

(短 報)

砂濾過海水飼育によるクルマエビのPAV防除の試み

鈴木 正昭, 塚原 淳一郎

Prevention of PAV in Kuruma Prawn *Penaeus japonicus* by Rearing with Sand-filtered Seawater

Masaaki Suzuki and Jun-ichirou Tsukahara

キーワード：クルマエビ，中間育成，PAV，PRDV，
防除

長崎県内にあるクルマエビ *Penaeus japonicus* の中間育成施設（以下本施設と称す）で，1998，1999年にクルマエビ類の急性ウイルス血症（penaeid acute viremia:PAV）¹⁾ が発生した。発病群の種苗は人工生産されたものであるが，両年とも同時に生産された群で他地区の中間育成施設へ配布されたものでは発生が無く，本施設でのみ発生がみられたことから種苗生産時の感染は否定的であり，中間育成の開始後に感染を受けたものと推察された。感染の要因としては，本施設では飼育水として生海水を使用していることから，取水海水を介してPAVの原因ウイルス（penaeid rod-shaped DNA virus:PRDV）²⁾ もしくはその媒介生物が侵入し，感染した可能性が高いものと推察された。他県では，同様な状況で井戸式の取水方式に変更後PAVの発生がみられなくなった事例が報告されており³⁾，海水が井戸内に達するまでの経過の中で何らかの要因でウイルスが除去されていることも考えられる。そこで，本施設において試験的に砂濾過層に通した海水で飼育を実施し，砂濾過海水によるPAV防除の可能性を検討した。また，本試験に関連し，取水海水中に混在する生物についてのPRDVの保有について一部の採取検体を用

いて併せて検討した。

試験は本施設の中間育成槽に隣接して試験区を設置して実施した。試験区は容量500Lの水槽を2槽設置し，砂濾過した海水を使用する区（以下，濾過海水区）および生海水を使用する区（以下，非濾過海水区）とした。試験施設の用水は，共に本施設の注水用の本管から分岐して配管し，濾過海水区には，自作した砂濾過槽で濾過された海水を用いた。砂濾過層は200L容量のパンライト水槽を容器として，内部の底部に礫の層約7cmその上部に砂の層を約20cm敷き，上部から注水して下部の排出口から濾過海水を試験水槽へ配管した。砂の粒度組成は粒径で0.1mm~0.5mmが30%，0.5~1mmが35%，1~4.47mmが30%であった。本施設の中間育成の開始に合わせ，2000年7月12日より供試したエビを両区に500尾ずつ収容して，飼育試験を開始した。供試したエビは平均体長15mmの人工種苗で，本施設の中間育成と同じ由来の群であり，試験開始時におけるPCR法によるPRDVの検査では陰性であった。両試験区とも通気条件下で換水は約11,500L/dayの流水式とし，水槽上部を外部からの甲殻類等の進入防止の為に防虫網で覆った。飼育期間は7月12日~8月20日とし，両区の死亡状況を観察するとともに，飼育中に数回30尾ずつ取り上げ，胃および尾柄部を採材後にすべてをまとめて検査材料とし，PCRによりPR

DVの検査を行った。PCRは1998年に水産庁が作成したマニュアル*に準じ、鋳型DNAを QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN) を用いて抽出し、木村ら⁴⁾により設計されたプライマーによる 2 stepPCR (nestedPCR) を行った。

取水海水中の媒介生物におけるPRDVの保有の可能性についての検討は、取水本管から別に配管した用水を濾過器で濾過して得られた生物を用いて行った。海水には微細な浮遊物が多くフィルターの目詰まりが著しいことから、フィルターの目合いを1000, 500, 100 μ mの3段階とし、濾過可能な24および20時間濾過して採取した。濾過面に残った種々の生物を滅菌海水で洗浄後回収し、サイズ別にまとめた検査材料としてPCRによるPRDVの検出を試みた。調査は7月19, 25日および8月1, 10日の計4回実施した。

非濾過海水区では8月10日に大量死が発生し、PCRによる検査の結果、1 step, 2 stepともにPRDV陽性でありPAVと診断し飼育を中止した。本施設の間育成水槽でも8月2日にPAVによる大量死がみられ、取り上げ処分された。一方、濾過海水区は飼育期間中の検査でPRDVは検出されず、飼育終了時の8月20日まで大量死は起こらなかった。平均体長は放流サイズの41mmに達し、生残率は55%であった。PCRによる検査状況をTable 1に示したが、生残したエビについてもPRDVは検出されず、濾過海水区での感染・発病は認められなかった。媒介生物の採取とPRDVの保有状況の検査では、海水を濾過した総濾過水量9,000Lの中で各段階の濾過面上に甲殻類の幼生、貝類の幼生、珪藻類等の小型生物が採集されたが、Table 2に示すとおりPCRではPRDVは検出されなかった。

今回の試験では感染要因の把握までには至らなかったが、砂濾過をしていない中間育成水槽および非濾

Table 1. Occurrence of mass mortality and detection of PRDV in kuruma prawn

Date	Filtered* ¹		Unfiltered* ²		Culture* ³	
	Mass mortality	PRDV* ⁴	Mass mortality	PRDV	Mass mortality	PRDV
Jul.12	-	-	-	-	-	-
Jul.31	-	-	-	-	-	NT
Aug.2	-	-	-	-	+	+
Aug.11	-	-	+	+		
Aug.20	-	-				

*1 A group rearing with sand-filtered seawater
 *2 A group rearing with unfiltered seawater
 *3 Intermediate culture tank
 *4 Detection of PRDV by PCR(+,positive ; -,negative)

Table 2. Detection of PRDV from the organisms in the sea water

Date	Total filtered volume(L)	PRDV* ¹		
		1000* ²	500* ²	100* ²
Jul.19	3456	-	-	-
Jul.25	5544	-	-	-
Aug.1	5544	-	-	-
Aug.10	5544	-	-	-

*1 Detection of PRDV by PCR(+,positive ; -,negative)
 *2 Mesh size the test organisms collected(μ m)

過海水区ではほぼ同時期にPAVが発生したのに対し、砂濾過海水で飼育した区ではPAVの発生が無く、ウイルスの保有状況も陰性であったことから、砂濾過にPRDVの感染を抑止する何らかの働きがあったものと考えられた。本施設での媒介生物は今回確認されなかったが、短期間の採集であり媒介生物の存在については可能性が無いとは言えず、施設周辺の生息生物も含めて広範囲な調査が必要である。また、ウイルスそのものが海水に浮遊して取水口から進入していたことも考えられ、その場合には今回のPAVの抑止において砂濾過がどのように作用するのかも解明する必要がある。中間育成現場における有効なPAV防除策が見出されていない現状において、今回の結果は防除策を確立する上での手掛かりとなる意義あるものと思われ、有効性のメカニズムについて今後さらに検討していきたい。

* 「PAV の PCR 検査 (平成10年改良)」(水産庁作成)

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試験. 魚病研究 1994 ; 29 : 135-139.
- 2) Inouye K, Yamano K, Ikeda N, Kimura T, Nakano H, Momoyama K, Kobayashi J, Miyajima S. The Penaeid Rod-shaped DNA Virus (PRDV), which causes Penaeid Acute Viremia (PAV). *Fish Pathol.* 1996 ; 31 : 39 -45
- 3) 筑紫康博, 行武敦, 福澄賢二, 渡辺健二. 防疫指導調査事業クルマエビ. 平成10年度福岡県水産海洋技術センター事業報告書, 福岡県水産海洋技術センター, 福岡, 2000 ; 46-47.
- 4) 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 1996 ; 31 ; 93-98.