

ウグイ (*Leuciscus hakonensis*) およびヒゲナガカワトビケラ (*Stenopsyche griseipennis*) の IHN 伝染源としての可能性に関する実験的検討

武居 薫・小原 昌和

Experimental studies on the possibility of transmission of IHN virus by Dase (*Leuciscus hakonensis*) and insect (*Stenopsyche griseipennis*)

Kaoru TAKEI, Masakazu KOHARA

ヒトの伝染病において、ネズミ、家畜などの動物伝染源、カ、ダニ類などの節足動物伝染源があり(松田, 1965)、これらの動物の駆除対策が予防衛生の上で大切である。

しかし、魚類の伝染病においては動物伝染源や節足動物伝染源に関して検討された例がない。

そこで養鱒場の水系に多く生息するウグイ *Leuciscus hakonensis* と水生昆虫幼虫のヒゲナガカワトビケラ *Stenopsyche griseipennis* (以下トビケラという)を用いて、これらの動物が IHNV を保有し、また排出することにより伝染源になりうるかどうかを実験感染手法を用いて検討した。

なお、本研究は昭和56年から58年において水産庁委託魚病対策技術開発研究として実施したものである。

材料および方法

1. ウグイ稚魚及びトビケラの IHNV 保有について

IHNV の人為感染

ウグイは、当场でふ化飼育した平均魚体重 1.8 g の稚魚を用い、トビケラは湧水の水源地付近で採集したもの(平均体重 0.4 g)を用いた。

人為感染に用いた IHNV は、県内のニジマス病魚より分離した HV 7601 株で、RTG-2 培養細胞により調整した感染価 $10^{7.5}$ TCID₅₀/ml のウイルス液を、飼育水で $10^{3.5}$ TCID₅₀/ml に希釈して、感染用ウイルス液とした。

感染は、ウグイ及びトビケラ40尾ずつを、12°C の感染用ウイルス液に1時間浸漬して行った。感染操作後、ウグイ及びトビケラの体表を滅菌飼育水で2回洗浄して試験に供した。なお、ニジマス稚魚(平均魚体重 0.2 g)40尾も同様に処理し、対照とした。

ウグイ、トビケラからのウイルス分離

人為感染を行ったウグイ、トビケラおよびニジマスの各20個体ずつを1ℓ容の水槽で飼育し、洗浄直後、および1, 2, 3, 5, 7, 10, 28日後にそれぞれ2個体ずつ抽出し、RTG-2培養細胞を用いて常法によりウイルス分離を行った。なお、感染後で洗浄前の材料についても試験した。

ウグイとニジマスについては、内臓(肝臓、脾臓、消化管)の一部と残りの魚体全部(以下全魚体という)を、トビケラでは個体全部を分離材料とした。

飼育水は紫外線流水殺菌装置で処理した湧水を用い、各区とも67ml/分の注水量で飼育した。飼育期間中の水温は9.5～12.9℃であった。

添加法（同居処理）によるウイルスの検出

人為感染を行ったウグイ、トビケラおよびニジマスを20個体ずつ1ℓ 容水槽で飼育し、洗浄直後および1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 28日後に、ニジマス稚魚（平均魚体重0.2g）20尾を収容した1ℓ 容水槽の中で1時間同居させた。同居処理したニジマス稚魚は21日間飼育し、IHNの発病の有無を観察するとともに、死亡魚のウイルス分離を行った。

なお、各水槽とも17ml/分の注水量で飼育した。水温は9.5～13.2℃であった。

2. ウグイ成魚のIHNV保有について

(1) 冬期（ニジマス産卵期）のウグイに関する実験

11月に、IHNVに汚染されている養鱒場内の水路で採捕したウグイ成魚（平均魚体重84.7g）を用いて図1に示した方法によりウグイのIHNV保有および排出について実験した。

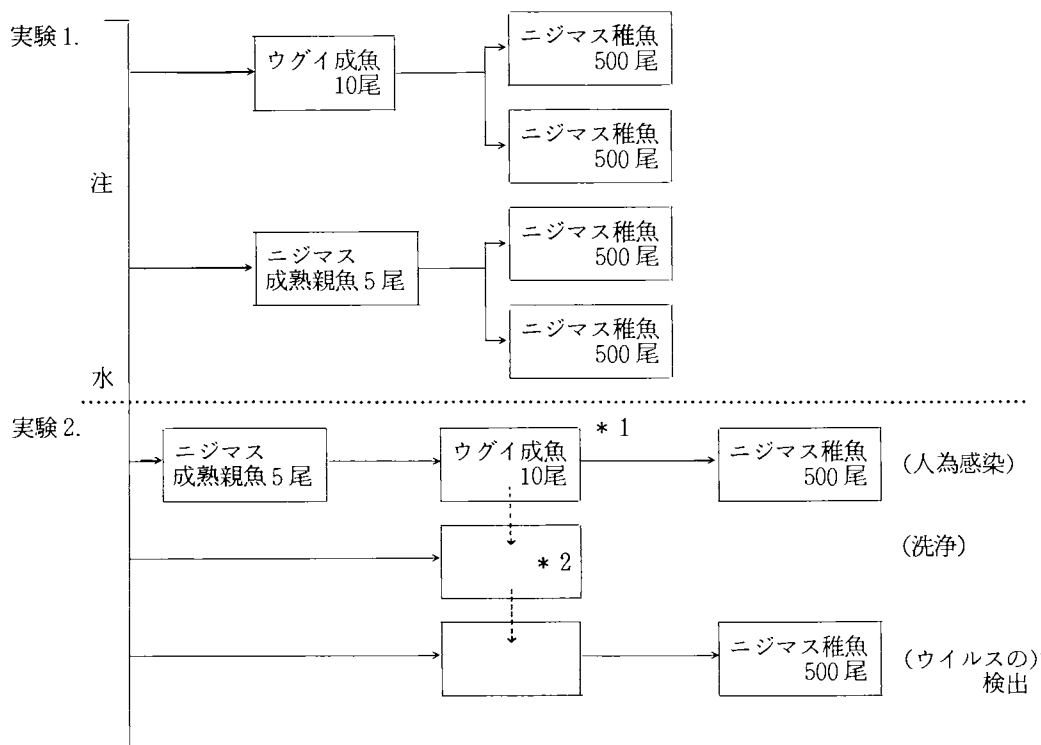


図1. 飼育水槽の配置—冬期（ニジマス産卵期）の実験

- * 1. 飼育期間10日
- * 2. 7日間飼育

実験 1

ウグイ成魚10尾を40ℓ 容水槽で飼育し、その下流でニジマス稚魚1000尾（平均体重0.14g）を21日間飼育し、ニジマス稚魚におけるIHNの発病の有無を観察し、死亡魚についてはウイルス分離を行っ

た。また、対照として成熟したニジマス（平均体重 350 g）5 尾を用いて同様の区を設けた。

実験 2

ウグイ成魚 10 尾を、ニジマス雌親魚 5 尾の下流で 10 日間飼育して、ニジマス親魚から排出された IHNV に接触させた（人為感染）。その後ウグイを別の水槽に移し、新しい飼育水で 7 日間飼育した（洗浄）。次にニジマス稚魚 500 尾（実験 1 に同じ）をウグイの下流で 21 日間飼育し、ニジマス稚魚における IHN 発病の観察と死亡魚のウイルス分離を行った（ウイルスの検出）。

なお、人為感染期間中ウグイの下流にニジマス稚魚 500 尾を飼育して、ニジマス親魚からの IHNV 排出を確認した。

供試したウグイ成魚およびニジマス親魚は、魚体に付着している IHNV を除くため、供試前に 7 日間の予備飼育により魚体を洗浄した。

なお、実験 1、2 の飼育は、紫外線流水殺菌で殺菌した湧水を用い、各試験区とも 7 l / 分の注水量で飼育した。試験中の水温は 9.6 ~ 11.8 °C であった。

(2) 産卵期のウグイ成熟魚に関する実験

養鱒場内の水路で 6 月採捕したウグイ成熟魚（平均魚体重 126.6 g）を用いて、図 2 に示した方法により、ウグイ成熟魚の IHNV 保有および排出に関して実験した。

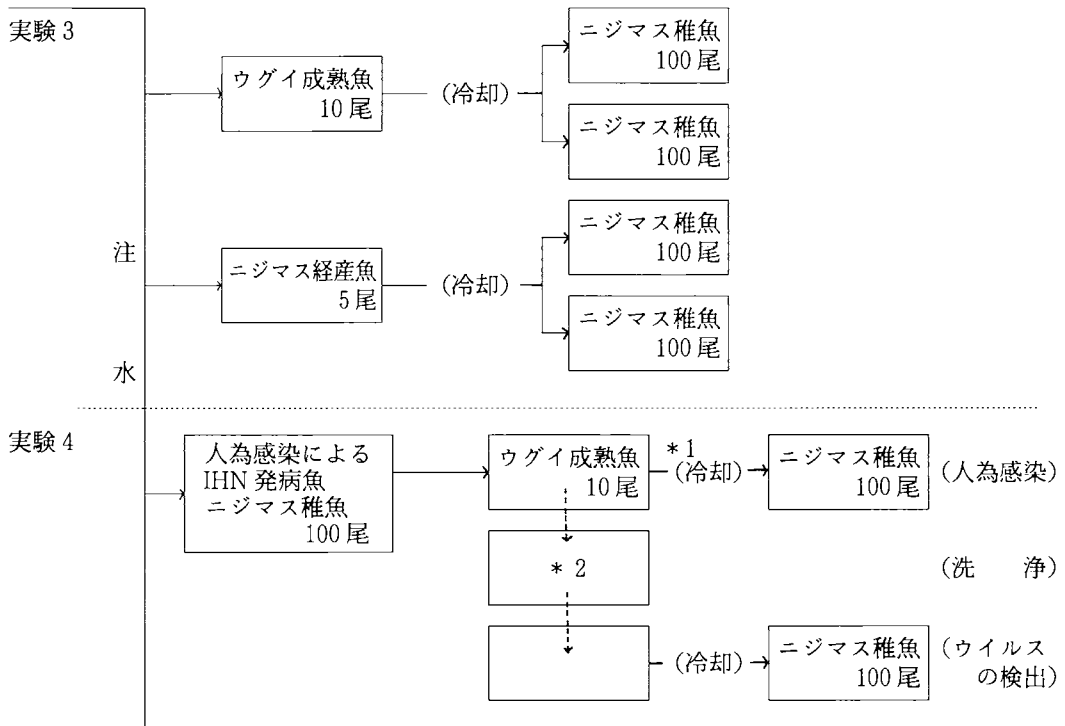


図 2. 飼育水槽の配置—ウグイ産卵期の実験

*1 飼育期日 10 日

*2 7 日間飼育

実験 3

ウグイ成熟魚 10 尾を 40 l 容水槽で飼育し、その下流でニジマス稚魚 200 尾（平均魚体重 0.13 g）を 21 日間飼育し、ニジマス稚魚における IHN 発病の観察と死亡魚のウイルス分離を行った。また対照として、ニジマス経産魚 5 尾（平均体重 340 g）を用いて同様の区を設定した。

実験 4

浸漬法により IHNV に人為感染させたニジマス稚魚 100 尾を 10 ℓ 容水槽で飼育し、IHNV のよる死亡魚が観察された日から、ウグイ成熟魚 10 尾をこの下流で 10 日間飼育した（人為感染）。その後ウグイを別の水槽に移し、新しい飼育水で、7 日間飼育した（洗浄）。次にニジマス稚魚 100 尾をウグイの下流で 21 日間飼育し、IHNV 発病の観察と死亡魚のウイルス分離を行った（ウイルスの検出）。

また、ウグイの人為感染期間中に、ウグイの下流にニジマス稚魚 100 尾を飼育し、発病魚からの IHNV の排出を確認した。

なお、実験 3. 4 の飼育水は、活性炭で脱塩素処理した水道水を用い、ウグイおよびニジマス経産魚は 19.2 ~ 22.2 ℓ / 分で、ニジマス稚魚は 5.1 ~ 6.6 ℓ / 分の注水量で飼育し、試験中の水温は 15.5 ~ 17.0 ℓ であった。ニジマス稚魚への注水は、水温の上昇のより IHNV の発病が妨げられるのをふせぐために冷却して、水温を 11.8 ~ 15.4 ℃ に保った。

結 果

1. ウグイ稚魚及びトビケラの IHNV 保有について

人為感染させたウグイ稚魚、トビケラおよびニジマス稚魚のウイルス分離結果を表 1 に示した。

表 1. IHNV に人為感染させたウグイ稚魚、ヒゲナガカワトビケラ
およびニジマス稚魚からのウイルス分離

人為感染後日数	ウグイ		ヒゲナガカワトビケラ		ニジマス	
	全魚体	内臓 * 1	全	体	全魚体	内臓 * 1
人為感染前	—	—	—	—	—	—
人為感染後						
洗浄前	+	NT * 3	—	—	+	NT
洗浄後	+	—	—	—	+	—
1 日	+	—	—	—	+	—
2	—	—	—	—	+	+
3	—	—	—	—	+	+
5	—	—	—	—	+	+
7	—	—	—	—	+ * 2	+ * 2
10	—	—	—	—	NT	NT
28	—	—	—	—	NT	NT

* 1. 肝臓、脾臓、消化管の一部

* 2. 死亡魚からの分離

* 3. 検査せず

ウグイ稚魚では、全魚体の材料で人為感染後から 1 日後まで IHNV が分離されたが、それ以後は分離されず、内臓部分では全期間を通じて分離されなかった。トビケラからは、全期間とも分離されなかった。ニジマス稚魚では、全魚体を用いた材料で人為感染後から、内臓では 2 日後より IHNV が分離された。

人為感染させたウグイ稚魚、トビケラおよびニジマス稚魚の飼育中における死亡状況と、同居処理したニジマス稚魚における IHNV の発病の有無を表 2 に示した。

表2. IHNVに人為感染させたウグイ稚魚、ヒゲナガカワトビケラおよびニジマス稚魚の死亡数と同居処理したニジマス稚魚におけるIHNの発病

人為感染後日数	ウグイ		ヒゲナガカワトビケラ		ニジマス	
	累積死亡数(尾)	同居処理ニジマス稚魚のIHN発病	累積死亡数(尾)	同居処理ニジマス稚魚のIHN発病	累積死亡数(尾)	同居処理ニジマス稚魚のIHN発病
0 (洗浄後)	0	—	0	—	0	—
1	0	—	2	—	0	—
2	0	—	4	—	0	+
3	0	—	6	—	0	+
5	0	—	7	—	0	+
7	0	—	8	—	10	+
10	0	—	8	—	16	NT*
14	0	—	10	—	20	NT
28	0	—	12	—	20	NT

*実施せず

ウグイ稚魚では、人為感染後の死亡はなく、同居処理したニジマス稚魚にIHNの発病はみられなかった。トビケラでは、1日後より死亡する個体がみられ、28日間で12尾死亡したが、これらの個体からIHNVは分離されず、同居処理したニジマス稚魚にIHNの発病はみられなかった。これに対して人為感染したニジマス稚魚は、IHNにより7日後に10尾(50%)が死亡し、14日後には全て死亡した。同居処理したニジマス稚魚は、2日後以降の処理区でIHNが発病し、死亡魚からIHNVが分離された。

2. ウグイ成魚のIHNV保有について

(1) 冬期(ニジマス産卵期)のウグイに関する実験

実験1および2の結果を表3に示した。

表3. 冬期(ニジマス産卵期)のウグイ成魚、ニジマス親魚およびIHNVに接触させたウグイの下流で飼育したニジマス稚魚におけるIHNの発病

実験No	上流に添加した魚種	ニジマス稚魚の死亡率とIHNの発病	
		死亡率(%)	IHNの発病
1	ウグイ成魚	0, 0	—
	ニジマス成熟親魚	99.6, 91.0	+
2	ニジマス親魚の下流で飼育したウグイ成魚	0	—

実験1

ニジマス親魚の下流で飼育したニジマス稚魚は、21日間の累積死亡率が99.6および91.0%に達し、死亡魚からIHNVが分離された。これに対して、ウグイ成魚の下流に置かれたニジマス稚魚ではIHNの発病はなく死亡もなかった。

実験2

ウグイの人為感染期間中に、最下流に置かれたニジマス稚魚ではIHNによる死亡率が45%に達し、

ウグイはニジマス親魚の排出する IHNV に接触していたことが確かめられたが、洗浄後のウグイ成魚の下流で飼育したニジマス稚魚では、IHNV の発病はなく死亡もなかった。

(2) 産卵期のウグイ成熟魚に関する実験

実験 3 および 4 の結果を表 4 に示した。

表 4. 産卵期のウグイ成熟魚、ニジマス経産魚および IHNV に接触させたウグイの下流で飼育したニジマス稚魚における IHNV の発病

実験 No.	上流に添加した魚種	ニジマス稚魚の死亡率と IHNV の発病	
		死亡率(%)	IHNV の発病
3	ウグイ成熟魚	36,0 , 37,0	—
	ニジマス経産魚	16,0 , 8,0	—
4	IHNV 発病の下流で飼育したウグイ成熟魚	6,0	—

実験 3

ウグイ成熟魚の下流およびニジマス経産魚の下流で飼育したニジマス稚魚に死亡があったが、それぞれキロドネラおよびトリコディナ症、白点病によるものであり、IHNV の発病はなく死亡魚からも IHNV は分離されなかった。

実験 4

ウグイの人為感染期間中に、最下流に置かれたニジマス稚魚では IHNV による死亡率が 30 % に達し、ウグイはニジマス発病魚の排出した IHNV に接触していたことが確かめられたが、洗浄後のウグイ成熟魚の下流で飼育したニジマス稚魚では、トリコディナおよびギロダクチルス症による死亡があったものの、IHNV の発病はなく、死亡魚から IHNV も分離されなかった。

考 察

本研究では、養鱒場の水系に生息する野生魚や水生昆虫が、ニジマスに対して IHNV の伝染源としての役割を持つかということについて、ウグイおよびトビケラを用いて実験的に検討した。

ウグイ稚魚およびトビケラに対して、浸漬法による IHNV 人為感染を試みたが、IHNV の発病や IHNV の保有はみられず、また同居させたニジマス稚魚に発病がないことから IHNV を、排出することもないと考えられた。

さらにウグイの成魚および成熟魚についても、IHNV に汚染されている養鱒場内より採捕した個体および IHNV を排出しているニジマス親魚や発病魚の下流に置いて人為感染させた個体とも IHNV の保有および排出は認められなかった。

これらの結果から、ウグイおよびトビケラは IHNV に対する感受性がみられなかったこと、またかなりのウイルスに接触してもウイルスの保有や排出はないことから、ニジマス稚魚に対して IHNV の伝染源として関与することはないと考える。

伝染病が発生した場合、発病魚から多くの病原体が排出されていることがニジマスの IHNV (長野水指, 1981) で、ニジマスおよびアマゴのせっそう病 (長野水指, 1980, 森川, 1988) で知られている。また IHNV の流行を耐過した 3 年魚のニジマスでも 33% のウイルス保有があることや、産卵期のニジマス親魚の卵巣液から IHNV が高い感染価で検出されることを AMEND (1975) が報告している。このように発病魚や、耐過魚および親魚などのキャリアが伝染源として重要となることは明

らかであるが、養魚場の水系に生息する野生魚や昆虫類が伝染源として関与するかどうかについては不明である。

県内の主要なニジマス養殖生産地域である明科町および穂高町の養鱒場水系には、ウグイ、カジカ、スナヤツメなどの野生魚やトビケラ類などの水生昆虫が生息する。なかでもウグイは優占しており、ヒゲナガカワトビケラも多くみられることから、この2種をとり上げ、IHNVの伝染源になるかどうかを検討した。幸いこの2種はIHNVの伝染源として関与することはないと考えられるが、他の野生魚については検討の余地が残る。

要 約

養鱒場の水系に生息する野生のウグイおよび水生昆虫のヒゲナガカワトビケラが、ニジマス稚魚に対して、IHNVの伝染源になるかどうかについて実験的に検討した。

1. 人為感染させたウグイ稚魚およびトビケラは、IHNVを保有せず、同居させたニジマス稚魚に発病は起らなかった。
2. IHNVに汚染されている養鱒場内で採捕した冬期および産卵期のウグイ成魚、およびIHNVに接触させたウグイの下流でニジマス稚魚を飼育したが、ニジマス稚魚にIHNVの発病はなかった。
3. ウグイおよびトビケラは、IHNVに対する感受性がなく、ニジマス稚魚に対してIHNVの伝染源として関与することはないと考える。

文 献

- AMEND, D. F. (1975) : Detection and transmission of infectious haematopoietic necrosis virus in rainbow trout. Wildl. Dis. 11, 471 - 478.
- 長野水指 (1980) : セッソウ病罹病ニジマスからの *Aeromonas salmonicida* の排出量について、昭和54年度水産庁委託魚病対策技術開発研究報告書、1 - 5.
- 長野水指 (1981) : 人為感染ニジマスからのIHNV ウイルスの排出について、昭和55年度水産庁委託魚病対策技術開発研究報告書、1 - 5.
- 松田心一 (1965) : 伝染病の疫学、疫学と疫病予防、第一出版、東京、92 - 156.
- 森川 進 (1988) : セッソウ病に関する研究 - XVI, 実験感染アマゴ魚群からの飼育水中への排菌、岐阜水試研報告 No.33, 29 - 33.