

# 大形のニジマスから分離された I H N ウイルスの病原性について

長谷川敦子・河西一彦

I H N (伝染性造血器壊死症) はサケ・マス類における重要な疾病のひとつで、主として稚仔魚に高い斃死率を示すが、近年では100gを越す大形魚にまで本疾病の発生が報告されている\*<sup>1</sup>。東京都においても従来より大形のニジマスに発生例がみられ、その病魚から分離されたウイルス株は従来の稚魚から分離された I H N ウイルスと血清学的に差がある可能性が示唆された\*<sup>2</sup>。そこで本報では大形魚に発病し、分離されたウイルス株 (TK8901) と従来からワクチン等の開発試験にしばしば用いられてきたウイルス株 (HV7601) について、サイズの異なるニジマスを用いた感染実験を行い、その病原性を比較した。

## 材料および方法

供試ウイルスのTK8901は東京都水産試験場奥多摩分場で1989年1月にニジマス瀕死魚(平均体重36.8g)からE P C細胞を用いて分離、1回植え継いだもので、中和試験によりI H Nウイルスと同定された。TK8901が分離された病魚は体色黒化および鰓の貧血が観察され、腎臓が一部褪色しており、肝臓の部分的な変色が顕著であった。対照ウイルスは、1976年に長野県でニジマス稚魚から分離されたHV7601を用いた。各ウイルスはE P C細胞を用いて培養し、希釈・調整を行い供試した。供試魚は当分場産ニジマスの稚魚(平均体重0.18および0.35g)および、成長を抑えて飼育した1年魚(平均体重6.8および18.2g)を用いた。各ウイルス液に止水通気で1時間浸漬後、3ℓ容のプラスチック水槽で流水飼育を行った。観察期間は15日間で、斃死魚は-20℃で凍結後、ウイルス検査を行った。

## 結果および考察

感染実験結果および累積斃死率の推移を表1、図1にそれぞれ示した。

1g以下の稚魚の斃死率はTK8901で70~100%、HV7601で50~90%を示し、両株ともに従来通りの高い病原性が認められた。しかし、両株の斃死パターンは異なっており、TK8901が感染4~6日後に急激に斃死し、短期間で斃死率が50%以上に及んだのに対し、HV7601は斃死の開始が遅く、長期化の傾向を示した。

---

\*<sup>1</sup> 第13回全国養鱒協議会(1988)。

\*<sup>2</sup> 森 真朗・池谷文夫・小松俊夫・西村定一(1987):昭和62年度日本魚病学会春季大会講演要旨。

表1 大形魚から分離 I H N ウイルスTK8901と従来の標準株  
HV7601のニジマスに対する感染実験結果

供試ウイルス	ウイルス力価 (logTCID <sub>50</sub> /ml)	平均体重 (g)	供試尾数 (尾)	累積斃死率 (%)	実験水温 (°C)
TK8901	4.3	0.18	20, 20	100, 90 (95)	10.2~13.1
		6.8	10, 10	50, 80 (65)	
	5.7	0.35	20, 20	95, 70 (83)	12.7~15.1
		18.2	10, 10	30, 30 (30)	
HV7601	3.5	0.18	20, 20	90, 60 (75)	10.2~13.1
		6.8	10, 10	0, 0 (0)	
	5.4	0.35	20, 20	60, 50 (55)	12.7~15.1
		18.2	10, 10	10, 0 (5)	
CONTROL		0.35	20, 20	0, 0 (0)	12.7~15.1
		18.2	10, 10	0, 0 (0)	

\* ( ) 内の数値は2水槽の平均斃死率

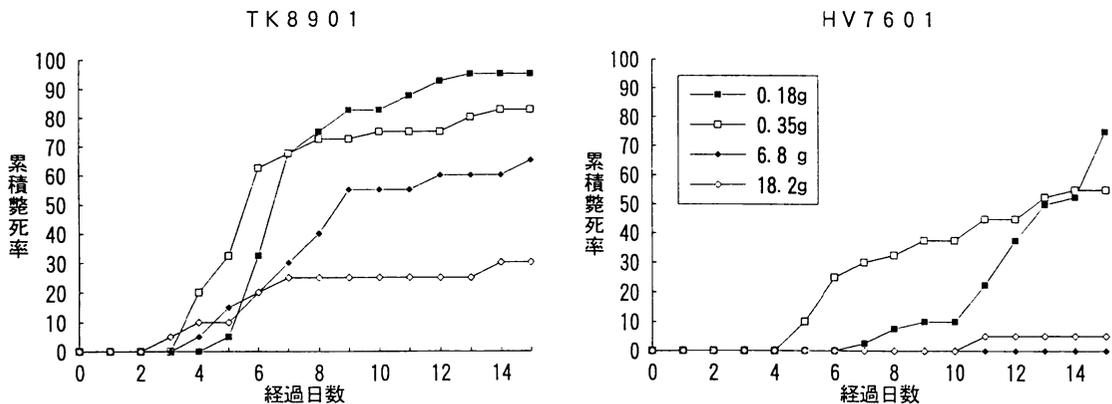


図1 累積斃死率の推移

大形魚(平均体重6.8および18.2g)については、HV7601の斃死は1尾が認められただけであった。ウイルス検査の結果、この斃死魚からIHNウイルスは再分離されたが、HV7601の大形魚に対する病原性は低いと判断された。一方、TK8901は30~80%の斃死率を示し、従来より大形のニジマスにおいても斃死率の低下は顕著でなかった。今回の試験における病魚の症状は自然発病魚ほど顕著ではなかったが、鰓の貧血、体色黒化および一部腎臓の褪色が認められた。

大形魚から分離された I H N ウイルスによる病原性の検討は、鈴木ら（1984）および鈴木ら（1989）によって報告されている。鈴木ら（1984）は山形県内の30～40 g のニジマスから分離したウイルス株を20 g サイズの魚に対して浸漬法による感染実験を行い、12～24%を斃死率を得ている。また、鈴木ら（1989）も北海道内のサイズの異なるニジマスから分離したウイルス株を大形のニジマス（47.1～64.0 g）に注射法にて感染させ、病原性の違いを指摘している。斃死率、感染方法等は異なるが、これらの報告は従来の I H N ウイルスに関する知見と異なり、近年の大形のニジマスから分離される I H N ウイルスが大形魚に対して病原性を有するという点で、今回の試験結果と一致している。

以上のことから、今回供試したウイルス株の感染力価が同一でない点で厳密な比較にはならないが、TK8901はより大形のニジマスを斃死させるウイルス株であり、従来のウイルス株（HV7601）と病原性が異なることを明らかとなった。すなわち、最近大形魚の I H N 症例が多く報告されているが、この原因としてウイルスがそのように変化したか、あるいは従来存在していた中から、稚魚期における隔離飼育により選抜された可能性が考えられる。今後はより多くの分離株について血清タイプの比較および病原性の検討を行い、耐病種を選抜していく上で適したウイルス株を再検討する必要がある。

## 文 献

- 鈴木裕之・伊藤靖志・岡本信明・佐野徳夫(1984)：昭和57年度山形県内水試事業報告, 183-186.  
鈴木邦夫・坂井勝信(1989)：北海道水産孵化場研究報告44号, 57-62.

# 交配別ニジマス稚魚のIHNに対する感受性の検討

河西一彦・長谷川敦子・米沢純爾

一般に、IHNに対する魚の感受性は成長に伴って低下すると言われているが、近年大形魚でのIHNの発病が増加しており、その原因としてウイルスの病原性が変化していることが明らかとなった。最近では水産分野でもバイオテクノロジー研究が脚光を浴び、これに伴いIHN耐病系をバイオ技術を用いて短期間に固定する試みが考えられている。大形魚に対しても強い病原性を有するウイルスが、ニジマスの成長段階においてどのような病原性を示すのか検討することはIHN耐病系を選抜していく上で重要なことである。本研究では交配別ニジマス稚魚に対してサイズの異なる2時点で感染実験を行い、感受性の変化を検討した。

## 材料および方法

供試魚は、1989年1月に奥多摩分場産ニジマス1年魚の雄5尾と雌8尾の交配により得られた18組の交配別稚魚を用いた。各交配組の母群は紫外線照射した河川水を用いて、隔離飼育施設にて飼育した。感染に供試したIHNウイルスは魚体重36.8gのニジマス病魚から分離されたTK8901で、EPC細胞を用いて培養した。

感染実験は2回実施し、第1回の感染実験は平均魚体重0.9gの時点で実施した。各交配組の母群より40尾ずつの供試魚を無作為に供試し、総魚体重を測定した後、3ℓ容プラスチック水槽に収容した。ウイルスの感染は、止水通気によりウイルス液中に1時間浸漬する方法を用いた。ウイルス感染価 $10^{5.2}$ TCID<sub>50</sub>/mlで感染後、20尾ずつ2水槽に分け、複数区で飼育した。飼育水は河川水を用い、11.2～13.2℃で14日間観察し、累積斃死率を求めた。

第2回の感染実験は平均魚体重12.2gの時点で実施した。供試魚は、母群が確保されていた交配組のうち第1回の感染実験の結果、斃死率の高かった交配組および低かった交配組それぞれ4組から20尾ずつを供試して、前述と同様の方法でウイルス感染を行い、その後10尾ずつに分けて飼育し、21日間の累積斃死率を求めた。なお、2回目の感染ウイルス力価は $10^{5.3}$ TCTD<sub>50</sub>/ml、実験中の水温は4.7～7.1℃であった。

## 結果および考察

感染実験結果を表1に示した。

平均体重0.9gで行った感染実験では、平均斃死率の範囲は40.0～97.5%と差が見られた。このうち、斃死率の高い交配組としてP4、P9、P10、P17の4組、斃死率の低い交配組としてP7、P12、P14、P16の4組、合計8交配組を2回目の攻撃試験に供試した。

表1 感染実験結果

交配組 番号	魚体重 力 価 水 温	累積斃死率 (%)	
		0.9 g $10^{5.2}$ TCID <sub>50</sub> /ml 11.2~13.2°C	12.2 g $10^{5.3}$ TCTD <sub>50</sub> /ml 4.7~7.1°C
P 1		95, 65 (80)	
P 2		100, 90 (95)	
P 3		100, 95 (98)	
P 4		100, 85 (93)	20, 20 (20)
P 5		80, 75 (78)	
P 6		80, 65 (73)	
P 7		70, 60 (65)	100, 80 (90)
P 8		80, 70 (75)	
P 9		100, 95 (98)	50, 0 (25)
P 10		100, 95 (98)	70, 70 (70)
P 11		100, 95 (98)	
P 12		75, 60 (68)	50, 20 (35)
P 13		90, 75 (83)	
P 14		65, 50 (58)	20, 10 (15)
P 15		80, 60 (70)	
P 16		45, 35 (40)	30, 0 (15)
P 17		90, 75 (83)	80, 40 (60)
P 18		75, 65 (70)	

\* 数値の下のアンダーラインは0.9 gでの斃死率の低かった交配組

2回目の感染実験の累積斃死率は15~90%で、0.9 gよりも差が大きかった。8交配組のうち1例を除き0.9 gよりも斃死率は低下したが、斃死率の低下が著しい交配組やあまり低下せず、高い斃死を示す交配組がみられ、成長に伴う斃死率の低下は様ではなかった。1回目と2回目の感染実験の水温およびウイルス力価が異なるため、厳密な比較はできないが、1回目の攻撃試験で斃死の高かった交配組のグループと低かったグループの間で、斃死率の低下に関連するような傾向はみられなかった。さらに、1例ではあるが、斃死率が上昇した交配組があったことは成長に伴う斃死状況をより詳細に検討しておく必要があることを示唆している。

このように、大形魚に対して強い病原性を有するIHNウイルス株を用いた結果、IHNに対するニジマスの感受性は、成長に伴って低下する傾向はあるものの一様ではなく、中には上昇するものさえあると考えられた。耐病系を選抜していく上では、このようなウイルス株を用いて成長に伴う感受性の変化を明らかにし、選抜のための基礎的知見を検討し直す必要がある。

なお、第1回の感染実験で斃死率の低かった交配組のうち、P 7、P 12、P 14、P 16の生残魚については、第2回目の感染実験時に使用したウイルス原液0.05mlを個別に腹腔注射したが、斃死は認められなかった。このことはIHN感染で生残したニジマスが免疫を獲得している可能性を示している。今後、これらを親魚に育て、その子孫について感染実験を行い、IHNに対する感受性を検討する予定である。

# IHN耐病系ニジマスの作出に関する研究 I

ニジマスの成長に伴う伝染性造血器壊死症（IHN）に対する感受性の変化

河西一彦・米沢純爾・小野 淳・長谷川敦子・本間智晴<sup>\*1\*2</sup>・福田穎穂<sup>\*1</sup>

本研究内容は魚病学会誌に掲載されているため、論文要旨のみを記載した。

## 要 旨

腹仔別のニジマス稚魚22組を飼育し、異なる発育段階（1，8，25g）においてIHNウイルスTK8901に対する感受性を比較した。浸漬法による感染実験の結果、斃死率は1gで67～100%（平均87.4%）と高く、8gでは33～90%（57.2%）、25gでは10～85%（57.0%）であった。魚体重増加に伴う斃死率の変化を腹仔別にみると、発育とともに急激に低下するものや、ほとんど低下しないものなど様々で、腹仔別の較差は大きかった。

魚病研究, 28(1), 35-40(1993)

---

\*1 東京水産大学水族病理学研究室

\*2 現在、新潟県栽培漁業センター

## IHN耐病系ニジマスの作出に関する研究 II

自然発病IHNで生残したニジマスの子孫におけるIHNウイルス感受性

河西一彦・小野 淳・工藤真弘・米沢純爾・長谷川敦子・福田穎穂\*<sup>1</sup>

サケ科魚類のIHN（伝染性造血器壊死症）は日本においては1971年北海道のヒメマスで初めて発生が認められ、1972年に本州でも発生して以来（木村、1975；Kimura and Awakura, 1977；Sano, 1977）、全国に蔓延し、現在ではニジマスやヤマメ、アマゴの養殖において最も被害の大きいウイルス病として知られている。IHNの被害低減のためにワクチンや耐病系品種の開発も試みられている（Amend and Nelson, 1977；McIntyer and Amend, 1978；Nishimura et al., 1985；河西ら, 1993）が、確立されていない。著者らは前報（河西ら, 1993）で耐病系品種確立のための基礎知見を得るため、ニジマスの成長に伴うIHNに対する感受性の変化を検討し、供試魚の耐病性を評価するには大形魚にも強い病原性を示す強毒ウイルスを用い、1gの稚魚のみならず、より成長した段階での斃死状況を検討する必要があることを明らかにした。

本研究では同様の方法を用い、自然発病IHNで生残したニジマスを親魚に育て、交配によって得られた稚魚についてIHNウイルスに対する感受性を検討した。

### 材料および方法

供試魚は1989年に1gサイズでIHNが自然発病し、生残したニジマス（生残率約5%）を親魚としてランダム交配を行って得た21組の交配別稚魚を用いた。各交配組の母群は後述する3回の感染実験が終了するまで紫外線照射した河川水を用い、隔離施設において飼育を行った。

供試ウイルスの作製および感染実験の方法は前報に従った。すなわち、供試ウイルスはTK8901を用い、接種ウイルス原液はMEM-2を培養液としてEPC細胞を用いて培養し、-80℃に凍結保存した。後日急速解凍し、必要量を分注して使用時まで再凍結するとともに、ウイルス感染価を測定した。

感染実験は孵化後16～18週（平均体重0.9g）、34～36週（同8.3g）、45～47週（同26.2g）の時点で合計3回実施した（以下、前報と同様それぞれ1gサイズ、8gサイズ、25gサイズと記載する）。供試魚は、各回、各交配組の母群より供試サイズに近い大きさの個体を40尾計数し、総魚体重を測定した後、1gおよび8gサイズでは3ℓ容プラスチック水槽に、25gサイズでは5ℓ容ポリバケツに収容した。感染は、各サイズの供試魚に対して約13℃の飼育水をそれぞれ1、1.5並びに2.5ℓ注水し、ウイルスの感染価が $10^{5.5}$ TCID<sub>50</sub>/mlになるようにウイルス液を添加し

---

\*<sup>1</sup>東京水産大学水族病理学研究室

た。止水通気で1時間浸漬接種し換水後、それぞれ2水槽に分け、一部河川水を導入して半循環で飼育した。実験中の水温は、各回約13℃を維持するように循環式加熱冷却装置を用いて調温し、1水槽当りの注水量は毎分300~400mlとした。循環水を通して他の水槽へウイルスが流入しないように、循環経路の途中に紫外線殺菌灯15W 4本を設置して循環水を殺菌し、ウイルスの不活化を確認するため未感染魚がそれぞれ20尾入った2水槽に循環水を導入して対照区とした。また、通常の河川水を用いた対照区も設置した。斃死状況の観察は21日間行い、3~4日ごとに1回市販の配合飼料を給餌した。斃死魚は最初に斃死した3尾を各試験区ごとに-20℃に凍結保存し、後日3尾を1検体としてウイルス検査を実施した。

#### 結果および考察

各交配組の感染実験供試時点での平均体重を表1に示した。

供試した21組の交配組のうち、3回分のデータが得られたのは19組であった。3回の感染実験で得られた供試魚の斃死数を交配組に係わりなく各回ごとに合計して算出した斃死率を表2に示した。

サイズ別の斃死率は1、8、25gサイズがそれぞれ81.0、74.7、14.5%で前年度の結果（各サイズ87.4、57.2、57.0%）と比較すると25gサイズで顕著に低く、1gサイズでもわずかに低かったが、8gサイズでは高かった。このことは供試魚の親魚の経歴が異なれば、群全体としての成長に伴う斃死状況が異なることを示唆している。

各交配組のサイズ別の斃死状況を表3に示した。

前報と同様、同一サイズ内の斃死率は交配組ごとに異なり、交配組別の2水槽間の平均斃死率の範囲は1gサイズで63~93%、8gサイズで50~97%、25gサイズは0~58%であった。成長に伴う斃死状況も交配組によって様々なパターンがみられ、ほとんどの交配組では成長とともに

表1 供試魚の平均体重

交配組	供試サイズ		
	1 g	8 g	25 g
H9101	0.85	7.9	25.0
H9103	1.00	11.8	36.6
H9104	0.99	8.0	24.4
H9105	0.95	8.3	25.6
H9106	1.02	7.9	24.1
H9107	1.00	8.1	25.2
H9108	0.89	8.1	25.3
H9109	0.93	8.5	26.0
H9110	0.94	8.8	26.7
H9112	0.90	8.4	31.9
H9113	0.93	7.9	25.3
H9115	0.83	7.8	25.2
H9116	0.80	8.1	25.2
H9117	0.91	7.7	25.7
H9118	0.92	8.2	25.1
H9120	0.89	8.1	24.6
H9121	0.91	8.0	25.2
H9123	0.91	8.2	25.2
H9127	0.84	8.0	26.2

表2 IHNウイルス感染実験によるニジマスのサイズ別斃死状況

区 分	平均体重(g)	総供試魚数	総斃死魚数	斃死率(%)
1 gサイズ	0.92	757	613	81.0
8 gサイズ	8.3	759	567	74.7
25 gサイズ	26.2	750	109	14.5

\*腹仔別感染実験の結果をサイズ別に統合して算出

表3 IHNウイルス感染実験によるニジマス腹仔別稚魚の斃死状況

交配番号	週 令 体重(g) 感染力価* <sup>2</sup> 水温(°C)	斃 死 率 ( % ) * <sup>1</sup>		
		16~18	34~36	45~47
H9101		95, 90 (93)	85, 85 (85)	0, 0 (0)
H9103		90, 80 (85)	100, 95 (97)	68, 47 (58)
H9104		85, 85 (85)	86, 80 (83)	25, 15 (20)
H9105		90, 90 (90)	64, 53 (59)	30, 15 (18)
H9106		65, 60 (63)	64, 50 (57)	5, 0 (3)
H9107		85, 65 (75)	58, 50 (54)	15, 5 (10)
H9108		70, 55 (63)	90, 85 (88)	0, 0 (0)
H9109		80, 80 (80)	100, 90 (95)	30, 25 (28)
H9110		85, 65 (75)	65, 58 (61)	10, 5 (8)
H9112		90, 80 (85)	95, 70 (83)	40, 20 (35)
H9113		100, 85 (93)	85, 85 (85)	50, 39 (36)
H9115		75, 65 (70)	86, 85 (86)	30, 5 (18)
H9116		95, 80 (88)	80, 70 (75)	6, 6 (6)
H9117		80, 70 (75)	55, 45 (50)	0, 0 (0)
H9118		100, 75 (88)	60, 50 (55)	5, 5 (5)
H9120		95, 89 (92)	70, 37 (54)	0, 0 (0)
H9121		80, 75 (78)	68, 67 (68)	10, 5 (8)
H9123		80, 65 (73)	95, 85 (90)	10, 10 (10)
H9127		95, 90 (93)	95, 95 (95)	25, 15 (20)

\*<sup>1</sup> 感染実験は反復区で実施し、( ) は平均値を示す

\*<sup>2</sup> LogTCID<sub>50</sub>/ml

IHNウイルスに対する耐病性が高まったが、8gサイズの斃死率が1gサイズのそれを10%以上上回る交配組が5組あった(H9103、H9108、H9109、H9115、H9123)。魚の成長と耐病性の増加とが必ずしも比例しない事例は、前報でも報告している。その理由は不明であるが、攻撃試験の結果を耐病性の評価に用いるには、少なくとも異なるサイズで2回以上の攻撃試験を行い、その結果から判断する必要があることが再認識された。

今回の供試魚は自然発病の生残魚を親魚としたため、耐病性の高まりが期待されたが、1および8gサイズでは顕著な耐病性を持つ交配組はみられなかった。自然発病の生残魚については確実にIHNに感染し、耐過している根拠がないため、検討は難しいと考えられる。また、ランダム交配を実施したため、遺伝的効果についても検討できなかった。今後は攻撃試験による生残魚を親魚とし、交配方法についても検討していく予定である。なお、これら交配組の3サイズの斃死率を比較し、最も斃死が低いと考えられる交配組H9106の25gにおける攻撃試験生残魚を耐病系候補として選抜した。

## 文 献

- Amend, D. F. and J. R. Nelson (1977) : Variation in the susceptibility of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* to infectious haematopoietic necrosis virus. *J. Fish Biol.*, 11, 567-573.
- 河西一彦, 米沢純爾, 小野 淳, 長谷川敦子, 本間智晴, 福田穎穂(1993) : ニジマスの成長に伴う伝染性造血器壊死症 (IHN) に対する感受性の変化, 魚病研究, 28, 35-40.
- 木村喬久(1975) : 魚類、甲殻類の病原微生物(2) ウイルス, 「海洋の生態系と微生物, 日本水産学会編, 水産学シリーズ(10), 恒星社厚生閣, 東京」, 97-111.
- Kimura, T. and T. Awakura (1977) : Current status of cultured salmonids in Hokkaido, Japan, In "Proceedings of the international symposium on diseases of cultured salmonids". Tavelek Inc., pp. 124-160.
- McIntyre, J. D. and D. F. Amend (1978) : Heritability of tolerance for infectious hematopoietic necrosis in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*), *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 107, 305-308.
- Nishimura, T., H. Sasaki, M. Ushiyama, K. Inoue, Y. Suzuki, F. Ikeya, M. Tanaka, H. Suzuki, M. Kohara, M. Arai, N. Shima and T. Sano (1985) : A trial of vaccination against rainbow trout fry with formalin killed IHN virus. *Fish Pathol.*, 20, 435-443.
- Sano T., T. Nishimura, N. Okamoto, T. Yamazaki, H. Hanada and Y. Watanabe (1977) : Studies on viral diseases of Japanese fish. IV. Infectious hematopoietic necrosis (IHN) of salmonids in the mainland of Japan. *J. Tokyo Univ. Fish.*, 63, 81-85.

## IHN耐病系ニジマスの作出に関する研究 Ⅲ

IHN攻撃試験で生残したニジマスの子孫におけるIHNウイルス感受性

河西一彦・工藤真弘・小野 淳・米沢純爾・長谷川敦子・福田穎穂\*<sup>1</sup>

前報\*<sup>2</sup>では自然発病したIHN（伝染性造血器壊死症）で生残したニジマスを親魚とし、その交配によって得られた稚魚のIHNウイルス感受性を検討した。本研究では、前報と同様の方法を用いて、1989年におけるIHN攻撃試験\*<sup>3</sup>で生残したニジマスを親魚とし、交配によって得られた稚魚について耐病性を検討し、耐病系候補の選抜を行った。

### 材料および方法

供試魚は、1989年に実施した攻撃試験で斃死率の低かった交配組P7、P12、P14、P16の生残魚を混合飼育して親魚に育て、1992年1～2月にかけて表3に示す交配によって得られた受精卵のうち、同年4月上旬に正常に孵化した16組の交配別稚魚を用いた。各交配組の母群は3回の感染実験が終了するまで紫外線照射した河川水を用い、隔離施設にて飼育を行った。

感染実験は孵化後12～14週（平均体重で1.2g）、28～30週（同8.4g）、42～44週（同26.2g）の時点で合計3回実施した。供試ウイルスおよびその作製、感染実験方法は前報に従った。

### 結果および考察

供試した16組の交配組のうち、3回分のデータが得られたのは12組であった。12組の感染実験供試時点での平均体重を表1に、交配組に係わりなく各回ごとに供試魚数、斃死数を合計して算出した斃死率を表2に示した。

サイズ別の斃死率は1、8、25gサイズがそれぞれ55.5、57.6、5.0%で、1および8gサイズで差は認められず、25gサイズで顕著な低下が認められた。また、枝分かれ交配群を用いた前々年の結果（1、8、25gサイズの斃死率がそれぞれ87.4、57.2、57.0%）および前年\*<sup>2</sup>の結果（同81.0、74.7、14.5%）と比較すると1gサイズでは明らかに斃死率が低下した。

各交配組のサイズ別の斃死状況を表3に示した。

同一サイズ内の斃死率は交配組ごとに異なり、交配組別の2水槽間の平均斃死率の範囲は1および8gサイズで15～90%、25gサイズで0～19%で、1および8gサイズで交配組による差が

---

\*<sup>1</sup>東京水産大学水族病理学研究室

\*<sup>2</sup>IHN耐病系ニジマスの作出に関する研究 Ⅱ（本報告書p.7-10）

\*<sup>3</sup>交配別ニジマス稚魚のIHNに対する感受性の検討（本報告書p.4-5）

大きかった。また、前年までと同様に、より成長した段階で斃死率が高くなる交配組がみられたが(H9209、9210、9214)、1 gサイズと8 gサイズとの斃死状況は類似しているものが多かった。中でも1および8 gサイズにおける斃死率が20%を下回る交配組が、1 gサイズで3組、8 gサイズで1組出現し、さらに1および8 gサイズの斃死率が共に40%以下と斃死の低い交配組があった(H9209、9210、9214、9216)。これら交配組の中には1 gサイズの感染実験で体色黒化や眼球突出など、明らかにIHNウイルスに感染した症状が現れた個体があったが、斃死に至らず、やがて治癒する個体もみられた。通常耐病系と考えられる系統はIHNウイルスを体内から排除するような強い免疫機構を遺伝的に獲得し、例え感染しても発病しない系統と考えられるが、発病しても治癒してしまう個体があることは、治癒力という点も含めて、耐病系とは何かを考える必要がある。

今回の交配に用いた親魚を比較すると、雄ではM2、雌ではF5を用いた交配組に斃死が低くなる傾向が認められた。これら親魚はIHN感染実験で生残した由来があり、IHNに耐病性を持つニジマスが遺伝的に選抜されたきた可能性を示唆している。今後、斃死の低かった交配組の1および8 gサイズでの生残魚を耐病系候補として親魚に育て、その子孫の耐病性を検討していく予定である。

表1 供試魚の平均体重

交配組	供試サイズ		
	1 g	8 g	25 g
H9201	1.74	8.8	29.0
H9203	1.37	8.6	26.4
H9206	1.26	8.1	25.1
H9208	1.12	8.1	27.4
H9209	1.05	8.3	24.8
H9210	1.31	8.0	26.1
H9212	1.38	8.8	26.8
H9214	1.01	8.4	24.6
H9215	1.08	7.9	27.8
H9216	0.91	8.9	25.5
H9217	1.01	9.1	25.7
H9218	0.87	7.9	25.2

表2 IHNウイルス感染実験によるニジマスのサイズ別斃死状況

区分	平均体重(g)	総供試魚数	総斃死魚数	斃死率(%)
1 gサイズ	1.2	479	266	55.5
8 gサイズ	8.4	479	276	57.6
25 gサイズ	26.2	467	21	5.0

\*腹仔別感染実験の結果をサイズ別に統合して算出

表3 IHNウイルス感染実験によるニジマス腹仔別稚魚の斃死状況

交配組	雄	雌	斃 死 率 (%) * <sup>1</sup>			
			サ イ ズ	1 g	8 g	25 g
配	親	親	週 令	12~14	28~30	42~44
			感染力価* <sup>2</sup>	5.50	5.51	5.50
組	魚	魚	水温 (°C)	12.6~14.0	12.8~13.2	12.8~13.2
H9201	M 1	F 3		95, 70 (83)	95, 80 (88)	5, 0 (3)
H9203	M 5	F 3		90, 90 (90)	90, 80 (85)	5, 0 (3)
H9206	M 4	F 2		75, 50 (63)	80, 50 (65)	10, 5 (8)
H9208	M 5	F 2		90, 68 (79)	60, 58 (59)	27, 13 (19)
H9209	M 2	F 5		40, 5 (23)	40, 25 (33)	15, 0 (8)
H9210	M 3	F 5		25, 10 (18)	60, 20 (40)	5, 0 (3)
H9212	M 3	F 6		75, 60 (68)	80, 70 (75)	5, 5 (5)
H9214	M 2	F 7		20, 10 (15)	35, 30 (33)	6, 0 (3)
H9215	M 5	F 8		85, 80 (83)	90, 90 (90)	0, 0 (0)
H9216	M 2	F 8		25, 5 (15)	20, 10 (15)	5, 0 (3)
H9217	M 5	F 9		60, 55 (58)	60, 40 (50)	5, 5 (5)
H9218	M 4	F 9		85, 65 (75)	60, 60 (60)	0, 0 (0)

\*<sup>1</sup> 感染実験は反復区で実施し、( ) は平均値を示す

\*<sup>2</sup> LogTCID<sub>50</sub>/ml

# 高温処理による IHN の被害低減に関する研究 I

## IHN 感染初期のニジマス稚魚に対する高温処理

河西一彦・小野 淳・米沢純爾・長谷川敦子

サケ科魚類の IHN（伝染性造血器壊死症）は、日本に侵入以来約22年経過した現在でも全国的に被害が多く、ニジマス養殖において最も大きな影響をおよぼす疾病である。IHN 対策に関する現在までの知見では防疫対策の徹底のほか、用水の紫外線殺菌、オゾンによる殺菌、アスコルビン酸の大量投与、高水温飼育による制御などが知られている。このうち、高水温飼育による制御については IHN による斃死率が飼育水温の上昇に伴って低下し、20℃では IHN ウイルスで攻撃しても発症しないことが Amend（1970）によって報告され、田中ら（1988）が実用レベルで詳細な検討を行っている。田中らによると、21.5℃の IHN 汚染水中で稚魚を3週間飼育すれば、通常の水温に戻した場合に、その後 IHN は発症せず、再感染もしにくいとされている。しかし、水温が21.5℃に昇温するまで供試魚は隔離飼育する必要があり、IHN にすでに感染したニジマス稚魚に対して本処理が有効かどうかは検討されていない。本研究では IHN 感染初期のニジマスに対して同処理を実施し、その効果を検討した。

### 材料および方法

**供試魚** 奥多摩分場で自然発病した IHN 感染初期のニジマス稚魚5000尾(平均体重0.4g)を高温処理に供試した。供試魚は実験開始当初、IHN の症状はなく斃死数も少なかったが、周辺の餌付水槽で IHN が発病していたため、すでに感染している可能性が高かった。そのため処理区のほかに無処理対照区として同群400尾を供試し、発病の様子を観察した。

**処理方法** 実験装置を図1に示した。5000尾の供試魚を塩化ビニール製水槽（79×34×水深60cm）5槽に1000尾ずつ収容し、循環式加熱冷却装置（アクアレックス製、ヒーター容量3KW）2ユニットおよびヒーター（TAITEC製、容量1KW）を3基を用いて昇温した。昇温開始前の水温は10.9℃で循環システム中に河川水（約19.5ℓ/min）を補給し、半循環とした。また、生物濾過槽は設置せず、ガラスウールを用いて残餌および糞を取り除いた。昇温開始2日後に21.5℃に達したため、循環水中に IHN 汚染水を導入した。汚染水の導入は前述の塩化ビニール製水槽に自然発病魚200尾を収容しその排水を用いて行った。発病群では斃死魚を2～3日毎に取り除き、新たな病魚を補給した。3週間経過後、高温処理区の汚染水導入を停止するとともに通常水温に降温し、アトキンス孵化槽に収容してその後の斃死状況を観察した。なお、無処理対照区も処理区と同様の水槽で河川水を用いて飼育した。

攻撃試験 高温処理終了35日後に40尾を供試し、IHNウイルスによる攻撃を行った。攻撃試験の対照区には非感染魚を供試した。供試ウイルスは1989年2月奥多摩分場のニジマス（平均体重37g）に発病し、EPC細胞を用いて分離されたTK8901を用いた。接種ウイルス液はEPC細胞で培養し、攻撃に供試した。感染は2ℓの飼育水の入った2.9ℓ容プラスチック製水槽に供試魚を収容し、ウイルス液1mlを添加後（感染力価 $10^{5.5}$ TCID<sub>50</sub>/ml）、止水通気で1時間浸漬しその後、2水槽に分け流水で飼育した。実験中の水温は12.6～14.9℃で、3週間斃死状況を観察した。

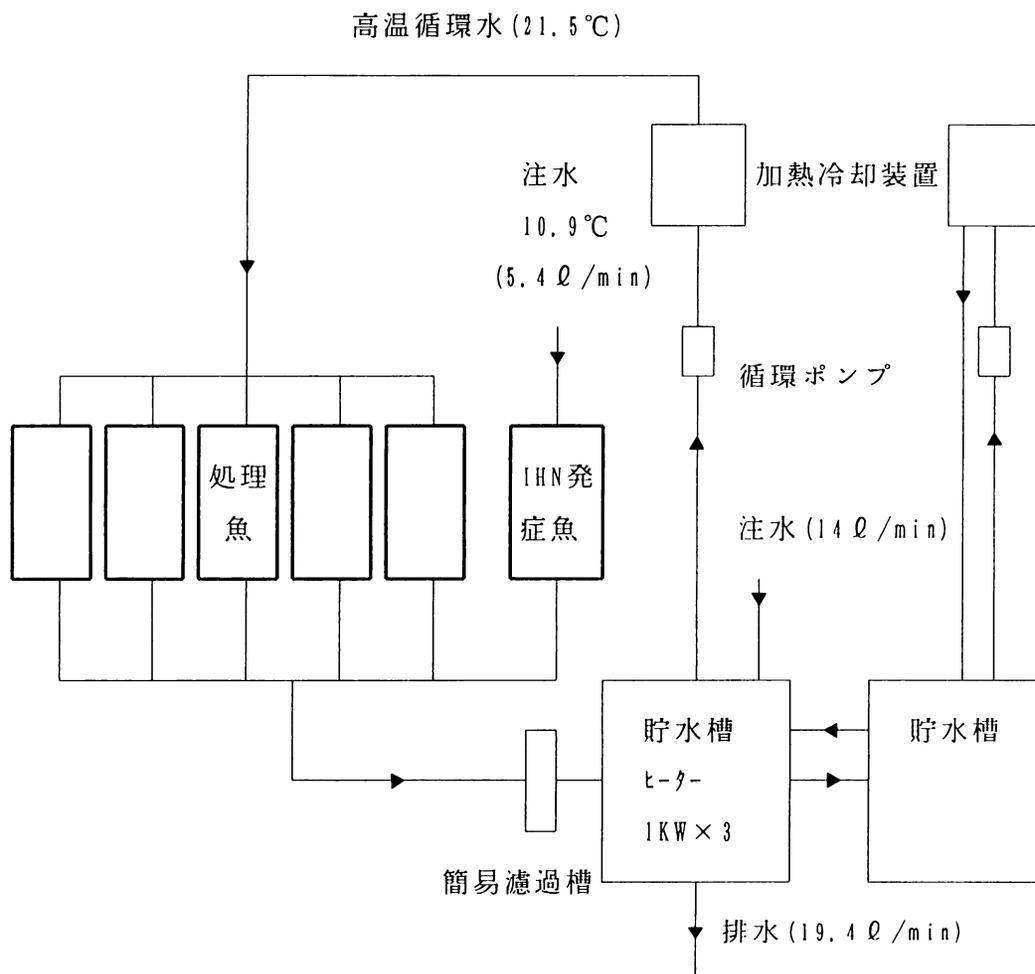


図1 実験装置

## 結 果

高温処理期間中の斃死状況を図2に示した。

供試魚は実験水槽に搬入するまでは斃死はみられなかったが、昇温を開始した翌日より斃死魚数が増加した。高温処理3、17日後の一部の斃死魚についてEPC細胞を用いた常法によるウイルス検査を実施したところ、3日目ではIHNウイルスが検出されなかったが、17日後の斃死魚からは検出された。高温処理区の斃死は緩やかで、処理終了時(23日後)の累積斃死率は23.4%であった。一方、対照区では5日目までほとんど斃死はみられなかったが、その後急速に斃死数が増加し、23日後の累積斃死率は82.0%に達した。3週間の高温処理が終了し、IHN汚染水の導入を停止した時点で処理区の供試魚の鰓に細菌集落の付着がみられ、斃死数が増加した。そこで、通常水温まで降温し、1%塩水処理1時間を繰り返した結果、まもなく斃死は治まり、32日目以降ほとんど斃死はみられなくなった。42日目までの生残率は69.2%であった。対照区ではその後もIHNによる斃死が続き、42日目までの生残率は4.8%であった。

処理終了35日後に実施した攻撃試験の結果を表1に示した。

高温処理区では1尾が斃死したのみで斃死率は0.5%であった。一方、対照区のそれは70.75%で、明らかにIHNウイルスに対する耐病性の差がみられた。

## 考 察

田中ら(1988)は健康魚にIHN汚染水を用いた高水温処理を実施し、その後通常の水温で飼育した場合IHNの発病が抑制されることを報告しているが、今回の実験ではIHN感染初期のニジマス稚魚でも本処理が有効であり、処理終了後にはIHNの発病が抑えられるとともに、再攻撃に対して有効であることが確認された。しかし、高温処理を開始するとともに対照区に比べ斃死が早期に始まり、高水温が感染初期の供

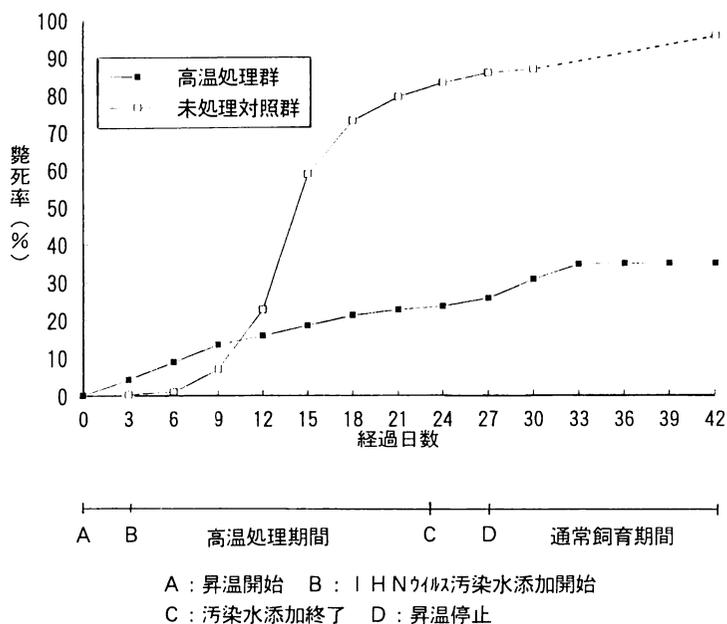


図2 実験魚の斃死状況

表1 高温処理魚に対するIHN攻撃試験結果

攻 撃 ウイルス力価	供 試 魚 数	平均魚体重 (g)	累積斃死率 (%)	試 験 中 の 水温 (°C)
10 <sup>5.5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	高温処理区	1.6		
	20		0	
	20		5	12.6
	対 照 区	1.3		
	20		75	~14.9
	20		70	

試魚の生理に何らかの影響を及ぼしたと考えられるが、3日後にIHNウイルスが検出されなかったことから、本処理によってIHNの発症が促進されたか否かは不明である。Amend (1970)は、水温12°Cで感染させたベニザケ稚魚を24時間以内に20°Cに昇温した場合には斃死を抑えられるが、48時間以上経過すると斃死数は増加し、96時間後では通常水温の飼育と斃死数は変わらず、一旦感染が成立した場合には昇温効果はほとんどないことを報告している。今回の供試魚は明らかにIHNに感染していたが、斃死がまだ少ない初期の状態での感染程度に差があったため本処理が有効であったと考えられる。従って、症状が進行している個体では21.5°Cの高温処理でも発症を抑えることはできず、斃死が目立ち始めた発病群に対しては、効果は期待できないことが予想される。

高温処理群に対する攻撃試験の結果、IHNによる斃死は1尾にみられただけであった。このことは田中らの結果とほぼ同じであり、感染初期のニジマス稚魚でも高温処理を実施した場合その後、再感染しにくいことが確かめられた。Amend (1970)によると6日間の高温処理の効果は魚側のホルモンあるいは酵素活性の高まりか、インターフェロンの産生によるウイルス粒子の成熟抑制によるものであり、短期間での免疫獲得の可能性については言及していない。田中ら及び今回の実験では昇温期間は21日間と長く、処理後IHNウイルスの攻撃を行っても生残率が高いことから、IHNに対する耐病性が長期間にわたって持続していたことは明らかであり、免疫が獲得されている可能性は十分考えられる。経時的な感染実験を実施し、耐病性がどの程度持続するのか検討する必要がある。

高温処理群がその後保菌魚になるか否かは重要な問題であるが、田中らも確かめておらず、今回の実験でも実施していない。Amend (1976)によるとニジマス自然感染魚を17°Cの高水温で3週間飼育し、その後IHNフリーの水で飼育したところ、3年後に18尾中3尾の体腔液からIHNウイルスを分離している。処理水温が異なるので比較できないが、高温処理を行ってもウイルスが潜在する可能性は十分考えられ、このことが否定できない以上処理群の無菌池への搬入はさ

けなければならない。導入汚染水を紫外線殺菌した場合の本処理の効果についても検討しておく必要がある。

最後に高温処理は IHN 対策に有効ではあるが、半循環方式を用いても昇温コストが高つくこと、高水温循環飼育中に環境悪化による別の疾病が発生しやすいこと、処理魚が保菌魚になる可能性があること等、問題となる点が多く残されており、さらに検討を重ねていく必要がある。

## 文 献

Amend, D. F. (1970) : Control of Infectious Hematopoietic Necrosis Virus Disease by Elevating the Water Temperature. J. Fish Res. Board Canada, 27, 265-270.

Amend, D. F. (1976) : Prevention and Control of Viral Disease of Salmonids. J. Fish. Res. Board Canada, 33, 1059-1066.

田中深貴男・田中繁雄・飯野哲也（1988）：飼育水温コントロールによるニジマスの IHN 制御について。埼玉水試研報, (47) 77-82.

## 高温処理による IHN の被害低減に関する研究 II

### IHN に感染したヤマメ稚魚に対する高温処理

河西一彦・小野 淳・工藤真弘

IHN (伝染性造血器壊死症) に対する予防措置として、田中ら (1988) は IHN ウイルス汚染水を用いてニジマス稚魚に高温処理を施すことにより、通常水温に降温した後の IHN の発症を抑制できることを報告している。著者らは前報<sup>\*1</sup>で、IHN にすでに感染したニジマスであっても未発症の感染初期の状態であれば、本処理が有効であることを報告した。本研究では、すでに IHN が発症し、斃死魚が増加しているヤマメ稚魚群を用いて同処理を実施し、治療効果を検討した。

#### 材料及び方法

**供試魚** 1991年3月に奥多摩分場で自然発症した IHN 感染ヤマメ稚魚 (平均体重1.9g) を本実験に供試した。実験開始当初、供試魚の母群約 40000尾が収容されていた飼育池では1日当たり約 300尾の斃死がみられ (発病8日目) ウイルス検査の結果、IHN と診断された。飼育池上流部から3600尾の供試魚を無作為に取り上げ、塩化ビニール製水槽 (79×34×水深25cm) 6槽に 600尾ずつを収容し、このうち5槽 (3000尾) に後述する高温処理を実施した。また、別の1槽を通常の河川水で飼育し対照とした。

**処理方法** 処理の方法は前報に従った。すなわち、昇温は循環式加熱冷却装置2ユニットおよびヒーター (容量1KW) 4基を用いて行った。昇温開始前の水温は8.8℃で循環システム中に河川水 (約20ℓ/min) を補給し、半循環とした。また、生物濾過槽は設置せず、グラスウールを用いて残餌および糞を取り除いた。昇温開始の翌日に21.5℃に達したため (昇温速度0.75℃/h)、循環水中に IHN ウイルス汚染水を導入した。汚染水の導入は前述と同様の塩化ビニール製水槽に自然発症したヤマメ稚魚 100尾を収容し、その排水を用いて行った。汚染水の供給に用いた発症群においては斃死魚を2～3日毎に取り除き、新たな病魚を補給した。高温処理は3週間行う予定であったが、短桿菌による鰓病で斃死が目立つようになったため、18日間 (高温処理19日間) で汚染水の導入を停止するとともに、通常水温に降温し、塩水浴 (1% 1時間) を行った。その後は感染実験に供試するまで同水槽中で飼育し、斃死状況を観察した。

**感染実験** 高温処理終了65日後に40尾を供試し、隔離飼育されていた健康なヤマメ稚魚を対照として IHN 感染実験を行った。供試ウイルスは1989年に奥多摩分場のニジマス (平均体重36g)

---

\*1 高温処理による IHN の被害低減に関する研究 I (本報告書p. 14-18)

に発病し、EPC細胞を用いて分離されたTK8901を用いた。接種ウイルス液はEPC細胞で培養し、感染に供試した（感染力価 $10^{5.5}$ TCID<sub>50</sub>/ml）。感染は1ℓの飼育水の入った2.9ℓ容プラスチック水槽に供試魚を収容し、ウイルス液2mlを添加後、止水通気で1時間浸漬し、その後、2水槽に分けて流水で飼育した。実験中の水温は12.7～13.6℃で、斃死状況を3週間観察した。

## 結 果

実験および経過観察期間中の斃死状況を図1に示した。

供試魚を実験水槽に収容すると同時に昇温を開始したが、収容時に斃死魚はみられなかった。翌日に水温が21.5℃に達したため汚染水の導入を開始した。昇温とともに処理群の斃死は急速に増加し、汚染水導入時の累積斃死率は11.8%に達した。一方、同時点での対照群のそれは0.8%であった。処理群の斃死は昇温開始3日目までに27.7%と急増したが、その後は漸増し、高温処理を終了した19日後の累積斃死率は36.7%であった。しかし、高温処理終了後もIHNの再発等（後述）で斃死する個体がみられ、66日後の累積斃死率は53.7%であった。なお、同時点での斃死はほとんどみられなかった。

一方、対照群の斃死は3日目以降急速に増加し、累積斃死率は9日後45.3%、15日後82%、19日後90.8%、66日後95.6%であった。

高温処理開始6日目から19日目までの毎日、処理群及び対照群の斃死魚それぞれ3尾を凍結保存し、後日、3尾1検体としてEPC細胞を用いた常法によるウイルス検査を実施した。対照群では全検体からIHNウイルスが検出されたが、処理

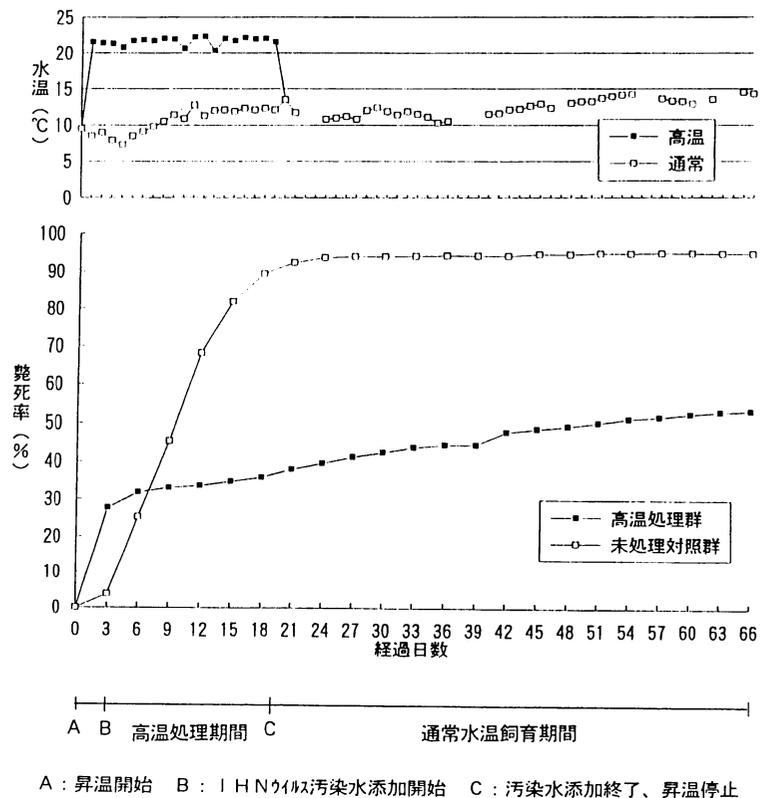


図1 実験魚の斃死状況

群での検出数は14検体中5検体であった。しかし、高温処理の経過日数との関連はみられなかった。また、処理終了8日後から処理群の一部に眼球突出、鰓の貧血を呈し、斃死する個体がいくつか観察されるようになり、IHNウイルスが検出された。

処理終了65日後に実施した感染実験の結果を表1に示した。

高温処理群、未感染対照群にそれぞれ1尾の斃死がみられただけで、IHNに対する耐病性獲得の有無は不明であった。

## 考 察

前報ではIHN感染初期のニジマス稚魚を用いて本処理を実施し、昇温によるIHN発症抑制効果とその後の耐病性獲得を確認した。今回はヤマメにおいても昇温によりIHNの発症を抑制できる事が明らかとなった。Amend (1970) はベニザケ稚魚を用いた実験で12℃でIHNウイルスに感染させ、感染後96時間以上経過してから20℃に昇温しても通常水温と斃死数はかわらず、一旦感染が成立した場合には昇温効果がほとんどないことを報告している。著者らも前回の実験で昇温の最初の段階で斃死が増加し、通常水温で飼育していた対照群にもIHNが発症したことから、IHNウイルスに感染していたものの感染初期であったため本処理が有効であったと考察した。しかし、今回の実験に用いたヤマメ稚魚は明らかにIHNが発症して斃死魚が増加しており、これらの考察と異なる結果を得た。使用した供試魚が発症池上流部の集団からすくい取ったため、比較的感染初期のものが多かったことが考えられるが、発症水温が8℃台であり、Amendの実験の12℃に比較して低かったことも、症状の進行を遅らせている要因と考えられる。いずれにせよ昇温開始後に急速に斃死が目立ち始めたことから、昇温を治療手段として用いる場合には症状の進行との関連を詳細に検討しておく必要がある。特に、処理時の母群の斃死状況だけでなく、発症水温と発症後の経過日数についての検討は重要である。また、高温処理終了後もIHNによって斃死する個体がいくつかみられたことは、発症群を用いたこと、及び処理期間が19日間と短かったことが一因と考えられるが、ヤマメに対する本処理の有効性が検討されていないため、

表1 感染実験結果

感染力価	供試魚数	平均体重 (g)	累積斃死率 (%)	水温 (°C)
10 <sup>5.5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	高温処理区	4.6		
	20		0	12.7~
	20		5	
	未感染対照群	5.0		
	20		0	13.6
	20		5	

ヤマメ健康魚を用いて基礎的な知見を収集する必要がある。

高温処理群に対して行った感染実験では未感染の対照群においても1尾の斃死しか見られず、処理群の耐病性獲得の有無は不明であった。また、同じウイルスを用いて行ったニジマスに対する感染実験が成立していたことから、鈴木ら（1991）が報告しているようにウイルスと魚種との病原性の特異性が示唆された。従って、高温処理に用いるウイルスについての検討が必要と考えられる。また、今回もIHNVウイルス汚染水を導入したが、発症群に対する処理では汚染水の導入が必要か否か検討する必要がある。

## 文 献

田中深貴男・田中繁雄・飯野哲也（1988）：飼育水温コントロールによるニジマスのIHNV抑制について，埼玉水試研報，(47) 77-82.

Amend, D.F. (1970): Control of Infectious Hematopoietic Necrosis Virus Disease by Elevating the Water Temperature. J. Fish. Res. Board Canada, 27, 265-270.

鈴木邦夫・坂井勝信（1991）：サクラマスとニジマスに対するIHNVウイルスの病毒性の差異，平成3年度日本水産学会春季大会講演要旨，p. 91.

# 高温処理による IHN の被害低減に関する研究 III

## 紫外線殺菌併用による耐病性獲得の検討

河西一彦・小野 淳・工藤真弘

IHN（伝染性造血器壊死症）の予防対策として、田中ら（1988）はニジマス稚魚の高温処理が有効であることを報告し、著者らも前2報で、ニジマス、ヤマメのIHN発症群に対して、本処理が治療措置としても効果のあることを報告した。同処理によって得られたニジマス稚魚は、その後耐病性を獲得する事が明らかとなったが、保菌魚である可能性が高く、処理群の出荷先については慎重な配慮を行わなければならない。一方、IHNに対する防疫対策の1つとして紫外線による飼育水の殺菌が普及し、その効果が実証されている。そこで本研究では高温処理時に導入するIHNウイルス汚染水に紫外線を照射し、高温処理後の耐病性獲得の有無について検討を行った。

### 材料および方法

**供試魚** 実験には奥多摩分場で1991年1月にニジマス雌1尾、雄1尾の交配を行い、発眼後イソジン消毒を行って孵化した1腹仔のニジマス稚魚（平均体重1.1g）を用いた。供試魚の母群は実験が終了するまでIHNウイルスの汚染のない河川水を用いて飼育した。

**実験装置** 実験装置の概略を図1に示した。

実験に用いた水槽は塩化ビニール製水槽（79×34×水深25cm）で紫外線と高温処理の併用群（以下、UV処理群と略す）、通常高温処理群（以下、高温処理群と略す）にそれぞれ1槽ずつを用いた。高温処理群は循環水をそのまま注入したが、UV処理群の水槽の上部には水深が約2cmになるように排水部を取付けたホーロー製バット（36×28×深さ5cm）を設置し、その上部（水面上約3cm）に紫外線殺菌灯15W1本を点灯して、注入する循環水の殺菌を図った。供試魚は母群から無作為に計数し、各水槽に300尾ずつを収容した。

**処理方法** 昇温は循環式加熱冷却装置（ヒーター容量3KW）1ユニットおよびヒーター（容量1KW）3基を用い、一部河川水を導入して半循環で行った。残餌および糞の除去はゼオライト（径3～5mm）約4ℓが入ったプラスチック製網カゴ（28×20×深さ10cm）に循環水を通過させて行い、4～5日毎に逆性石鹼液で殺菌し、飼育水でよく洗浄したゼオライトと交換した。昇温開始時の水温は16.4℃で昇温開始3日後に21.5℃に達したため、4日後から循環経路にIHN汚染水を導入した。

汚染水は人工感染魚を用いて作出した。感染に用いたIHNウイルスはTK8901で、塩化ビニール製水槽（49×25×水深7cm）に処理群と同じ母群より100尾を計数して収容し、ウイルス液添

加後（感染力価 $10^{5.5}$ TCID<sub>50</sub>/ml）、止水通気で1時間浸漬した。浸漬中の水温は13℃であった。その後、流水で飼育し、感染4日後より斃死する個体が現れたため、同水槽の排水をIHNウイルス汚染水として循環経路に導入した。なお、感染魚の入った水槽への注水は13℃に調温し、2～3日毎に斃死魚を取り除くとともに健康魚を補充した。循環経路へ供給する汚染水のウイルス量を知るために、同水槽の排水を採水し、メンブランフィルター（0.45μm）を通過させた後、EPC細胞を用いて定量したが、検出限界（ $10^{1.8}$ TCID<sub>50</sub>/ml）以下であった。

3週間経過後、汚染水の導入を停止するとともに通常水温に降温し、後述する感染実験に供試するまでそれぞれ的水槽中で河川水を用いて飼育した。なお、UV処理群の注水は引続き河川水に紫外線を照射して殺菌を行った。

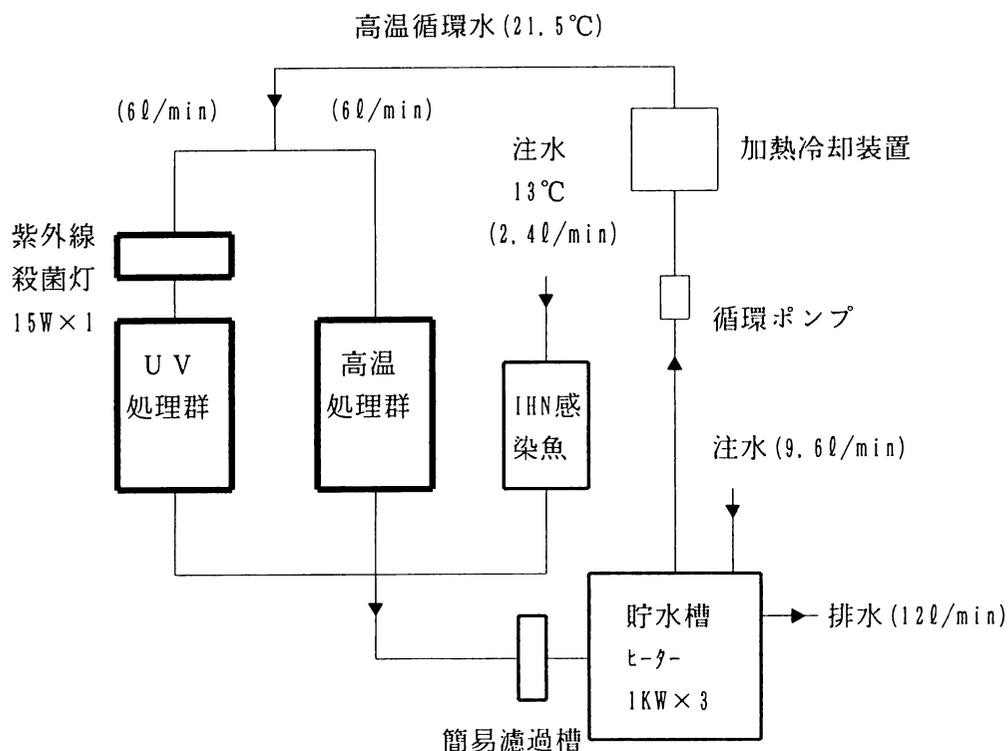


図1 実験装置

感染実験 高温処理終了95日後に高温処理群、UV処理群および処理に用いた母群（以下、無処理群と略す）からほぼ同じ大きさの供試魚をそれぞれ40尾ずつ選別し、感染実験を行った（平均体重6.0～6.1g）。

供試したIHNVウイルスは高温処理に用いたTK8901で、接種ウイルス原液はMEM-2を培養液としてEPC細胞を用いて培養し、-80℃に凍結保存してあったものを用いた。感染は1.5ℓの飼育水（約13℃）の入った2.9ℓ容プラスチック水槽にそれぞれの供試魚を収容し、ウイルス液3mlを添加後（感染力価 $10^{9.5}$ TCID<sub>50</sub>/ml）、止水通気で1時間浸漬し、その後2水槽に分け流水で飼育した。実験中の水温は12.1～13.2℃で、斃死状況を3週間観察した。

## 結 果

高温処理14日頃から高温処理群に斃死が目立ちはじめ、検査を行った結果IHNVウイルスが分離され、鰓には短桿菌が付着していた。そこで高水温を維持したまま1%塩水1時間浴を実施した。斃死は高温処理が終了した21日後には治まったが、同時点での生残率は68.0%であった。一方、UV処理群でも17日後から斃死がみられたが、短桿菌による鰓病のみでIHNVウイルスは分離されなかった。高温処理群と同様に高水温のまま塩水処理を行い、高温処理終了時までには斃死は治まった。生残率は90.3%であった。

高温処理終了95日後に無処理群を対照として実施した感染実験の結果を表1に、斃死状況を図2に示した。高温処理群に斃死は認められなかったが、UV処理群、無処理群では共に感染4日後から斃死がはじまり急増し、21日後の累積斃死率はそれぞれ97.5%、77.5%に達した。

## 考 察

各処理魚を用いた感染実験の結果、通常の高温処理群では95日経過後でもIHNVによる斃死を完全に抑制することができ、獲得されたIHNV耐病性が長時間継続していることを確認したが、紫外線を併用した群は無処理群より斃死率が高く、全く効果は認められなかった。このことから、高温処理における耐病性獲得には感染力を有する生きたウイルスの存在が不可欠であると判断された。また、今回のUV処理の方法は一種の低濃度紫外線不活化ワクチンと同様の原理であるが、長時間浸漬しても本法では効果が期待できないと考えられた。吉永ら（1986）は養魚用水中でのIHNVウイルスの生存性を検討し、0℃では安定であるが、5、10、15℃では7日目以降大幅な感染価の減少が認められ、その傾向は温度の上昇につれて大きくなったと報告している。このことから、21.5℃の水中ではウイルスの急速な失活が起こっていると予想されるが、本実験では常時、IHNVウイルスが補給されており、また高温処理群で14日目頃から生じた斃死個体からウイルスが分離され感染が成立していたことから、高水温中でもウイルスの感染力が保持されているのは明らかである。高水温飼育でIHNVによる斃死が起こらないのは、Amend（1970）が推測するよ

表1 感染実験結果

感染力価	供試魚数	平均 体重 (g)	斃死数	平均累積 斃死率 (%)	水温 (°C)	
10 <sup>5.5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	高温処理群					
	20	6.0	0	0		
	20		0			
	UV処理群					12.1~
	20	6.1	19	97.5		
	20		20		13.2	
無処理群						
	20	6.1	16	77.5		
	20		15			

うに、感染はするが魚体側のホルモンや酵素活性、あるいはインターフェロンの関与によりウイルスのコントロールが行われていると考えるのが妥当であろう。そして、その間に感染力を有するウイルスが一種の弱毒生ワクチンと同様に働くため免疫が付与されると考えられる。弱毒株ウイルスによる免疫効果は福田ら（1989）によって報告されているが、まだ完全な弱毒化は行われておらず、浸漬法による接種では効果が低いことから、高温処理は浸漬法としての免疫付与の点でも高い評価が与えられよう。しかし、生ワクチンの場合、ウイルスの突然変異による病原性の回復も懸念されないわ

けではない。高温処理を行った魚から高温でも病原性を有するウイルスが淘汰されてくる可能性もあり、処理魚の扱いは慎重に行う必要があるだろう。

紫外線不活化ウイルスによる免疫獲得の可能性については田中ら（1986）が、通常水温でIHN汚染水に紫外線を照射し、これを飼育水としてニジマス稚

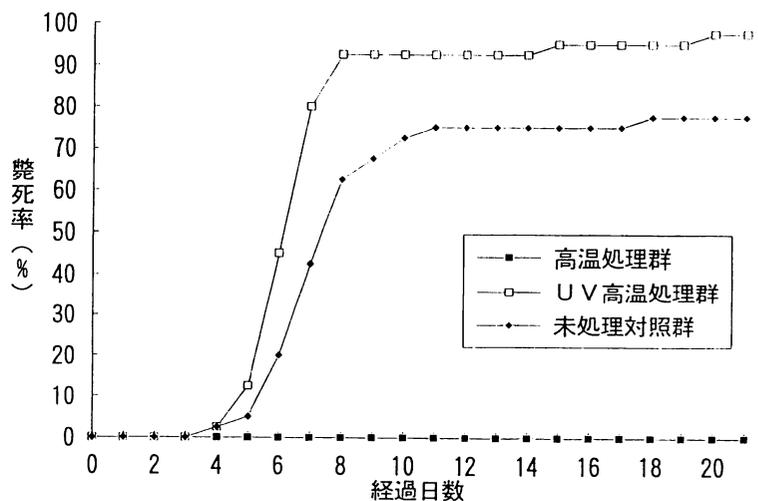


図2 処理群の感染実験による斃死状況

魚を飼育した結果、45日後の感染実験では予防効果がなかったと報告している。著者らもニジマス稚魚を用いて同様の実験を行い、42日間では効果がないことを確認している（未発表）。今回の実験においては高水温での紫外線不活化浸漬ワクチンとしての効果を期待したが、効果は全く認められず、むしろ無処理群と比較した場合に、斃死率が有意に高かったことは特筆すべきことと思われる。田中ら（1986）もウイルス濃度 $10^{5.1}$  TCID<sub>50</sub>/mlの攻撃試験では紫外線で不活化した汚染水で飼育した試験区の斃死率が90.0～93.3%、無処理の対照区のそれが70.0～76.7%と同様の結果を得ていることから、紫外線により不活化されたIHNVウイルスに曝されたニジマス稚魚の同ウイルスに対する感受性が高まっている可能性が示唆される。飼育水の病原菌による汚染対策として紫外線殺菌が普及してきたが、この点についての検討が必要と考えられる。

## 文 献

- Amend, D. F. (1970): Control of Infectious Hematopoietic Necrosis Virus Disease by Elevating the Water Temperature. J. Fish. Res. Board Canada, 27, 265-270.
- 田中深貴男・田中繁雄・飯野哲也（1986）：飼育水の紫外線照射のIHNV予防効果について（資料）．埼玉水試研報, (45) 86-89.
- 田中深貴男・田中繁雄・飯野哲也（1988）：飼育水温コントロールによるニジマスのIHNV制御について．埼玉水試研報, (47) 77-82.
- 福田穎穂・加藤宜昭・佐伯宏樹・佐野徳夫（1989）：IHNV弱毒クローンのIHNV防御免疫効果．日本水産学会誌, 55(3), 479-484.
- 吉永 守・瀧澤宏子・亀井勇統・木村喬久（1986）：魚類病原ウイルスと環境由来微生物との相互作用：飼育用水中での生存性．魚病研究, 21(4), 223-231.