比べ濁っており、飼育状況が異なった。へい死確認当初の段階で死亡率は約30%であった。へい死魚の鰓からは図2に示すような出血点がわずかに確認されたが、症状は顕著でなかった。死亡率は6日目の段階で39.5%に達した。

6月1日に発症した群（2008-③）は5 *kl* 水槽で飼育していた3水槽のうちの1水槽である。飼育密度は1 *kl* あたりで1.8kg, 1 *m*<sup>2</sup>あたりで2.1kg であった。発症後5日間はへい死が続いたものの、以後は落ち着き、最終的な累積死亡率は10.7%であった。へい死個体の鰓は図2のように鰓弁内の一部の鰓薄板に出血点がみられた。

今回、へい死が起こった水槽及び隣接する飼育水槽のアユについて PaPV 及び BGD 原因菌検出の PCR 検査を行った。

1回目にへい死が発症した群（2008-①）については発症後、数回にわたるサンプリングを行い PaPV の保

有状況と BGD 原因菌の検出の PCR 検査を行い、その結果を表2に示した。3日目、7日目、8日目及び9日目の4回のサンプリングにより計12個体で検査した結果、いずれも PaPV ウィルスは検出されたものの、BGD 原因菌は検出されなかったため、今回のボケ病は PaPV 由来のボケ病であると判断された。

また、PaPV は鰓に出血点などの異常が見られなかった3日目のへい死アユからも検出され、以後14日目まで保有を確認した。しかし、26日目の PaPV 保有検査では、60個体すべてが陰性であった。

2回目に発症した群（2008-②）については5月19日に採取した5個体を1検体として6検体による PCR 検査を実施したところ、いずれも陽性であった。

3回目に発症した群（2008-③）については隣接する2水槽を含めて水槽別のウィルス保有状況とへい死状況の比較を行った。6月5日に各水槽から6個体ずつサンプルを採取し、個体別のウィルス保有状況を検査し、その結果を表3に示した。発症した水槽1で6検体すべてが陽性であったほか、へい死がみられない水槽2についても陽性であることが確認された。水槽3では6個体すべてが陰性であった。これらについては以後、継続して飼育を行ったが水槽2, 3ともへい死はみられなかった。

表2 2008-①群のPCR結果(経過日数別のウィルス保菌状況の推移)

経過日数	3日目	7日目	8日目	9日目①	9日目②	14日目	26日目
検査手法							
PaPVウィルス検出PCR	4/4	2/2	4/4	2/2	16/16	2/2	0/60
BGD細菌検出PCR	0/4	0/2	0/4	0/2	-	-	-

表3 2008-③群のPCR結果(経過日数別のウィルス保菌状況とへい死状況の比較)

水槽番号	水槽1	水槽2	水槽3
検査手法			
PaPVウィルス検出PCR	6/6	6/6	0/6
へい死状況	へい死した	へい死せず	へい死せず

### 1. 2009年の症例の推移

2009年におけるアユの飼育状況を表4に示した。2009年は5 *kl* 水槽を7水槽（A, B, C, D, E, F, G）を使用し、飼育には井戸水を使用した。アユ種苗の来歴はすべて当研究所で人工授精し生産した継代種苗である。

へい死が始まって以降の PaPV 検出の PCR 検査、飼

表 4 2009年における飼育アユの状況

系列	由来	飼育水槽	収容尾数	収容密度	研究所での飼育状況
継代生産群 (2009-①)	内水面研究所	7基 (5kl)	45g (1,000尾)	9kg/kl (10.7kg/m <sup>3</sup> )	井戸水飼育。通常飼料を給餌。

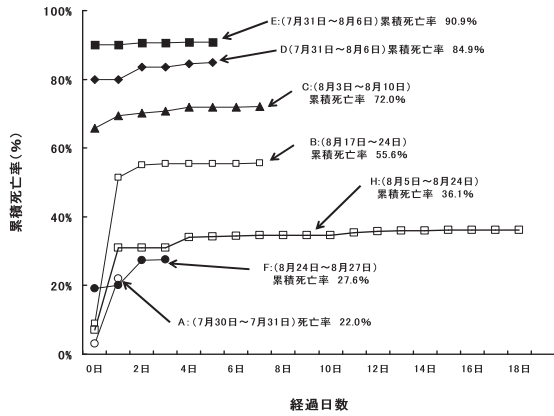


図 5 2009年におけるボケ病による累積死亡率

育魚の処置状況及び処置後の発症状況を表 5 に、また処置後の累積死亡率を図 5 に示した。発症時期は 7 月下旬から 8 月下旬で、7 月 30 日に A、翌日の 31 日に D、E でへい死がはじまった。そこで、昨年に飼育密度を 1/2 に下げることによってへい死が抑制できたことから、7 月 31 日にへい死がみられない水槽を含め、飼育密度の低減処置を実施した。当時飼育中であった 7 水槽のうち、へい死が最初に確認された A については全数を取り上げ、10kl 水槽 (H) に移動した。また、E の飼育アユはへい死が著しく、移動処置が出来ないと判断したことから移動を行わなかった。残りの 5 水槽 (B, C, D, F, G) は 1/2 に飼育尾数を減らし、取り上げたアユを H に移動する処置を行った。

A のアユはすべて H に移動したため、最終的な死亡率は確認できなかったが処置までの 2 日間で 22.0% がへい死した。また、密度を低減しなかった E のへい死率は 90.9% であった。各水槽から移動した H は当初は異常はみられなかったが、飼育開始 5 日目からへい死が始まり、累積死亡率は 36.1% になった。

7 月 31 日に密度低減処置を行った 5 水槽のうち、D は密度低減後もへい死が続いた。また、他の水槽では 4 日目に C、18 日目に B、25 日目に F の順でへい死が始まった。各水槽の累積死亡率は D が 84.9%、C が 72.0%、B が 55.6%、F が 27.6% であった。また、G ではへい死がみられなかった。

7 月 30 日に採取した A、D、E のへい死個体を用いて PaPV 保有状況及び BGD 保菌状況の PCR 検査を行った。その結果、2008 年と同様、PaPV ウィルスはすべて

表 5 2009年に発症したボケ病罹病魚の飼育密度の低下処置及び以後の発症状況

水槽規模	水槽略号	PaPV ウィルス PCR 検査結果	実施した飼育アユの移動状況	PCR 検査以後のへい死状況
5t	水槽 A	陽性 既にへい死	100%を水槽 H に移動	当初よりへい死
5t	水槽 B	陰性 へい死なし	50%を水槽 H に移動	18日目からへい死
5t	水槽 C	陽性 へい死なし	50%を水槽 H に移動	4日目からへい死
5t	水槽 D	陽性 既にへい死	50%を水槽 H に移動	当初よりへい死
5t	水槽 E	検査せず 既にへい死	移動せず	当初よりへい死
5t	水槽 F	陰性 へい死なし	50%を水槽 H に移動	25日目からへい死
5t	水槽 G	陽性 へい死なし	50%を水槽 H に移動	へい死せず

陽性で、BGD 原因菌はすべて陰性であった。このことから、2009 年のへい死についてもウィルス由来のボケ病であると判断された。さらに、7 月 31 日に実施した飼育密度低減時にサンプリングした A、B、C、D、F、G からの各 6 個体について個体別の PaPV 保有の PCR 検査を行った結果を表 4 に示す。検査時に既にへい死していた A、D は当然陽性であったが、検査時にはへい死が確認されていなかった C、G も陽性であった。B、F は陰性であった。先述したとおり、検査時にへい死がみられなかった C、F、G は、その後、陽性であった C だけでなく、陰性であった B、F で後日、へい死が始まった。一方、陽性であった G はその後のへい死はみられなかった。

## 考 察

本県の症例ではすべて PaPV のみが検出され、いずれの場合も BGD 原因菌は検出されなかった。また、2008 年、2009 年とも PaPV の保有は認められたが最終的にはへい死はみられなかった飼育群もみられ、PaPV によるボケ病は飼育条件などの影響により、発症あるいは被害の程度が左右されているものと思われる

また、2 ヶ年における本県のすべての症例から図 2 のような鰓薄板中に出血点がみられる症状が共通してみられ、ボケ病の一般的な症状<sup>1)</sup>と類似した。一方、図 3 のように出血により鰓薄板が膨満した症状は 2008 年に最初に発生した群 (2008-①) でのみで観察され、以後は観察されなかった。よって、この症状がボケ病の特有の症



状であるかは今後、さまざまな症例と比較する必要がある。

2カ年のへい死経過を比較したところ、飼育密度を1/2に下げた後の状況が異なり、2008年ではへい死が落ちついたのに対し、2009年では処置を行った5水槽すべてでへい死が落ちつかず、5水槽中4水槽でへい死がみられ、累積死亡率は最も高い場合で84.9%に達した。しかし、当初陽性であったがその後はへい死しなかった例やへい死したものの死亡率が27.6%と比較的低く抑えられた例などもあり、密度低減の効果と思われる症例もあった。

ボケ病の対処方法は現在も各県で検討が行われ、塩水浴や酸素供給などの方法が報告されており<sup>8,1,3)</sup> 現在検討中の課題である。本県では酸素供給や塩水浴を実施し、鼻上げや呼吸異常が改善されるなどの効果はみられたが、明らかなへい死の抑制効果は認められなかった。この中で、飼育密度の低減による対処方法を試みたところ、すべての事例ではないものの、へい死を軽減できた事例もあった。飼育密度の管理については現時点では効果的な方法とは言えないものの、へい死軽減につながる対応方法として今後、検討の余地があるものと思われる。

ボケ病は大量へい死を引き起こすこともある疾病であり、早急な予防・治療対策の確立が急務であることから、今後も継続して検討することとしたい。

## 文 献

- 1) 和田新平：不明病（「ボケ」）、新魚病図鑑、(畑井喜司雄，小川一夫編)，緑書房；2006，71.
- 2) 日本獣医生命大学獣医学部．アユ「ボケ病」の病態整理及び診断技術に関する研究；平成19年度養殖衛生管理技術開発研究成果報告書．平成20年3月，63-84.
- 3) 日本獣医生命大学獣医学部．アユ「ボケ病」の病態整理及び診断技術に関する研究；平成20年度養殖衛生管理問題への調査・研究成果報告書．平成21年3月，41-58.
- 4) 東京海洋大学海洋科学部．アユ「ボケ病」のボックスウィルスとの関連に関する研究；平成19年度養殖衛生管理技術開発研究成果報告書．平成20年3月，103-109.
- 5) 東京海洋大学海洋科学部．アユ「ボケ病」のボックスウィルスとの関連に関する研究；平成20年度養殖衛生管理問題への調査・研究成果報告書．平成20年3月，75-85.
- 6) 栃木県水産試験場．アユ「ボケ病」の細菌学的研究；平成19年度養殖衛生管理技術開発研究成果報告書．平成20年3月，87-99.
- 7) 栃木県水産試験場．アユ「ボケ病」の細菌学的研究；平成20年度養殖衛生管理問題への調査・研究成果報告書．平成20年3月，61-72.
- 8) 沢田守伸，糟谷浩一，石島久男．飼育環境改善試験－アユの通称「ボケ病」に対する高D.O.の効果－，栃木県水産試験場報告書；2003，39-44(46).
- 9) 沢田守伸，糟谷浩一，久保田仁志，石井日出郎．登場で発生したアユの通称「ボケ病」について－発症状況の記録－，栃木県水産試験場報告書；2004，42-50(47).
- 10) 石井日出郎，糟谷浩一，沢田守伸，久保田仁志．通称ボケ病におけるアンケート調査結果－日本獣医畜産大学における全国調査と県内における調査の比較について－（平成14年度），栃木県水産試験場報告書；2004，51-55(47).
- 11) 糟谷浩一，久保田仁志，沢田守伸，石井日出郎．通称「ボケ病」に関するアユ疾病対策試験－1－感染試験について－（平成14年度），栃木県水産試験場報告書；2004，56-57(47).
- 12) 糟谷浩一，久保田仁志，沢田守伸，石井日出郎．通称「ボケ病」に関するアユ疾病対策試験－2－飼育水の流速と発病との関係について－（平成14年度），栃木県水産試験場報告書；2004，58-59(47).
- 13) 沢田守伸，阿久津正浩，糟谷浩一，石井日出郎．アユの通称「ボケ病」対症療法開発試験－塩水浴の濃度・時間・方法の検討－；栃木県水産試験場報告書．2005，76-81(48).
- 14) 阿久津正浩，沢田守伸，石井日出郎，糟谷浩一，久保田仁志．アユの通称「ボケ病」対策試験－同居感染試験について－（平成15年度），栃木県水産試験場報告書；2005，82-84(48).
- 15) 糟谷浩一，久保田仁志，沢田守伸，阿久津正浩，石井日出郎．通称「ボケ病」に関するアユ疾病対策試験－1－同居感染試験について－（平成15年度），栃木県水産試験場報告書；2005，85-87(48).
- 16) 糟谷浩一，久保田仁志，沢田守伸，阿久津正浩，石井日出郎．通称「ボケ病」に関するアユ疾病対策試験－2－接触または注射による感染試験について－（平成15年度），栃木県水産試験場報告書；2005，88-89(48).

- 17) 糟谷浩一, 久保田仁志, 沢田守伸, 阿久津正浩, 石井日出郎. 通称「ボケ病」に関するアユ疾病対策試験－3－ウィルス検査について－(平成15年度), 栃木県水産試験場報告書; 2005, 90(48).
- 18) 糟谷浩一, 久保田仁志, 沢田守伸, 阿久津正浩, 石井日出郎. 通称「ボケ病」に関するアユ疾病対策試験－4－血液検査について－(平成15年度), 栃木県水産試験場報告書; 2005, 91(48).
- 19) 沢田守伸, 阿久津正浩, 糟谷浩一, 久保田仁志, 石井日出郎. 飼育環境改善試験－アユの通称ボケ病と飼育水のph, 溶存ガスの関係－(平成16年度), 栃木県水産試験場報告書; 2006, 74-78(49).
- 20) 糟谷浩一, 沢田守伸, 阿久津正浩, 久保田仁志, 石井日出郎. 通称「ボケ病」に関するアユ疾病対策試験－同居感染試験について－(平成16年度), 栃木県水産試験場報告書; 2006, 85-86(49).
- 21) 阿久津正浩, 加賀豊仁, 渡辺裕介, 石川孝典. 糟谷浩一. アユ用餌料改善試験－飼料から迫るボケ病対策へのアプローチ－, 栃木県水産試験場報告書; 2007, 70-74(50).
- 22) 加賀豊仁, 阿久津正浩, 渡辺裕介, 久保田仁志, 石川孝典. 飼育環境改善試験－アユの通称ボケ病発症と環境要因について－, 栃木県水産試験場報告書; 2007, 75-80(50).