

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

佐々木 和之・大津 隆一*¹・的場 達人
(筑前海研究所)

Outbreaks of RV-PJ Disease in Cultivating Facilities during Intermediate Growth Stage of Prawn

Kazuyuki SASAKI, Ryuichi OHTSU*¹ and Tatsuhiro MATOBA

1993年に中国から輸入したクルマエビ種苗に端を発したウイルス性疾病¹⁾は、瞬く間に西日本各地の養殖池に広まり業界に壊滅的な被害を与えている。その病原体はバキュロウイルスまたはポリドナウイルス²⁾と言われており、現在分類について研究が進められている。本疾病は、RV-PJ感染症(Rod shaped Nuclear Virus of *Penaeus japonicus*:クルマエビの核に寄生する桿状のウイルス)と仮称²⁾されている。本疾病の発生はこれまで養殖クルマエビに限られており、種苗生産、中間育成時での発生は無かった。しかし、'95年7月、県下数ヶ所の陸上中間育成場で飼育していた稚エビが突然大量へい死し、数日間で全滅した。そのため、早急に発生状況を把握するとともに、へい死原因を明らかにする必要がある。また、へい死が発生した後も同じ施設を使用して中間育成を実施する場所があったため、汚染された水槽等の消毒を行った。同時に県栽培漁業公社から出荷予定の種苗のチェックを行い、出荷の可否について判断した。併せて、今回取り組んだ防疫体制の有効性についても検討した。

材料および方法

1. へい死状況調査

へい死状況を把握するために、中間育成場の水槽毎に稚エビの体長、歩留り、へい死数を測定し、合わせて水温、給餌方法等の飼育管理状況も調査した。

2. 原因究明調査

原因究明のための簡易診断は山口県内海水産試験場に、確定診断は水産庁養殖研究所に依頼した。本疾病がRV-PJ感染症と確定した後は、福岡県保健環境研究所との共同研究としてその後の対応に取り組んだ。光学顕微鏡観察用の試料は各水槽から衰弱稚エビ10尾ずつを採取し、10%緩衝ホルマリンで固定するとともに、マイナス80℃の凍結保存を行った。本ウイルスは血リンパ中や胃上皮層に多数存在する³⁾と言われていたため、電子顕微鏡観察のための前処理として、図1に示したように数個体の稚エビから胃組織のみを摘出した。ネガティブ染色は表1に示したように粗遠心分離、超遠心分離等の処理の後、リン・タンゲステン酸で染色して行った。ウイルス粒子は透過型電子顕微鏡を用いて観察するとともに形状、大きさ等を測定した。

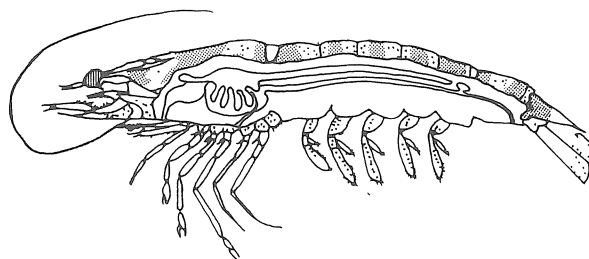


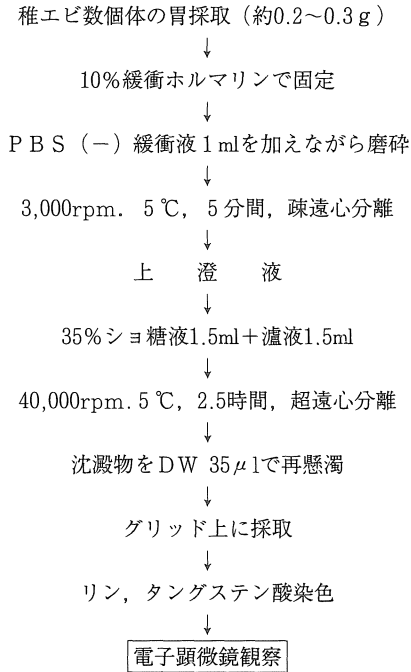
図1 クルマエビ内蔵模式図

3. 防疫体制の整備

中間育成場のすべての施設は、有効塩素濃度30ppmで最低48時間の消毒を行った。塩素海水はチオ硫酸ナトリウムで中和した後放水し、水槽は天日乾燥させた。また、

*¹ 福岡県保健環境研究所

表1 電子顕微鏡観察のためのネガティブ染色操作



栽培漁業公社で出荷予定の種苗のチェックは、熊本県水産センターで初めてPCR用のプライマーが開発され、この方法による診断が可能となったため分析を依頼した。

結 果

1. RV-PJ発生状況

(1) 場所別発生状況

中間育成したクルマエビはすべて県栽培漁業公社で生産された第1~3回生産群である。筑前海区で稚エビの中間育成を行っている場所は全部で13ヶ所である。そのうち陸上施設は福吉、姪浜、志賀島、波津、柏原、脇田、脇ノ浦、戸畑及び藍島の9ヶ所、半築堤式は能古島1ヶ所、海上囲い網は唐泊、浜崎今津及び津屋崎の3ヶ所である。なお、筑前海研究所でも標識放流を行うために飼育していた。

このうちRV-PJに起因するへい死は飼育期間の長い陸上施設のみで見られた。発生の早い順に'95年7月12日に当研究所、8月10日に志賀島、8月22日に福吉及び10月8日に再度志賀島の各中間育成場で延べ4回見られた。

1) 筑前海研究所

当研究所における稚エビの飼育状況は表2に、へい死状況は図2に示した。稚エビは'95年4月7日に県栽培漁業公社で種苗生産された第1回生産群であった。5月25日~7月1日の38日間志賀島中間育成場で飼育され、体長31mmで放流された一部で、引き続き当研究所で5,000尾を飼育していた稚エビである。飼育開始当初は順調に成長し、10日目の平均体長は40mmに達していた。

表2 稚エビの飼育状況

地区名	筑前海研究所	志賀島	志賀島	福吉
1 種苗入手先	福岡県栽培漁業公社	福岡県栽培漁業公社	福岡県栽培漁業公社	福岡県栽培漁業公社
2 種苗生産月日	4月7日	6月1日~3日	8月3日	6月3日
3 生産回時	第1回	第2回	第3回	第2回
4 中間育成開始日	5月25日	7月24日	9月14日	7月24日
5 開始時の体長(mm)	31.2	12	12	12
6 飼育総尾数(尾)	5,000	1,600,000	2,340,000	700,000
7 水槽数及び容量	15t×1基, 5,000尾/水槽	150t×5基, 35万尾/水槽	150t×6基, 39万尾/水槽	150t×2基, 35万尾/水槽
8 飼育密度(尾/m ²)	100	1,800	2,200	1,800
9 へい死期間	7月12日~18日	8月10日~15日	10月8日~14日	8月22日~25日
10 へい死時の平均体長(mm)	40	28.5	29.4	35.0
11 へい死率(%)	ほぼ全滅	95%以上	26.8	ほぼ全滅
12 平均飼育水温(℃)	23.0	28.8	21~22	29.6
13 処置	・すべて処分 ・有効塩素濃度100ppmで消毒 ・天日干し	・へい死が発生した水槽のエビはすべて処分 ・有効塩素濃度30ppmで消毒 ・全水槽天日干し	・へい死が発生した水槽のエビは処分 ・有効塩素濃度30ppmで消毒 ・全水槽天日干し	・すべて処分 ・有効塩素濃度30ppmで消毒 ・全水槽天日干し

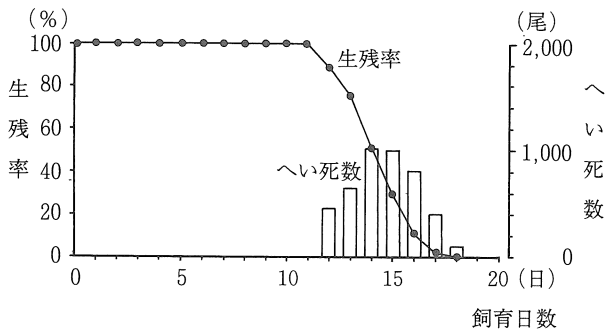


図2 筑前海研究所におけるクルマエビのへい死状況

へい死前日はやや餌喰いが悪く残餌が認められた。12日目は日中にもかかわらず砂から出てフラフラと遊泳するなど異常な行動を示し、短時間の内にへい死する個体が多数認められた。その後もへい死は止まらず、3～4日後に最も多数認められた。1日当たりの最多へい死数は1,000尾、へい死率は20%に達して、1週間後にはほぼ全滅した。へい死した稚エビはサイホンで計数しながらすべて取り上げ焼却した。処分後は有効塩素濃度100ppmで施設を消毒し、天日乾燥を行った。

2) 志賀島中間育成場

志賀島における飼育状況は同表2に、水槽別のへい死状況は図3に示した。稚エビは6月1日～3日に県栽培漁業公社で種苗生産された第2回生産群であった。へい死は8月10日にNo. 5の水槽で、翌11日は隣のNo. 4の水槽で見られた。このままでは全滅する恐れがあったため、12日にへい死が全く起こっていないNo. 1, 3及び6の水槽の稚エビを夜間集魚灯による方法で集め、取り上げた。放流サイズには達していなかったが、約半数に当たる33万尾を緊急に放流した。14日になって取り残しの稚

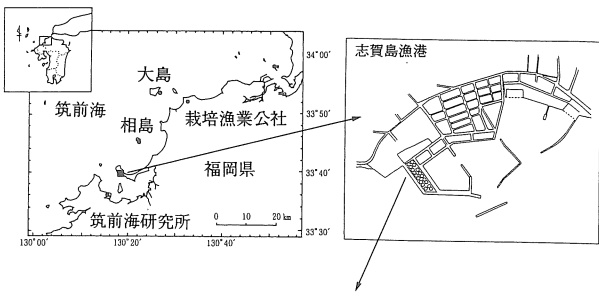


図3 志賀島中間育成場におけるクルマエビのへい死状況 (第2回生産群)

エビがへい死し始め、8月15日には全水槽の稚エビが全滅した。へい死が始まって6日目であった。

防疫体制をとったにもかかわらず、再度RV-PJ感染症の発生が見られた志賀島における稚エビの飼育状況は同表2に、へい死状況は図4に示した。稚エビは8月3日に種苗生産された第3回生産群であった。へい死は飼育開始24日目の10月8日にNo. 2の水槽で初めて見られた。6日後のへい死数は少ない順にNo. 1と5の水槽で数尾、No. 6で約1,000尾、No. 4で200,000尾(へい死率は50%)、No. 2で320,000尾(へい死率は80%)であった。No. 3の水槽ではへい死は全く確認できなかった。

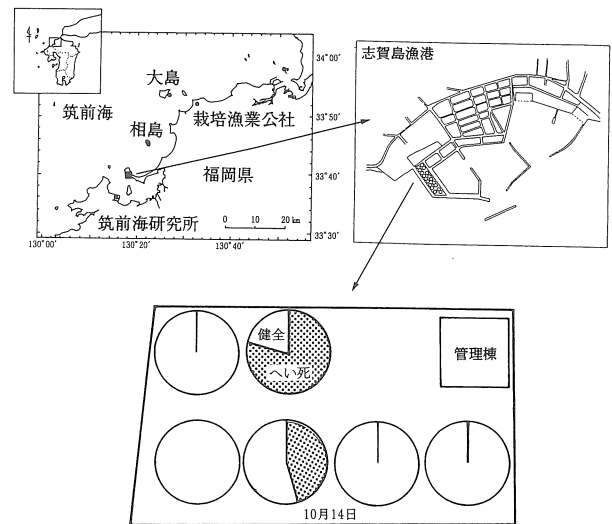


図4 志賀島中間育成場におけるクルマエビのへい死状況 (第3回生産群)

1回目と2回目のへい死時の水温を比較すると、29～30℃の高温水期では、へい死が始まってから1週間以内でほぼ全滅したのに対して、21～22℃では1週間後のへい死率は26.8%と低かった。

3) 福吉中間育成場

福吉中間育成場で飼育した稚エビは同表2に示したように、6月3日に生産された第2回生産群で、最初に志賀島でへい死が見られた群と同じ種苗であった。へい死は8月22日に1つの水槽に、翌23日には残りの水槽で認められた。へい死が発生して4日目ではほぼ全滅した。

2. へい死原因調査

今回、中間育成場で発生した稚エビのへい死は、水槽によってはほぼ1日で全滅するなど急性型の症状を示すことや、頭甲胸の外骨格に多数の白点が認められること^{4) 5)}が特徴であり、その原因は飼育ミスではなく病気によるものと考えられた。山口内海水産試験場の簡易診

断で、RV-PJ感染症の疑いが強いとの報告を受けた後、水産庁養殖研究所による電子顕微鏡観察の確定診断の結果、RV-PJ感染症によるものと判明した。その後、再び志賀島中間育成場の第3回生産群の稚エビで同様な大量へい死が発生した。その原因を明かにするために、福岡県保健環境研究所の透過型電子顕微鏡を使用してウイルスの検出を行った。また、最初のへい死が見られた当研究所の稚エビについても同様な観察を行った。ウイルス粒子は図5に示したように、形状は桿状である。ウイルス粒子18個体の平均の大きさは310nm×108nmで、養殖研究所の確定診断結果とほぼ一致した。以上のことから中間育成場で発生した稚エビの大量へい死はすべてRV-PJ感染症が原因と判明した。



図5 RV-PJ感染症ウイルス粒子

3. ウイルス保菌調査

ウイルスチェックは、栽培漁業公社から稚エビが出荷できるか否かを左右する重要な問題である。そこで、第3回生産群の出荷直前の数十尾の稚エビと、第2回目の種苗生産に用いた親エビ10尾を熊本県水産センターに送付して、PCR法によるウイルスチェックを依頼した。その結果、親エビについては陽性、稚エビは陰性であった。これらの事実から栽培漁業公社で飼育中の稚エビは

出荷可能と判断した。

4 施設の消毒

第3回生産群の種苗を受け入れる予定の福吉、志賀島他3ヶ所すべての施設について、有効塩素濃度30ppmで消毒を行った。消毒効果は表3にとりまとめたように、病気の発生が無かった施設で、消毒を実施した脇ノ浦及び戸畑の中間育成場ではへい死は見られなかった。波津では消毒前の病気の発生の有無は不明であったが、消毒後は発生が認められなかった。一方、志賀島中間育成場では徹底した消毒を行ったにもかかわらず、再度RV-PJ感染症によるへい死が発生した。なお、ウイルスの失活は有効塩素濃度では3ppmと言われている。

表3 施設の消毒の効果

地 区 名	福吉	志賀島	波津	脇ノ浦	戸畑
8月 RV-PJ発生の有無	●	●	△	○	○
9月 消毒実施					
10月 RV-PJ発生の有無	○	●	○	○	○

○：発生無し ●：発生有り △：不明

考 察

本県のクルマエビの疾病は、'82年～'83年に県栽培漁業公社の種苗生産時に、極めてへい死率の高いウイルス性疾病の中腸腺壊死症（BMN）の発生があったが、その後は生産に支障をきたす疾病は見られていない。

今年、本県で発生したRV-PJ感染症によるクルマエビの大量へい死は中間育成場では初めてであり、今後も本疾病の発生が続けば栽培漁業を推進していく上で大きな支障となる。その原因は、本来我国には存在していなかった絶対性病原体のウイルスによるものである。現在、東南アジア、中国、台湾さらに我国においてもクルマエビ養殖は壊滅的な被害を受けており、未だに有効な治療方法や防疫体制ができていない。

今回本県の中間育成場で大量へい死を起こしたウイルスは、PCR法による診断の結果、種苗生産に用いた親エビが感染しており、その後親エビから稚エビに垂直感染し（現在のところ卵中にウイルスが存在しているか否かは不明）かなり長い潜伏期間を経て各中間育成場で爆発的に増殖し、稚エビの大量へい死につながったものと推定された。同じ生産群の種苗でも中間育成場によっては、RV-PJ感染症の発生が認められなかったことについては、親エビのロットや稚エビの飼育水槽が異なったた

めと考えられる。また、福吉のように志賀島と同一生産群でありながら、へい死の時期が10日以上も遅れた原因については、稚エビの飼育水温、感染初期のウイルスの濃度等による条件の違いで、ウイルスの増殖が左右され、その結果として発症時期が異なったものと推定された。防疫体制をとったにも係わらず第3回生産群の志賀島で再度発生した原因は、消毒の不徹底や有機物等による殺菌効果の減少等が考えられるが、明確なことは不明であり、今後の問題点として残された。

熊本県で初めてPCR用のプライマーが開発されたことにより、本法を用いて高感度のチェックが可能となった。今後、採卵用の親エビや種苗生産、中間育成時の稚エビの診断が可能となるとともに、感染経路の解明、施設の消毒のチェック、飼育海水、天然漁場への影響など本疾病に対する研究は飛躍的に進展するものと期待される。また、今後は保健環境研究所との共同研究として卵に関する感染経路の解明に取り組む予定である。

一方、他県で行われている半築堤式や築堤式養殖池に比べ、本県の場合、稚エビの中間育成用には比較的小型の陸上施設を使用しているため消毒が容易であることや、周年にわたって使用しないため、防疫体制はとりやすいと考えられる。12月現在も一部飼育を継続している中間育成場の状況を表4にとりまとめた。防疫体制を実施した福吉や波津中間育成場ではへい死は全く見られていない。従って、今回実施した親エビや稚エビのウイルスチェックを行って健全な種苗を確保し、消毒が済んだ中間育成施設に収容して飼育すれば、本疾病はある程度防止できることが実証されたと言えよう。

表4 中間育成場におけるクルマエビの飼育状況

中間育成場名/月	5	6	7	8	9	10	11	12
志賀島筑前研究所			—○×					
福吉				—×				
志賀島				—×		—×		
波津					—○			
柏原					—○			
脇ノ浦						—○		
戸畑							—○	

× : RV-PJの発生有り ○ : 放流
 … : RV-PJの発生無し (現在飼育中)

本調査に当たり多大なる協力を賜った水産庁養殖研究所井上室長、山口県内海水産試験場桃山科長並びに熊本県水産センター木村研究員に心から謝意を表する。

要 約

- 1) 1995年に筑前海研究所、志賀島及び福吉の中間育成場において稚エビの大量へい死が発生した。へい死の原因は電子顕微鏡観察の結果、全てRV-PJウイルスによるものであった。
- 2) 本疾病は今までは養殖クルマエビに限られていたが、中間育成場での発生は初めてであった。
- 3) 稚エビは水温が29~30℃の高水温期では、へい死が始まってから1週間以内でほぼ全滅したのに対して、21~22℃では1週間後のへい死率は22.3%と緩慢であった。
- 4) ウイルスは、種苗生産に用いた親エビが保菌しており、親エビから稚エビに垂直感染し、稚エビを介して各中間育成場に伝播したものと推定された。
- 5) 本疾病は施設の消毒と健全な種苗を確保するなど十分な防疫体制をとれば、ある程度防止できることが実証された。

文 献

- 1) 中野ら: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) 井上ら:1993年に西日本で発生した養殖クルマエビの大量死、電顕観察による原因ウイルスの検出, 魚病研究, 29 (2), 149-158 (1994).
- 3) 桃山ら:クルマエビの“RV-PJ感染症”の診断方法, 魚病研究, 30 (4), 263-269 (1995).
- 4) 高橋ら:クルマエビから検出された桿状ウイルス, 魚病研究, 29 (2), 121-125 (1994).
- 5) 桃山ら: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).