

平成22年度

新潟県内水面水産試験場調査研究発表会
要旨集

平成23年3月4日（金）

新潟県長岡地域振興局 会議棟 2階大会議室

平成22年度 新潟県内水面水産試験場調査研究発表会次第

日 時:平成23年3月4日(金)13:15~17:00

会 場:長岡地域振興局 会議室棟2階大会議室

1. 開 会

2. 挨 拶

3. 調査研究発表

(1) 各河川におけるサケの回帰率について 小池 利通

(2) 河床材料とアユの漁獲量との関係 伊藤 陽人

(3) 吸引装置と電気ショッカーボートを用いたコクチバスの駆除 伊藤 陽人

(4) 水田を利用したドジョウの種苗生産 中嶋 一恵

(5) 「魚沼美雪ます」の肉質改善(赤色の改善) 井熊 孝男

(休 憩)

(6) 黄色系斑紋のニシキゴイの新品種について 佐藤 将

(7) ニシキゴイ交雑魚の耐病性と成長について 佐藤 将

(8) 高水温処理を利用した新穴あき病の防除に関する研究 的山 央人

(9) KHV病感染耐過魚からのウイルス検出の試みーⅡ 小林 健一郎

4. 講 評

5. その他

6. 閉 会

各河川におけるサケの回帰率について

資源課 専門研究員 小池利通

1 目的

サケ資源の安定回帰と向上を目指すとともに、放流稚魚生産経費の節減を図るための資料を得ることを目的として、県内各河川のサケの回帰状況とふ化場の稚魚の生産状況を調査した。

2 方法

- ① 県内各河川における、S58～H17年級群の回帰率と放流数の経年変化を調べた。
- ② 年級回帰率と放流数との関連を調べるとともに、施設の生産能力も考慮した効率的な放流について検討した。
- ③ 近年の年級群のうち、回帰率が低かった H16年級群について、前年級と値を比較し、減耗度合いを調べた。

3 結果と考察

- ① サケ稚魚の生産・放流技術の評価指標の1つである年級回帰率が経時的に向上傾向を示した河川は、大川、勝木川、三面川、荒川、阿賀野川、信濃川、加茂・能代川、五十嵐川、桑取川、名立川、能生川であった。姫川は若干であるが低下傾向を示し、加治川、大河津分水、魚野川、谷根川、田海川では増減傾向はみられなかった。
- ② 上記河川のうち、加治川、阿賀野川大河津分水、姫川、田海川の放流数には、経時的な増減傾向はみられなかった。それに対し、加茂・能代川は増加傾向を示し、他の河川は減少傾向を示した。
- ③ 放流数と年級回帰率間の相関関係を調べた結果、放流数が多いと回帰率が低くなる負の相関を示した河川は、大川、勝木川、三面川、荒川、加治川、信濃川、五十嵐川、大河津分水、名立川、能生川で、他の河川には相関はみられなかった。
- ④ 各ふ化場のサケ稚魚生産能力に対し、実際に生産した H21年級の尾数を対比させたところ、過剰生産と考えられるふ化場が多く認められた(表1)。

表1 ふ化場のサケ稚魚生産能力に対する平成21年級の生産尾数の比較

| | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 大川 | 勝木川 | 三面川 | 荒川 | 胎内川 | 加治川 | 阿賀野川 | 信濃川 | 加茂川 | 能代川 | 五十嵐川 |
| 1.04倍 | 0.93倍 | 1.70倍 | 0.49倍 | 0.86倍 | 0.88倍 | 1.11倍 | 1.28倍 | 1.31倍 | 2.14倍 | 0.93倍 |
| 寺泊 | 雲洞 | 浦佐 | 中魚沼 | 谷根川 | 桑取川 | 名立川第一 | 名立川第二 | 能生川 | 姫川 | 田海川 |
| 0.69倍 | 0.67倍 | 1.14倍 | 0.33倍 | 0.65倍 | 0.89倍 | 1.39倍 | 1.21倍 | 0.76倍 | 0.58倍 | 0.76倍 |

- ⑤ ①～④の結果から、多くの河川では放流数を現在より抑制することにより回帰率の向上が期待され、放流種苗の経費節減が図られるものと考えられた。
- ⑥ H16年級の回帰率は、H15年級群を100とした場合、10.1～120.5%の値を示し、2河川を除く殆どの河川で値がH15年級より小さくなるとともに、河川間での値の差が大きかった。H17年級群でも19河川中12河川の回帰率が15年級の値を下回り、対比値が21.4%という小さな値を示した河川があるなど、2年級連続で放流後の減耗率が大きかったところも多かったことが判明した。

河床材料とアユ漁獲量の関係

資源課 研究員 伊藤 陽人

1 目的

魚野川では、平成14年以降、放流しているにも関わらず漁獲が良好な漁場と漁獲の不良が続く漁場が顕在化してきた。このような現象は各地で見られるようになり、平成20年度から3か年にわたり、アユの漁獲不良につながる河川環境変化を把握するための調査が行われた。本研究では、河床材料の粒度組成に着目し、その違いがアユの不漁の一因であるか否かを調査するとともに、河床材料の簡便な調査方法の有効性を検討した。

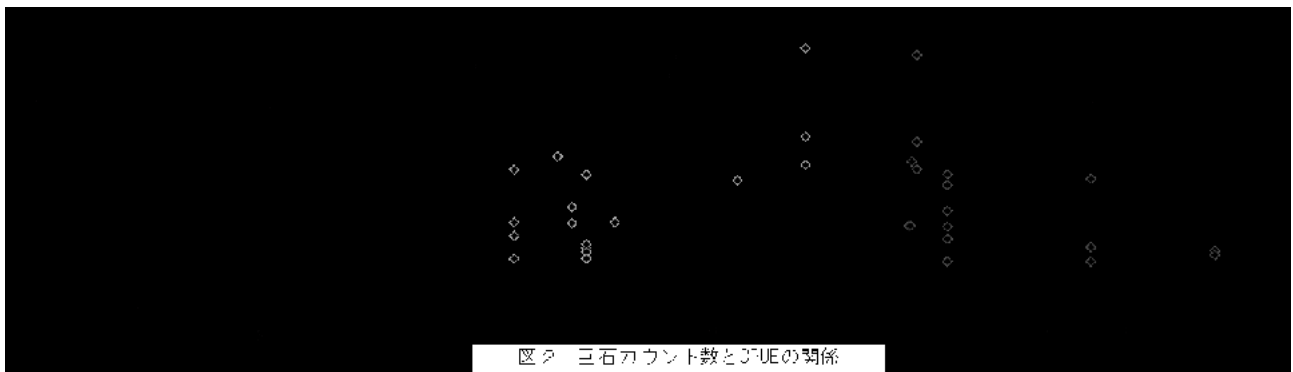
2 方法

漁獲量調査は魚沼漁業協同組合に依頼し、友釣りにより行った。調査地点は石打姥島橋、大巻、浦佐多聞橋下、佐梨および堀之内の6地点とした。調査員は堀之内で3名、その他は5名で、7月10日から8月15日までの期間に延べ4回、1回につき2時間の漁獲調査を行った。得られた結果から、調査地点ごとに1人1時間あたりの平均漁獲尾数(以下CPUE)を求めた。

河床材料の粒度組成は写真計測法により、漁獲量調査と同じ地点で調査した。調査地点では、河川敷の水際に1.0m×1.0mの枠内を10cmメッシュに区切った方形枠をサイズの大きい河床材料が入るよう敷設し、デジタルカメラを用いて鉛直方向から各地点10ポイントずつ撮影した。得られた画像から、面積格子法を用いて方形枠内にある各堆積物を抽出した。そして、調査地点ごとに抽出数の平均値を求め、その値をカウント数として漁獲量との関係を分析した。さらに、抽出した堆積物は長径を基に簡便階級(表1)によって区分し、各調査地点の粒度別カウント数を求めて漁獲量との関係を検討した。

3 結果と考察

アユ友釣りのCPUEはカウント数の増加に伴って減少した(図1)。粒度別では、巨石カウント数が増加するとCPUEが増加し(図2)、砂泥カウント数が増加するとCPUEが減少する傾向がみられた(図3)。これらの結果から、アユの漁獲が多い漁場には長径25-50cmの巨石が多く存在し、長径0.4cm未満の砂泥が多い漁場では漁獲量が少なくなると推測された。従って、魚野川においてアユの漁獲不良を引き起こす要因の1つとして、河床材料の粒径分布の細粒化、巨石の減少や砂泥の増加が推測された。今後、漁場を改善する方策としては、巨石の投入や埋まった石を掘り起こす河床耕耘により、河床に巨石を増やすことが考えられる。しかし、大規模な河床改良を行った場合、土砂の流出による河床低下や露盤化を招く可能性も危惧されるため、対象河川の特性をよく把握した上で対策を講じることが重要であると考えられた。



吸引装置と電気ショッカーボートを用いたコクチバスの駆除

資源課 研究員 伊藤 陽人

1 目的

当場は、加治川水系内の倉ダム湖において、卵仔魚を採捕する卵仔魚吸引装置(吸引装置)、刺網にかからない幼魚を採捕する電気ショッカーボート、成魚を採捕する刺網を用いて駆除を行っている。本年度は、引き続き吸引装置、電気ショッカーボートおよび刺網を用いた駆除調査を行い、コクチバスの新規加入を抑制するとともに、これまでの駆除の効果を検証することを目的に行った。

2 方法

吸引装置によるコクチバス再生産の抑制は、ブラックバス問題新潟委員会と共同で、5月31日、6月9、16日の計3日間行った。電気ショッカーボート駆除調査は、北海道総合研究機構さけます・内水面水産試験場と共同で、9月27、28、29、30、10月1、4および5日の計7日間行った。生息尾数は除去法により、Program captureを用いて推定した。刺網駆除調査は、8節8寸の3枚網を用いて加治川漁業協同組合と共同で、5月31日、7月4日および10月3日に行い、3日間で延べ72反を投入した。その結果得られたCPU Eから、今年度の体長76mm以上のコクチバスの生息尾数を推定した。また、刺網駆除調査で採捕された全てのコクチバスと、電気ショッカーボート駆除調査で採捕されたコクチバスの一部から耳石を摘出し、体長と年齢の関係についても調査した。

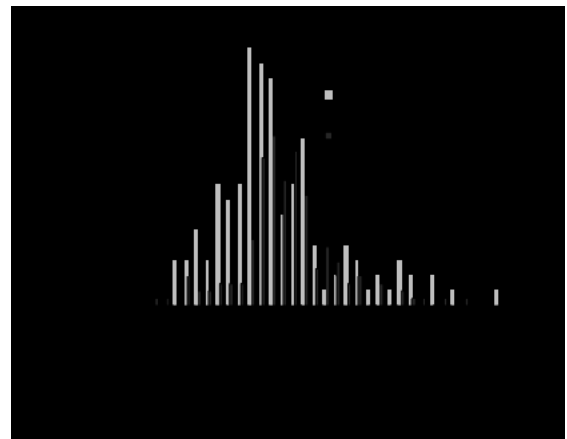
3 結果と考察

吸引装置で本年度駆除した産卵床は13個、目視された浮上稚魚群が14群であったことから産卵床の駆除率は48.1%となった。駆除した産卵床数と目視された浮上稚魚群数の合計数は、前年比の31.8%に減少した。その要因として、今年度の内の倉ダム湖では、産卵に適した15-20℃の水温期間が短かったことが推測された。

電気ショッカーボート駆除調査による今年度の採捕尾数は、コクチバス353尾、オオクチバス28尾、ブルーギル219尾であり、採捕数はコクチバスで前年比24.1%、オオクチバスで32.2%に減少した。それに対して、ブルーギルは225.8%に増加した。また、平成19年度以降初めて在来魚であるウグイの稚魚が18尾採捕された。ブルーギルの増加やウグイの稚魚が採捕されたことは、コクチバスが減少したことによる可能性があると考えられた。従って、今後も調査を継続し、外来魚と在来魚の生息尾数の推移を把握する必要があると考えられた。

刺網駆除調査で採捕された外来魚は、コクチバス220尾、オオクチバス1尾およびブルーギル15尾であった。コクチバスのCPUEは3.06であり、今年度の体長76mm以上のコクチバスの生息数は前年比81.1%の3,338尾と推定された。採捕されたコクチバスのCPUEを体長別に昨年度と比較してみると、体長120mm以上170mm未満のCPUE値が前年度の1/2以下の値となる傾向が認められた(図1)。耳石の輪紋数と体長の関係から推定された満年齢時の体長から(表1)、昨年度より減少したのは1、2歳魚であると推定された。

以上のことから、吸引装置と電気ショッカーボートによる駆除によって新規に加入してくるコクチバスを大量に捕獲することが可能であり、これらの駆除が行われている1、2歳魚の生息数が減少していることから、新規加入抑制効果がある可能性が考えられた。



水田を利用したドジョウ種苗生産

養殖課 研究員 中嶋 一恵

1 目的

ドジョウ養殖用種苗の確保の一手法として、ホルモン剤により産卵を誘発して水槽内で産卵させ、ふ化仔魚をワムシを初期餌料として養成する方法がある。しかし、この方法は、薬剤の入手やワムシ培養に施設、労力、費用がかかり、普及性が低いという課題がある。

そこで、本研究では、かつて湿田でドジョウが大量に漁獲されていたことから、水田を利用したより簡便で普及性の高い種苗生産技術の確立を目的として実施した。

2 方法

○使用した水田:長岡市両高地内の20aの有機農業の水田3面

○産卵用親魚:長岡市内で漁獲した、産卵に寄与すると思われるサイズの天然親魚(体長5.5~14.8cm 各水田雌50個体 雄40個体)を無給餌で、水田内で産卵させることを目的として放養

○稚魚の採捕方法:放養後約1週間後から水田の中干までの間、定期的に捕獲器でドジョウ稚魚を採捕(各水田とも中干の時期が異なり、それに伴い採捕期間も異なった。)。採捕時に計数および体長を測定した。また、採捕時の水田の環境を把握するため、水質を測定し、動物プランクトン構成も調査。一部の稚魚の耳石による日齢査定を実施。

○その他:比較対象のために、同様の親魚を用いた従来の種苗生産方法でドジョウ稚魚生産を実施

3 結果と考察

各水田における稚魚の採捕個体数は、採捕期間(親魚放養から稚魚採捕終了までの期間)が長いほど多く、採捕期間40日程度で、人為的な採卵で本年度得られたふ化稚魚の数を上回った。また水田で得られた稚魚の平均体長は、人工ふ化稚魚の2倍以上であった。耳石による日齢査定では、水田から採捕された稚魚は、親魚放流後に生まれた個体であることが明らかになった。水田3面の水質環境には大きな違いは見られなかったが、3面共に、溶存酸素の値が1%を下回るなど、著しく低いことがあった。

これらのことから、次のことが言える。

- ①水田を利用することにより、十分な採捕期間さえ得られれば人為的な手法に匹敵する数、かつ人為的なものよりも成長の良い個体が得られ、効率的に種苗が生産できる可能性が示唆された。
- ②従来の方法と比較すると、採卵や初期餌料の手間がかからないメリットがある一方、粗放的な手法であるため、体長のばらつきが大きく、その年の天候や水田の性質などによって生産量が左右される可能性がある。
- ③今回利用した水田は有機農業の水田であり、よりこの手法を一般的なものにするためには、農薬や化学肥料を使用する慣行栽培の水田での試験が必要であると思われる。

表1 各区の生産個体数・平均体長・生産期間の比較

| | 田1 | 田2 | 田3 | 人工採卵 |
|---------------|--------------|--------------|---------------|--------------|
| 採捕個体数* | 469 | 1,705 | 9 | 1,196 |
| 採捕期間** | 29日間 | 37日間 | 25日間 | 29日間 |
| 平均体長 (cm) *** | 5.6(1.8-7.8) | 3.9(1.5-7.8) | 3.19(2.2-6.1) | 1.6(1.1-2.0) |

*人工採卵群のみ取り上げ個体数 **人工採卵群のみ飼育期間 ***カッコ内は範囲

「魚沼美雪ます」の肉質改善(赤色の改善)

魚沼支場 専門研究員 井熊 孝男

1 目的

「魚沼美雪ます」は地域ブランドとして認知度も上がりつつあり、生産量も僅かずつ増加している。しかし、品質面ではバラツキがあり、改善の余地がまだまだある。なかでも肉色は、出荷基準を設けて特に重視している項目である。

昨年マダイ色揚げ飼料(アスタキサンチンが主な成分)を用いた色揚げ試験を行ったところ、効果に期待が持てる結果が得られた。本年度はアスタキサンチンの肉色の改善効果を試験した。また、現在主に使われている合成色素剤(アスタキサンチン、カンタキサンチン)は天然色素ではないことから、一部の販売先から使用を禁止されるとの情報があることから、天然色素へ移行するための予備試験も行った。

注:「魚沼美雪ます」は県にじます組合の登録商標のため、種苗等については略称の「ミュキマス」とする

2 方法

試験には、天然色素として「ファフィア酵母」(KI 化学製)を用い、比較用としてマス用色揚げ飼料(合成アスタキサンチン+合成カンタキサンチン使用)及びマダイ用飼料(合成アスタキサンチン使用)を用いた。ファフィア酵母飼料は酵母粉末をサラダ油に懸濁し、市販の EP 飼料に添着させて給餌した。給餌は1日1回、飽食量を給餌した。なお、給餌は月曜日から金曜日の平日のみ行った。魚体重及び、サーモファンと色彩色差計を用いた可食部の色彩測定は、試験終了時にすべての魚で行った。

3 結果と考察

試験期間は195日(約6ヶ月)で、給餌量は各区共13kgであった。

マス用色揚げ区及びマダイ用飼料区では1.5kg以上に成長したのに対し、ファフィア酵母区の魚体重は平均1.4kgと成長が若干劣ったが、飼料の違いによる明瞭な成長差は認められなかった。

可食部の赤色については、サーモファンの測定値がファフィア酵母区で26.8で、出荷基準の27をやや下回った。その他の飼料区では27を上回っており、概ね出荷基準以上に色揚げできていた。

色差計によるa*値では、マス用色揚げ飼料区が3.4、ファフィア酵母区とマダイ用飼料区は1.7、2.1であった。赤色の指標として、各飼料区間で著しい差はみられなかった。また、可食部の白さの指標であるL*値は、3種類のいずれの飼料区も28~29で、マス類の肉色では通常の色合いの数値であった。これらのことから、餌の種類や色素の違いは、肉の基本色には著しい差異を生じさせないと考えられた。

また、体表の色彩を観察した結果、可食部のa*値が低いファフィア酵母区とマダイ用飼料区では、体表側線部や、胸鰭、腹鰭等が赤くなっている個体が認められた。しかし、マス用色揚げ飼料区では、顕著な色彩の変化は観察されなかった。ミュキマスでは、色揚げの状態が良くなると、通常体表が黄色化して「金色」に見えてくる。この様な体表などの色彩の変化が可食部の色揚げ指標にできないかと考えた。アスタキサンチンの多い飼料を与えた個体は可食部だけでなく、体表も赤色を呈する傾向がみられたことから、体表などの色彩による可食部の色揚げ効果の判定は難しいと考えられた。しかし、色揚げを行った個体の体表の色彩は、他のマス類とは異なっていたことから、色揚げによる差別化も検討の対象になると考えられる。また、ファフィア酵母での肉色改善については、効果があることを確認できたが、養殖現場での利用については、今後より詳細なデータを得ないと、適正な利用はできないと考えられる。

黄色系斑紋のニシキゴイ新品種について

養殖課 主任研究員 佐藤 将

1 目的

ニシキゴイには紅白・大正三色・昭和三色(いわゆる御三家)を始め、80種類以上にもなる多種多様な色・模様品の品種がある。新潟県のニシキゴイ生産者は、規模は小さくても各々が特長を持っており、県全体としてバラエティに富んだ生産が行われ、愛好家のニーズに答えている。また、近年は海外への輸出が増え、欧米などでは従来の価値観にとらわれないことから、日本での需要の中心である御三家以外へのニーズも高くなっている。多彩な品種というのは新たな需要の掘り起しにもつながることから、本研究は従来にない色彩の新品種(以下、新品種)の開発を目的とした。

2 方法

新品種の開発は、当场で保有している親魚群を用い、平成9年から開始した。生産方法は、基本的に従来の品種と同様に行った。ただし、色彩の選別については従来の観点にとらわれず、既存品種と異なる色彩・模様を選び、商品レベルに達していない魚についても育種素材として飼育・保有した。

開発された新品種は、平成22年10月31日開催の新潟県錦鯉品評会で展示し、来場者へのアンケート調査により評価を行った。

また、平成23年の生産群の一部については、新穴あき病の耐過魚(新穴あき病原菌を用いた感染試験での生残魚)を用いた交配を行い、新穴あき病への耐病性の付与を試みた。耐病性付与群は、新穴あき病原菌による感染試験を行い、生残状況から耐病性の評価を行った。

3 結果と考察

平成9年に行われた交配により、「白地に黄色斑紋」の個体が得られた。これを育種素材として親魚に養成し、交配を繰り返し改良を重ねたところ、平成15年頃には商品として販売できる程度まで優良化を図ることができた。また、当時、同様の新品種が見られるようになったため、さらに交配・改良を行い、「白地に黄色、黒色斑紋」「黒地に黄色、白色斑紋」模様のコイができ、御三家の赤色が黄色に置き換わった3種類の新品種が作出された。

県品評会でのアンケート調査の結果、来場者84名から回答が得られ、うち7割程度が好意的な感想であった(図1)。ただし、会場ではアンケートを断られるケースも多々あり、否定的な意見がアンケート調査に十分反映していないことも考えられる。また、新潟県のニシキゴイに求めることを聞いたところ、「高品質」「多彩な品種」との回答が多数を占め、ほか「水槽でも飼育できる小型コイ」への要望もあった。

感染試験の結果、耐病性付与群のへい死状況は、対照群(耐過魚を用いて生産していない新品種)に比べ緩やかであった(図2)。生存時間解析を行ったところ、有意に差(一般化ウィルコクソン検定 $P < 0.05$)があり、耐病性の付与が示唆された。

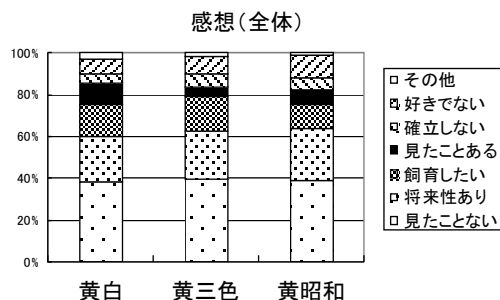


図1 アンケート調査結果

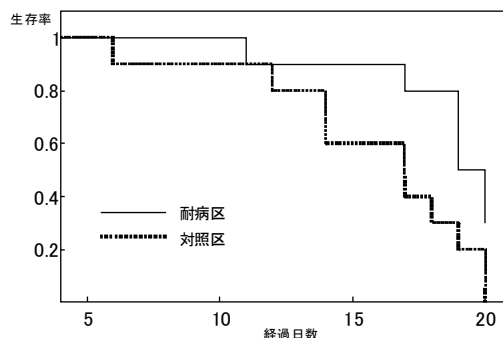


図2 新穴あき病感染試験のへい死状況

ニシキゴイ交雑魚の耐病性と成長について

養殖課 主任研究員 佐藤 将

1 目的

水産用医薬品が効きにくい新穴あき病は生産性の低下を招くばかりか、需要減少の一因ともなっている。生産者段階では防疫・投薬等で、ある程度対応できているが、末端の消費者では十分な対策ができないことから、病気に強いコイの生産流通が望まれる。これまでの研究により、中国産のコイ品種・荷包紅鯉(かほうこうり)とニシキゴイとの交雑魚は、新穴あき病に耐病性を示すことが明らかになっている。一方、ニシキゴイとしての重要な形質である色彩や体型についての調査はこれまで行われてきたが、成長に関する調査については少なかった。本研究では、環境要因を排除するため仔魚期から混合飼育を行い、交雑魚の成長および耐病性について検討を行った。また、H21年作出の2歳魚についても混合飼育による成長比較を行った。

2 方法

①仔魚期からの混合飼育試験 通常の紅白♀に中国コイ、耐過交雑魚(紅白)、ヒレナガ交雑魚(銀鱗紅白)、紅白♂を交配し4群を作出した。各群のふ化仔魚を750尾ずつ、同一屋外池(30m²)で6~10月まで飼育し、途中(1次選別相当期:8月)、無作為に300尾まで減じた。屋内水槽収容後の12月に、体測定(体長・体重)を行い、同時に腹腔内へピットタグを挿入した。タグを挿入した100尾について、新穴あき病の原因菌である非定型 *Aeromonas salmonicida* の感染試験を行い、へい死状況を観察した。供試魚の由来を特定するため、5マーカー座を用いたマイクロサテライト DNA 分析を行い、親子判定を行った。

②2歳魚の混合飼育試験 平成21年に作出した中国コイとの交雑魚2群とドイツ紅白1群の各10尾ずつを同一屋外池(37m²)で6~11月まで飼育し、飼育開始前および終了後に体測定(体長・体重)を行った。

3 結果と考察

① 8月時点での生残率は67.6%で、各群を単独飼育した場合(78.3~92.0%)に比べ、低い値であった。12月に行った体測定の結果、体長 108.7 ± 27.1 mm (70.6~189.6mm)、体重 39.7 ± 11.2 g (24.7~72.1g)とバラツキが大きかった。感染試験について70日後まで観察したところ、供試した100尾中38尾がへい死した。マイクロサテライト DNA 分析による親子判定は、現段階では100尾中68尾まで解析を行ったが、親魚ペアが特定できたものは34尾で、その約半数(16尾)が中国コイ♂由来であった。特定が進まない原因として、中国コイ以外の親魚の DNA 型がほぼ同じ(特にヒレナガ交雑魚と紅白♂)であったためであり、マーカー座を増やすなどの対策が必要である。

② 試験開始時は各群間の体サイズ(体長)に有意差はなかった。しかし、試験終了後は対照区であるドイツ紅白に比べ、交雑魚の2群は有意に大きく(P<0.01~0.05)があり、通常のニシキゴイに比べ交雑魚の成長がよいことが示唆された。

高水温処理を利用した新穴あき病の防除に関する研究

病理環境課 主任研究員 的山 央人

1 目的

1996(H8)年頃から、従来の水産用医薬品が効かないタイプの穴あき病が発生しており、「新穴あき病」と呼称されている。本病は非定型*Aeromonas salmonicida*によって引き起こされる疾病であり、特徴的な外観症状と患部からの菌の検出によって確定診断が可能である。しかし、患部を形成していない魚の保菌状況を調べる方法はなく、そのことが生産現場における魚の導入時、品評会等出品時および愛好者レベルでの本病の蔓延防止の足かせとなってきた。一方、保菌の疑いのある魚の薬浴処理を行うための有効な消毒薬は見つかっておらず、環境への影響からも推奨できない状況にある。

そこで、本研究では新穴あき病への感染が不明なコイを対象に、非定型*A. salmonicida*が増殖できない水温帯で数日間処理を行うことにより、本病の発生を防除可能かどうか検討を行った。

2 方法

【培養温度別の菌増殖についての検討】 本県で発生したニシキゴイの新穴あき病より分離された2つの菌株(T1031株,B10731株)について20°Cで培養後、菌を回収して0.001mg/mLとなるように調製し、単位菌液とした。単位菌液を5%羊脱繊維血液を添加したTSAに10 μ Lずつ2回プロットし、同様のプレートをそれぞれ5枚ずつ作製した。このプレートを15,20,25,32,34°Cに設定したインキュベーターで培養し、2日後あるいは3日後にコロニー数を計測した。

【34°C保温日数別の菌増殖についての検討】 B10731株について、0.002mg/mLの単位菌液を作製し、5%羊血液添加TSAに10 μ Lずつ6回プロットし、同様のプレートをそれぞれ6枚ずつ作製した。これらのプレートを34°Cに設定したインキュベーター中に収容し、0~5日間保温後、20°Cのインキュベーターに移し替え、2日間培養後にコロニー数を計測した。

【水温別の感染試験による検討】 水温23,27,30,32,34°Cに設定した水槽内にビニール袋を浮かべ、ニシキゴイ当才魚5尾ずつを菌重量で20mg/2Lになるように調製した菌液中で1hr浸漬攻撃し、攻撃終了後、同水槽内で非攻撃魚5尾とともに収容し観察を行った。

【感染後経過日数と処理日数が防除効果に与える影響の検討】 20°Cに設定した水槽内にビニール袋を浮かべ、20mg/2Lに調製した菌液中で浸漬攻撃(1hr)したニシキゴイ当才魚10尾を攻撃直後および攻撃1日後に、それぞれ1°C/hrで2日間かけ34°Cまで昇温し、1,3,5日間処理後、20°Cに戻し、経過を観察した。

3 結果と考察

【培養温度別の菌増殖についての検討】 T1031株、B10731株はいずれも15~32°Cの範囲内では増殖が確認されたが、34°Cでは増殖が確認されなかった。

【34°C保温日数別の菌増殖についての検討】 34°Cでの保温日数が長いほど、20°Cに移した後のコロニーの増殖数が減少し、培養日数4日間で単位菌液中に菌の増殖は確認されなくなった。

【水温別の感染試験による検討】 23~32°Cの範囲内では感染が成立した。34°Cでは発症は確認されなかった。同居した魚については、27,30,32°Cの範囲内では感染・発症が確認されたが23°Cおよび34°Cでは発症は確認されなかった。

【感染後経過時間と処理時間が防除効果に与える影響の検討】 34°Cで5日間処理を行った2つの区ではいずれも処理期間中に大量斃死が起こった。一方、攻撃直後に1日処理した区および攻撃1日後に3日間処理した区では処理中の大量斃死は起こらなかったが、その後、新穴あき病による斃死が起こった。攻撃直後に3日間処理を行った区については、処理中の大量斃死も穴あき病による斃死も起こらなかった。

KHV病感染耐過魚からのウイルス検出の試み- II

病理環境課 研究員 小林 健一郎

1 目的

現在、KHV感染耐過魚からは現行のPCRではKHV検出が難しく、そのことが新たなコイの導入の障害となっており、生産者からはより感度の高いウイルス検出技術の開発が切望されている。

昨年度、従来の方法より高感度にウイルスを検出する技術(以下ウイルス濃縮Q-PCRとする)を用いたところ、KHV感染耐過魚からウイルス濃縮Q-PCRはPCRに比べより高感度に検出可能であることが明らかになった。また、KHV感染耐過魚からウイルスを検出するのに適切な同居期間について調べたところ、少なくとも2週間以上の期間が必要であると考えられた。そこで、これらの知見について再検証するとともに、検出感度をより向上させるのに有用なストレスについて検討した。

2 方法

試験1:ウイルス濃縮Q-PCRの有効性の検証

ニシキゴイにKHV液を $10^{3.3}$ TCID₅₀/fishで接種し、接種後23℃にて飼育し発病させた。1尾以上が死亡し、LAMP法により10尾中9尾が陽性になったのを確認した時点で、昇温処理を行い感染耐過魚を作出した。攻撃後の経過日数ごとに、ウイルス濃縮Q-PCRおよびPCRを行い検出率を比較した。

試験2:ストレス負荷の有効性の検証

試験1で作出した感染耐過魚について、攻撃83日目にPCR陰性の個体を選別した。選別した個体に対し、袋詰めし温度ショックと振とうを組み合わせたストレスまたはデキサメタゾン投与によるストレスを負荷し、負荷後の検出状況を対照区と比較することによりウイルス検出におけるストレス負荷の有効性を検証した。同時に、ストレス負荷後の血中グルコース濃度を測定し、ストレス負荷とウイルス検出との関係を調べた。

試験3:同居期間の検討

試験1で作出した同時にKHVフリー魚と48時間、1週間、2週間および3週間の同居飼育を行い、攻撃後の経過日数ごとおよび同居日数ごとのPCRによる検出率を調べた。

3 結果と考察

試験1:ウイルス濃縮Q-PCRの有効性の検証

いずれのサンプリング時においても、ウイルス濃縮Q-PCRの検出率がPCRの検出率より高いことから、ウイルス濃縮Q-PCRはPCRに比べ有効であることが再確認された。ウイルス濃縮Q-PCRでは、PCRでは検出できなくなった時期においても検出されるケースがあった。今後再現性および反応の特異性についてより詳細に検討したい。

試験2:ストレス負荷の有効性の検証

負荷後の検出率を対照区と比較したところ、ストレス負荷はウイルス検出に有効とは言えなかった。本試験において負荷したストレスは、コイに対し不十分とは考えにくく、このことは血中グルコース濃度の推移からも裏付けられる。これらのことから、ストレス負荷により検出率を向上させることは難しいものと考えられた。

試験3:同居期間の検討

昨年度の結果同様、攻撃後時間の経過とともに、同居した魚から検出できなくなった。また、KHV感染耐過魚からウイルスを検出するのに適切な同居期間は、少なくとも2週間以上必要であることが再確認された。