HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ウイルス性神経壊死症原因ウイルスに汚染したマツカワ受精卵のオゾン処理海水による消毒
Author(s)	渡辺, 研一; 吉水, 守
Description	短報
Citation	日本水産学会誌, 66(6), 1066-1067 https://doi.org/10.2331/suisan.66.1066
Issue Date	2000-11-15
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53370
Rights	© 2000 公益社団法人日本水産学会
Type	journal article
File Information	article99.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Nippon Suisan Gakkaishi 66(6), 1066–1067 (2000)

短　　報

ウイルス性神経壊死症原因ウイルスに汚染したマツカワ受精卵のオゾン処理海水による消毒

渡辺研一，吉水　守

(2000年1月11日受付，2000年5月8日受理)

Disinfection of Viral Nervous Necrosis Virus Contaminated Fertilized Barfin Flounder Eggs by Ozonated Seawater

Ken-ichi Watanabe*1 and Mamoru Yoshimizu*2

キーワード：消毒，マツカワ，VNN, *Verasper moseri*，受精卵，オゾン処理海水，オキシダント，卵発生

魚類の疾病防除対策に古くから卵消毒法が用いられ，[1] サケ・マスの増養殖においてポビドンヨード液による卵消毒は不可欠となっている。[2]

ウイルス性神経壊死症（VNN）は，22種の魚類でその発生が報告され，海産魚の種苗生産において大きな問題となっている。[3] シマアジ *Pseudocaranx dentex* のVNN原因ウイルスはヨード剤では50 mg/*l* の濃度で10分間の処理により，また海水をオゾン処理することにより発生するオキシダントでは0.1 mg/*l* で2.5分，0.5 mg/*l* では0.5分間の処理で不活化されることが報告されている。[4]

VNNウイルスを不活化でき，かつ受精卵に悪影響のない薬剤を用いて卵消毒を行うことによりVNNの防除が期待される。そこで，ヨード剤とオキシダント海水によるVNNウイルス不活化効果とマツカワ *Verasper moseri* 受精卵に及ぼす影響を検討した。

㈱日本栽培漁業協会厚岸事業場で養成中のVNNウイルスに対する感染履歴を有する（ELISA抗体価[5]≦1：40）親魚から得られた，PCR[6]によるVNNウイルス検査陰性の卵および精液を用いて，人工授精を行った。人工授精の翌日にモルラ期の受精卵を計数し，得られた10.6万粒のうち5.0万粒をネットに入れ，有効ヨウ素濃度が50 mg/*l* となるようにポビドンヨード（明治製薬）を添加した海水30 *l* に15分間振とうしながら浸漬した。残りの5.6万粒を同様に別のネットに入れ，0.5 mg/*l* のオキシダントを含む海水を3 *l*/min の流量で流した25 *l* 容のコンテナに5分間振とうしながら浸漬した。消毒後の卵を渡辺・鈴木[7]の方法により管理し，全数のふ化が確認された段階でふ化仔魚を計数した。ふ化率はオキシダント海水を用いて消毒した区で高かった。両区ともに10尾のふ化仔魚を1検体として6検体ずつPCR[6]によりVNNウイルス遺伝子の検出を試みた。ヨード剤で消毒した区のふ化仔魚では6検体中3検体からVNNウイルス遺伝子が検出されたが，オキシダント海水で消毒した区のふ化仔魚からは検出されなかった。このことから，マツカワのVNN防除対策にあたり，ヨード剤よりもオキシダント海水を用いる方がより有効と考えられた。

シマアジ，ホシガレイ *V. variegatus*，マダイ *Pagrus major* では卵消毒を行うと卵の発生段階によりふ化率に差が認められている。[8,9] そこで卵発生段階毎に，0.5 mg/*l* 濃度のオキシダント海水に5分間浸漬し，ふ化率に与えるオキシダントの影響を調査した。上記と同様に人工授精により得た受精卵をふ化水槽に収容し，卵割が開始された時から心臓が鼓動する8日目までの受精卵を，1日1回ふ化水槽から採取して消毒を行った。消毒後の卵は消毒日ごとにふ化水槽に収容し，前述の方法[7]を用いてふ化管理を行った。実験は3回繰り返して行った。ふ化成績をTable 1に示した。受精後1日目のモルラ期から3日目の嚢胚期までは，卵消毒を行わな

Table 1. Effects of ozonated seawater (TROs; 0.5 mg/*l*) on hatching rate of barfin flounder at various embryonic developmental stages

Days after fertilization	Embryonic deveropmental stage when disinfection was conducted*1	Hatching rate*2 (%) Average (range)
—	Not done	66.2(58.9–72.5)
0	2–64 cells	52.5(41.7–81.6)
1	Morula	65.2(42.9–98.9)
2	Blastula	64.0(51.4–70.7)
3	Gastrula	67.6(49.7–90.7)
4	Appearance of embryo	34.9(29.8–49.4)
5	Appearance of Kupffer's vesicle	51.8(29.6–57.7)
6	Appearance of lenses	47.7(41.7–50.7)
7	Appearance of auditory vesicles	9.6 (3.1–48.8)
8	Beginning of heart beat	1.0 (0.0–41.3)

*1 Fertilized eggs were treated with ozonated seawater (TROs: 0.5 mg/*l*, 5 min).

*2 Hatching rate=Number of normally hatched larvae/Number of floating eggs x 100.

*1 ㈱日本栽培漁業協会厚岸事業場（Akkeshi Station of Japan Sea-Farming Association, Chikushikoi, Akkeshi, Hokkaido 088-1108, Japan).

*2 北海道大学大学院水産科学研究科（Graduate School of Fisheries Science, Hokkaido University, Minato, Hakodate, Hokkaido 041-8611, Japan).

かった対照区と比較してふ化率に差が認められなかったが，受精当日および胚体が形成された4日目以降では，ふ化率が低下した。このことから，卵消毒時期としてはモルラ期から嚢胚期が適していると考えられた。水平感染を防除するためには，可能な限り早期に卵消毒を行うことが望ましく，受精翌日のモルラ期に実施することが実用的であると考えられる。

一方，マツカワ受精卵を0.5 mg/*l*濃度のオキシダント海水に10分間以上浸漬すると，卵表面の生菌数が99.9%以上減少し，5分間浸漬した場合と比較してふ化率に差は認められないことをすでに報告した。[10] 上記のVNNウイルス対策と合わせ，マツカワ受精卵の消毒はモルラ期に0.5 mg/*l*のオキシダントを含む海水に10分間浸漬することにより，安全に効果的に実施することができるものと考えられる。

文　献

1) D. F. Amend: *J. Fish. Res. Board Can.*, **33**, 1059–1066 (1976).
2) 野村哲一：さけ・ますふ研報，**47**, 1–99 (1993).
3) 室賀清邦，古澤　徹，古澤　巌：水産増殖，**46**, 473–480 (1998).
4) M. Arimoto, J. Sato, K. Maruyama, G. Mimura, and I. Furusawa: *Aquaculture*, **143**, 15–22 (1996).
5) K. Watanabe, S. Suzuki, T. Nishizawa, K. Suzuki, M. Yoshimizu, and Y. Ezura: *Fish Pathol.*, **33**, 445–446.
6) T. Nishizawa, K. Mori, T. Nakai, I. Furusawa, and K. Muroga: *Dis. Aquat. Org.*, **18**, 103–107 (1994).
7) 渡辺研一，鈴木重則：日水誌，**65**, 408–413 (1999).
8) 虫明敬一：シマアジおよびブリの親魚養成技術に関する研究．広島大学大学院生物圏科学研究科博士学位論文，1996, pp. 1–145.
9) N. Hirazawa, T. Hara, T. Mitsuboshi, J. Okazaki, and K. Hata: *Fisheries Sci.*, **65**, 333–338 (1999).
10) 渡辺研一，吉水　守：魚病研究，**33**, 145–146 (1998).