

天然海域におけるクルマエビの PRDV 保有状況

福澄 賢二・筑紫 康博
(研究部)

Retention of PRDV in Wild-caught Kuruma Prawn

Kenji FUKUZUMI and Yasuhiro CHIKUSHI*
(Research Department)

クルマエビ類の急性ウイルス血症 (PAV ; penaeid acute viremia) は、1993年に西日本のクルマエビ養殖場において初めて発生して以来、西日本を中心として全国各地の養殖場や種苗生産施設、中間育成施設に発生地域が拡大し、多大な被害を及ぼし続けている。本疾病は中国から輸入されたクルマエビ種苗とともに日本に持ち込まれたと考えられている。^{1) 2)}

福岡県においては'95年にクルマエビ陸上中間育成場で本疾病が初めて発生し、大きな被害を被ったため、³⁾翌'96年から種苗生産及び中間育成現場における消毒の徹底や各段階における PCR 検査を柱とした防疫体制を全県的に実行している。途中、検査体制の見直しや検査方法の改良、採卵方法の改良等を経て、2000年には種苗生産から放流に至るまで、ほぼ完璧な防疫体制が整い、その結果、'00年以降は県内では PAV の発生が完全に抑えられており、クルマエビ種苗放流事業の計画的な運営が可能となっている。

一方、天然海域のクルマエビや養殖場内や天然海域の複数の甲殻類にも PAV 原因ウイルスである PRDV (penaeid rod-shaped DNA virus) を保有する個体 (以下「キャリアー」と記す) が存在することが報告されている。^{4) 13)}天然海域におけるキャリアー生物の生息状況を把握することは、PAV の防疫体制を確固たるものにしていく上で重要かつ不可欠な課題であるが、本県ではこれまで予備的な調査は行っていたものの、検査部位や検査手法に問題があったため、キャリアー生物の確認には至らなかった。そこで、新しい検査手法を用いて本県の天然海域におけるクルマエビ等の PRDV の保有状況調査を実施したので報告する。また、キャリアークルマ

エビの感染性について検討するため、キャリアークルマエビを用いた同居及びその飼育排水による感染実験も併せて行ったので報告する。

方 法

福岡県筑前海で漁獲されたクルマエビを、X 漁業協同組合から'00年と'01年の4月から12月にかけて月1回の頻度で入手し、PRDV の保有状況を調査した。ただし、'00年の10月はサンプルの入手ができなかったため、やむを得ず未調査とした。また、'01年9月26日には同漁協でヨシエビ、クマエビを、さらに同10月12日には小型エビ類 (アカエビ、トラエビ、サルエビ、ツノソリアカエビ) を入手して同様の調査を実施した。

調査サンプルは、1尾ずつ水道水で体表を洗浄した後に、体長と体重 ('01年のみ) を測定して、個体別に胸脚と第2触覚内肢¹⁰⁾を採取して検査材料とした。さらに、雄由来である交尾栓を有する雌クルマエビについては、受精嚢を別検体として検査した。PRDV の検出は全て蛍光プローブ PCR 法¹⁵⁾によって行った。また、全てのサンプルについて目視により PAV の特徴的な外観症状である体色の赤変や褪色及び外骨格の白点²⁾の有無を確認した。

感染実験は、'01年9月26日に漁獲されたクルマエビのうち PRDV 陽性が確認された個体を感染源として10月18日から開始した。試験区は表1に示したとおり、PRDV 陰性が確認された稚エビまたは成エビを被感染体として、閉鎖飼育区、流水飼育区及び流水飼育の排水に浸漬する区を設けた。さらに、被感染体にストレスを与える

*現有明海研究所

ために排水浸漬区に砂を敷かない試験区も設けた。被感染体の稚クルマエビはPRDV陰性が確認された中間育成中の個体群（平均体長34.6±4.3mm）を、また、成クルマエビは同9月26日に漁獲されたエビの中でPRDV陰性が確認された個体を用いた。各試験区とも供試エビを200L角形水槽に蓋付きのカゴで収容し、ストレス付加区として設定した砂なし試験区（水槽7）を除いて砂を5cm程度敷いた。飼育餌料は市販配合飼料を1日1回サンプリング日の前日を除いて各試験区とも適量与えた。

稚エビの試験区については1, 2, 3, 7, 14及び21日後に10尾ずつサンプリングし、成エビについては14及び21日後にサンプリングして感染状況を調べた。検査は稚エビを10尾プールで実施し、PRDVが検出された場合にのみ個別に再検査することとした。検査方法は漁獲エビと同様の方法により行った。

表1 感染実験の試験区

水槽	飼育方法	感染源	感染方法	供試エビ(被感染)
1	閉鎖	♀116mm	同居飼育	稚エビ
2	流水(砂あり)	♀180mm	同居飼育	"
3	"	♂133mm	"	成エビ ♀198mm
4	流水(砂あり)	水槽2の排水	排水浸漬	稚エビ
5	"	" 3の排水	"	"
6	"	" 9の排水	"	"
7	流水(砂なし)	水槽2の排水	排水浸漬	稚エビ
8	流水(砂あり)	なし(対照区)	なし	稚エビ
9	流水(砂あり)	♂133mm	なし	なし

結 果

クルマエビの月別のPRDV陽性率の推移を図1に示した。調査個体数は、'00年が219尾（雌113尾, 雄106尾）'01年が553尾（雌229尾, 雄324尾）であった。

'00年については5月から11月にかけて、'01年は4月から12月にかけてPRDV陽性個体が認められた。このうち最も陽性率が高かったのは'01年10月の83%であった。両年とも春から秋にかけて陽性率が徐々に高くなり、冬季に低下する傾向がみられた。また、雌雄別では全般的に雄よりも雌の陽性率が高い傾向があり、月別陽性率の平均は雌が'00年, '01年ともに22.9%であったのに対し、雄は'00年が13.5%, '01年が22.0%であった。さらに、受精囊については、'00年9月と11月に陽性個体が認められたが、'01年度は全く確認されなかった。なお、受精囊陽性個体は、全て胸脚と第2触

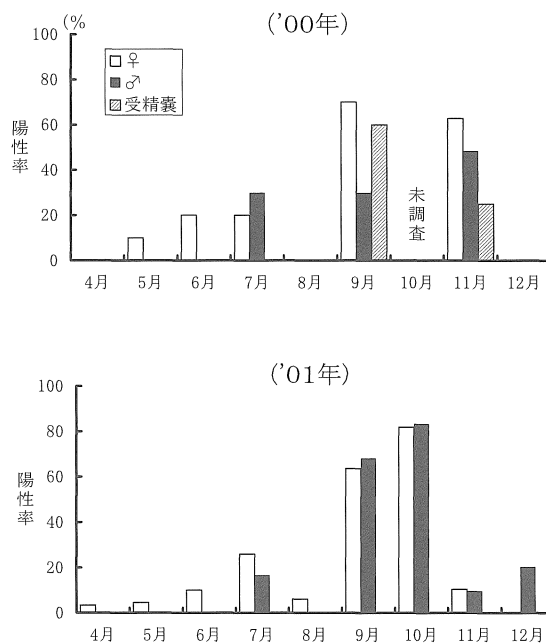


図1 クルマエビ 月別PRDV陽性率の推移

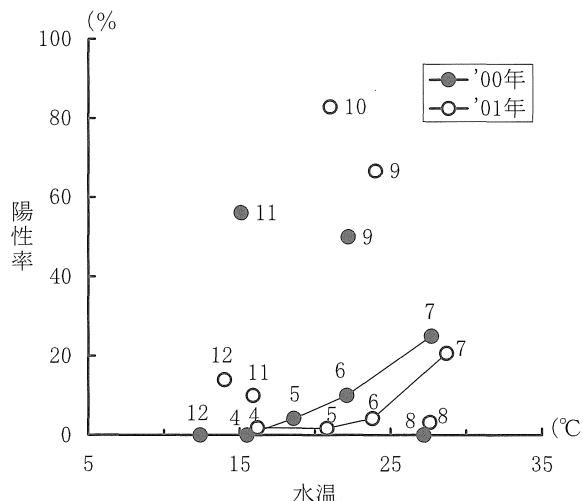


図2 水温とクルマエビ陽性率の関係 (図中の数字は採取月を示す)

覚内肢も陽性であり、受精囊陰性個体はこれらも全て陰性であった。

陽性率と水温の関係を図2に示した。水温のデータは漁獲海域のものがなかったので当センター前の海域で測定されたものを使用した。

両年とも4～7月は水温の上昇とともに陽性率が増加する傾向がみられたが、8月以降は水温の変動とは無関係であった。

クルマエビの雌雄別、陰陽性別の体長組成を図3に、また、'01年については月別に陰陽性別の体長組成を整理して図4にそれぞれ示した。

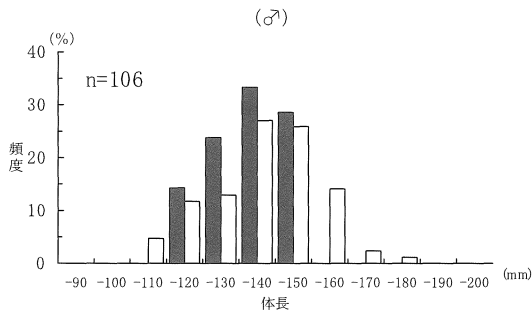
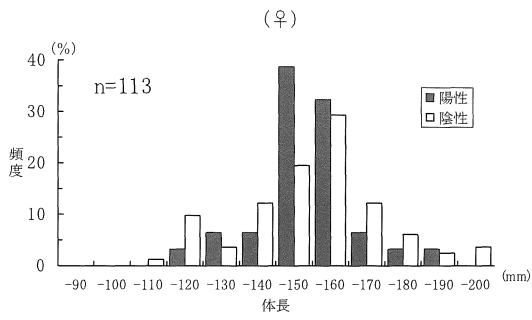


図 3-1 クルマエビ 陰性，陽性別体長組成 ('00年)

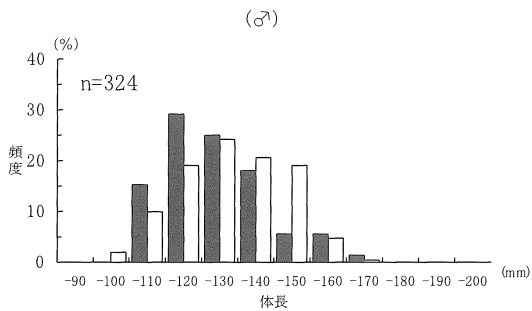
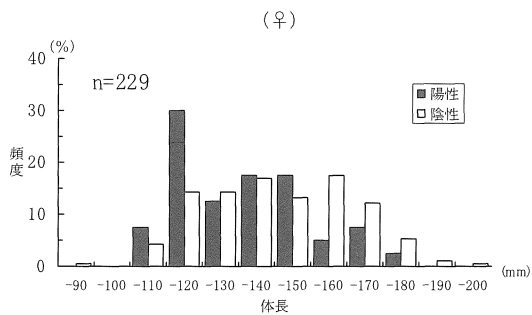


図 3-2 クルマエビ 陰性，陽性別体長組成 ('01年)

両年とも小型個体のほうが大型個体よりも陽性率が高い傾向がみられた。また，月別の体長組成の推移をみると，数群が順次漁獲加入している様子がうかがえたが，陽性率が高かった秋季に小型個体の漁獲割合が特に高いということはないため，全調査期間を通じて小型個体の陽性率が高かったものと考えられた。

'01年漁獲クルマエビの体長と体重を用いて陽性個

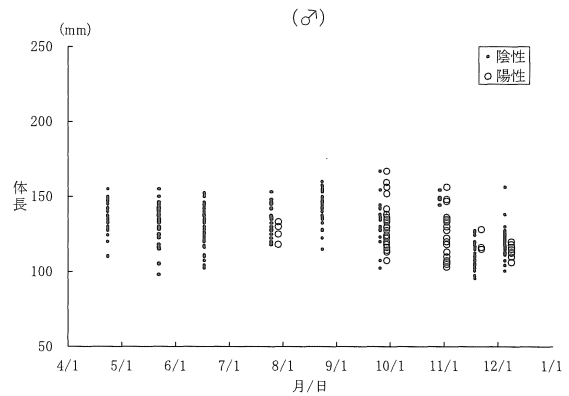
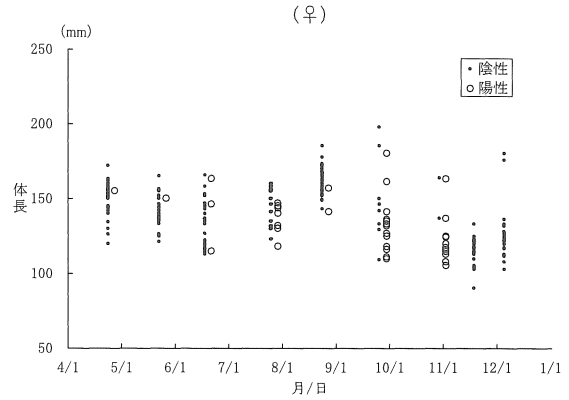


図 4 陰性，陽性別体長組成の推移 ('01年)

体，陰性個体別に求めた体長と体重の関係を図 5 に，肥満度($BW/BL^3 \times 10^3$)を図 6 に，また，月別の肥満度の推移を図 7 に示した。

体長と体重の関係は，陽性個体と陰性個体間で差がみられず，肥満度についても陽性個体が平均 $1.27 \pm 0.12\%$ ，陰性個体が $1.24 \pm 0.10\%$ と両者間に差は認められなかった ($p < 0.05$)。月別の肥満度の推移をみると，全体的に体長組成の変動に同調して季節変動しているものの，陽性，陰性個体間に一定の傾向は認められなかった。また，調査期間を通じた漁獲サンプルの外見観察の結果，体色の赤変・褪色及び外骨格の白点形成は全く認められなかった。

ヨシエビ，クルマエビ及び小型エビ類の PCR 検査結果を表 2 に示した。

ツノソリアカエビを除く 5 種のエビで陽性個体が認められた。ヨシエビは 50.0% とクルマエビに次いで高かった。また，5 種とも雌雄による差は特に認められなかった。

感染実験結果を表 3 に示した。

稚エビについては，同居飼育区，排水浸漬区とも一部で共食いはあったものの特にへい死はなく，PCR 検査

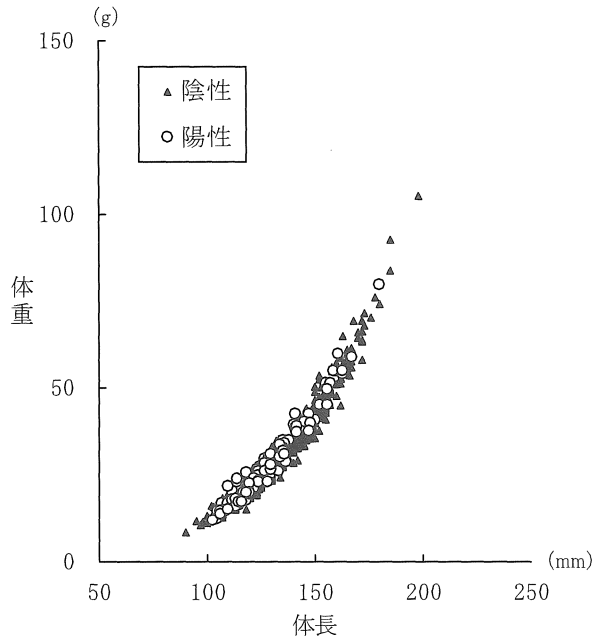


図5 陰性、陽性別 体長と体重の関係（'01年）

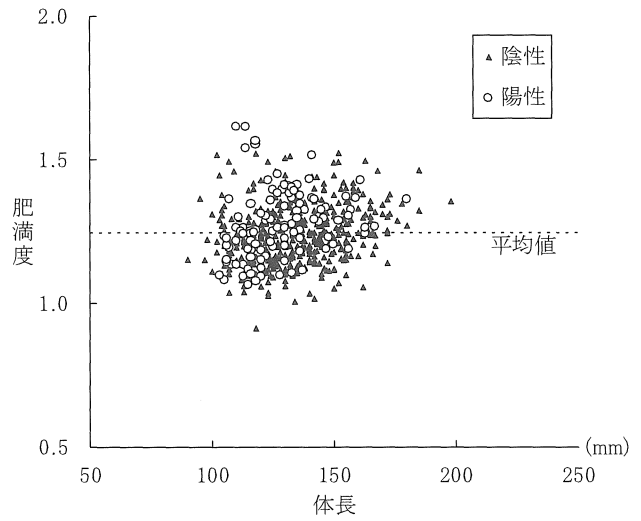


図6 陰性、陽性別 体長と肥満度の関係（'01年）

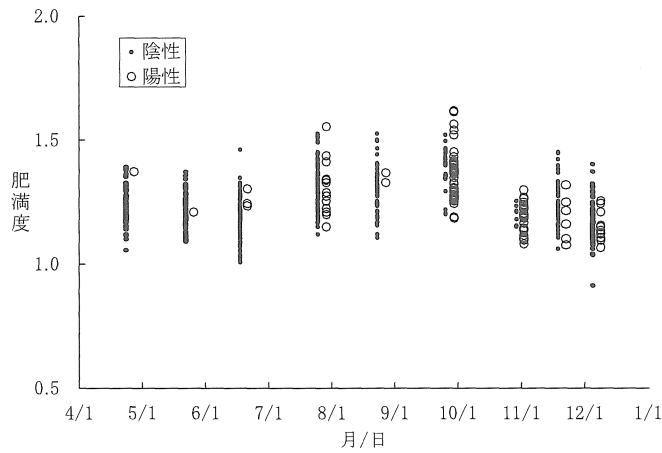


図6 陰性、陽性別肥満度の推移（'01年）

表2 他のエビ類のPCR検査結果

種 類	採取日	陽性率(%) (陽性数/検体数)		
		♀	♂	全 体
ヨシエビ	'01/9/26	50.0 (6/12)	50.0 (6/12)	50.0 (12/24)
クマエビ	"	0 (6/14)	12.5 (2/16)	6.7 (2/30)
クルマエビ	"	63.6 (14/22)	68.2 (44/30)	66.7 (44/66)
アカエビ	'01/10/12	40.0 (4/10)	40.0 (4/10)	40.0 (8/20)
トラエビ	"	10.0 (1/10)	0 (0/10)	5.0 (1/20)
サルエビ	"	0 (0/10)	10.0 (1/10)	5.0 (1/20)
ツノソリアカエビ	"	0 (0/9)	—	0 (0/9)

表3 感染実験結果

水槽	飼育方法	感染源	感染方法	供試エビ(被感染)	PCR検査結果					
					1日後	2	3	7	14	21
1	閉鎖	♀116mm	同居飼育	稚エビ	-	-	-	-	-	-
2	流水	♀180mm	同居飼育	"	-	-	-	-	-	-
3	"	♂133mm	"	成エビ♀198mm					+	+
4	流水	水槽2の排水	排水浸漬	稚エビ	-	-	-	-	-	-
5	"	" 3の排水	"	"	-	-	-	-	-	-
6	"	" 9の排水	"	"	-	-	-	-	-	-
7	流水(砂なし)	水槽2の排水	排水浸漬	稚エビ	-	-	-	-	-	-
8	流水	なし(対照区)	なし	稚エビ	-	-	-	-	-	-
9	"	♂133mm	なし	なし						

ではPRDVの感染は認められなかった。同居飼育していた成エビのみ14日後に初めて感染が確認された。ただし、この試験区では感染源エビがサンプリング直前にへい死し、被感染成エビによって食べられた形跡があった。なお、実験期間中の水温は22.0~18.9℃であった。

考 察

冒頭に述べたように、天然海域のクルマエビにキャリアが存在することが既に報告されているが、これらはいずれもクルマエビ養殖場に接した海域であり、本県筑前海のように近郊にクルマエビ養殖場が全く存在しない天然海域においてキャリアが確認された例は少ない。

本県筑前海で漁獲されたクルマエビのPRDV陽性率の月別推移をみると、春から秋にかけて徐々に増加し、冬に急激に低下するという季節的变化を示した。これは他県海域における報告⁴⁾¹¹⁾とほぼ同様であるが、既報に比べてそのピークが若干遅れる傾向がみられた。

この季節的变化に関しては、近縁種であるウシエビのWSS (white spot syndrome; PAVと同一の疾病と考えられている)において、ストレスが加わると数時間以内に発症前期 (pre-patent stage) から顕性感染期 (patent stage) に移行するとの報告¹⁰⁾があり、また、原因ウイルスであるWSSV (white spot syndrome virus) に不顕性感染した成エビにおいて、3月から11月までの多回産卵がストレスとなってWSSVの増殖が誘発されるために陽性率

が産卵期後半になるにしたがって高くなり、WSSを発症したエビが死亡することによって冬季の陽性率が低下すると考える報告¹³⁾もある。

クルマエビについては、卵巣の成熟とともにPRDVが検出されるようになったとの報告⁴⁾があるものの、この季節変動の要因の解明には至っていない。今後は、前述のように陽性率のピークが海域によって若干異なっていたことに注目し、海域による産卵期の相違と陽性率の季節変動の相違との関連を明らかにしていく必要があると考えられた。

PRDV陰陽性個体間の肥満度に差が認められなかったことから、クルマエビ成体においてPRDVを保有することは、その生育に何ら影響を及ぼしていないと考えられた。また、陽性個体にPAVの特徴的な外観症状がみられなかったことから、これらはPAVを発症しておらず、不顕性感染状態であったものと考えられた。

調査期間を通じてクルマエビの小型個体でPRDV陽性率が比較的高かったことに関しては、前述したようにウシエビでは産卵後にWSSVに感染した成エビが死亡すると考える報告があることから、クルマエビ小型個体の陽性率が大型個体に比べて高く、しかも冬に陽性率が急激に低下することを併せて考えると、クルマエビと同様の現象が起こった可能性を否定できないが、これを実証する結果は得られておらず、さらなる検討が必要と考えられた。

次に、クルマエビ以外の生物については、ヨシエビ、¹²⁾ウシエビ、¹³⁾キシエビ、トラエビ、アカエビ、サルエビ、¹⁰⁾ユビナガスジエビ、イシガニ、アシハラガニ、¹¹⁾ニホンスナモグリ*等、

*福田穰：クルマエビ養殖池に生息するニホンスナモグリからのPRDVの検出、平成11年度日本魚病学会春季大会講演要旨集、38 (1999)

多種の甲殻類においてPRDVまたはWSSVの保有が確認されている。今回の調査により、初めて本県筑前海においてもクルマエビのみならず、他のエビ類にもキャリアーが確認されたことから、本海域においてもPRDVの感染が大きく広がっていると推察された。これらのキャリアー生物は感染実験（注射及び経口法）によって、病原性を有することが確認されていることから、⁶⁾¹⁰⁾防疫上、陸上中間育成施設においても小エビ類も含めてPRDV保有が疑われる生物の侵入を防除する対策、例えば海水井戸や海水ろ過装置及び殺菌装置の使用が不可欠と考えられた。

今回の感染実験では、キャリアークルマエビと同居させた成クルマエビでのみ感染が確認されたものの、この感染経路については単なる同居感染とは異なり、死亡した感染源エビを摂食したことによる経口感染の疑いが強い。したがって、今回の結果からは、不顕性感染状態のクルマエビから海水を介した感染や接触による感染、いわゆる水平感染は容易には起こらないと推察された。これらのことから、天然海域では経口感染によって個体レベルで、さらに垂直感染によって感染が拡大しているものと推察される。

今後は他の生物にも調査対象を広げ、海域全体の感染状況を把握するとともに、天然海域における感染方法や感染経路について明らかにし、また、不顕性感染状態のクルマエビ等のPAV発症状況について把握することが必要と考えられた。

要 約

- 1) 福岡県筑前海におけるクルマエビのPRDV保有状況を'00年と'01年の4月から12月まで1ヶ月毎にサンプリング調査し、'01年9月及び10月にはヨシエビ、クマエビ、小エビ類についても同様に調査した。
- 2) PRDV保有クルマエビの感染性について検討するため、保有エビ生体を用いた同居及び排水浸漬による感染実験を行った。
- 3) クルマエビにPRDV陽性個体が確認され(0~83%)、陽性率は秋にかけて高くなり、冬に急激に低下する傾向がみられた。
- 4) クルマエビについて、全般的に雌のほうが雄よりも陽性率が高い傾向にあり、小型個体の陽性率が高かった。
- 5) クルマエビの陽性個体と陰性個体で肥満度にも差はみられず、陽性個体にはPAVの外観症状である白点

や体色異常は認められなかった。

- 6) ヨシエビ、クマエビ、アカエビ、トラエビ、サルエビにもPRDV保有個体が確認されたことから、福岡県筑前海のような近郊にクルマエビ養殖場がない天然海域でもPRDVの感染が大きく広がっていることが示唆された。
- 7) 感染実験結果から、海水を介して、または接触程度では、PRDV保有クルマエビからのウイルス感染は容易には起こらないと考えられた。

文 献

- 1) 中野平二，河邊博，梅沢敏，桃山和夫，平岡三登里，井上潔，大迫典久：1993年に西日本で発生した養殖クルマエビの大量死：発生状況および感染実験，魚病研究，29（2），135-139（1994）。
- 2) 桃山和夫，平岡三登里，中野平二，河邊博，井上潔，大迫典久：1993年に西日本で発生した養殖クルマエビの大量死：病理組織観察，魚病研究，29（2），141-148（1994）。
- 3) 佐々木和之，大津隆一，的場達人：陸上中間育成施設で発生したクルマエビのRV-PJによる疾病，福岡県水産海洋技術センター研究報告，5，25-29（1996）。
- 4) 虫明敬一，有元操，佐藤純，森広一郎：天然クルマエビ成体からのPRDVの検出，魚病研究，33（5），503-509（1998）。
- 5) 木村武志，山野恵祐，中野平二，桃山和夫，平岡三登里，井上潔：PCR法によるPRDVの検出，魚病研究，31（2），93-98（1996）。
- 6) Minoru Maeda, Toshiaki Itami, Atushi Furumoto, Oscar Hennig, Tomohiro Imamura, Masakazu Kondo, Ikuo Hirono, Takashi Aoki, Yukinori Takahashi: Detection of Penaeid Rodshaped DNA Virus (PRDV) in Wild-caught Shrimp and Other Crustaceans, Fish Pathology, 33(4), 373-380 (1998).
- 7) 山口県内海水産試験場：養殖クルマエビのPAVに関する研究，平成9年度魚病対策技術開発研究成果報告書，(社)日本水産資源保護協会，91-100（1998）。
- 8) 山口県内海水産試験場：PAVの予防対策技術開発，平成10年度魚病対策技術開発研究成果報告書，(社)日本水産資源保護協会，123-131（1999）。

- 9) 山口県水産研究センター内海研究部：PAVの予防対策技術開発研究，平成11年度魚病対策技術開発研究成果報告書，(社)日本水産資源保護協会，85-90 (2000).
- 10) 山口県水産研究センター内海研究部：PAVの予防対策技術開発研究，平成12年度魚病対策技術開発研究成果報告書，(社)日本水産資源保護協会，173-184 (2001).
- 11) 静岡県水産試験場浜名湖分場：天然海域におけるクルマエビPRDV保有状況の把握に関する研究，平成11年度魚病対策技術開発研究成果報告書，(社)日本水産資源保護協会，91-99 (2000).
- 12) C. S. Wang, Y. I. Tsai, G. K. Kou and S. N. Chen : Detection of white spot disease virus infection in wildcaught greasy back shrimp, *Metapenaeus* (de Haan) in Taiwan, Fish Pathology, 32 (1), 35-41 (1997).
- 13) Lo, C. F., C. -H. Ho, C. -H. Chen, K. -F. Liu, Y. -L. Chiu, P. -Y. Yeh, S. E. Peng, H. -C. Hsu, H. C. Liu, C. -F. Chang, M. -S. Su, C. -H. Wang and G. -H. Kou : Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *Penaeus monodon* with a special emphasis on reproductive organs, Dis. Aquat. Org., 30, 53-72 (1997).
- 14) 筑紫康博, 岩淵光伸, 行武敦：親クルマエビの効率的なPRDV検査部位，福岡県水産海洋技術センター研究報告，10, 41-43 (2000).
- 15) 筑紫康博, 岩淵光伸, 白石日出人：蛍光プローブPCR法 (TaqManシステム法) によるPRDVの検出，福岡県水産海洋技術センター研究報告，9, 39-42 (1999).
- 16) Shao-En Peng, Chu-Fang Lo, Kuan-Fu Liu and Guang-Hsiung Kou: The Transition from Pre-patent to Patent Infection of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in *Penaeus monodon* Triggered by Pereiopod Excision, Fish Pathology, 33 (4), 395-400 (1998).