

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 農 学 ）	氏名	西岡 豊弘
学位授与の要件	学位規則第4条第1・②項該当		
論 文 題 目			
海産魚の種苗生産過程に発生するウイルス性神経壊死症の防除に関する研究			
論文審査担当者			
主 査	教 授	中井敏博	
審査委員	教 授	河合幸一郎	
審査委員	教 授	大塚 攻	
審査委員	教 授	坂井陽一	
審査委員	教 授	長沼 毅	
審査委員	教 授 (東京海洋大学)	佐野元彦	
〔論文審査の要旨〕			
<p>現在、わが国において海産魚の種苗生産過程で発生する疾病のうち、ベータノダウイルス (betanodavirus: 二分節 ss+RNA) を原因とする「ウイルス性神経壊死症 (VNN)」が最も重大な被害をもたらしている。本研究は、栽培漁業や養殖業の新規対象魚種として注目されているキジハタ、アカアマダイおよびクロマグロについて本疾病の感染経路を推定するとともに、現場に即した防除法について検討したものである。</p>			
<p>第1章 緒論</p> <p>研究の背景となる栽培漁業と養殖業について詳述し、それらの種苗生産において多発する疾病が種苗の安定供給に支障を来していることを示した。特に、魚類では VNN の発生が大きな問題であることを指摘し、本病についての既報の知見を整理した。</p>			
<p>第2章 種苗生産対象種および種苗生産過程における疾病の発生状況</p> <p>1984年から2009年までの資料を基に種苗生産対象種について調査した結果、魚類16種、甲殻類8種、介類18種で100万個体以上の種苗が生産されていた。これらに発生する疾病では、ウイルス病が26%、細菌病が37%、真菌病が8%、寄生虫病が12%、不明が17%であった。このうちVNNは5目21魚種で発生があり、キジハタ、クエ、シマアジ、ヒラメでは10年以上継続して発生していたことから、種苗の安定生産を妨げる最も重要な疾病であると位置付けた。</p>			
<p>第3章 キジハタにおけるベータノダウイルスの感染状況</p> <p>VNN に感染耐過したキジハタ稚魚からは3年後もPCRによりベータノダウイルス (RGNNV 遺伝子型) が検出されることから、これらの耐過魚は不顕性感染の状態にあることが明らかとなった。日本近海4海域で採取した132個体の天然キジハタを検査した結果、RT-PCRで4.5%、nested PCRで33.3%の魚がRGNNV陽性となり、親魚候補となる天然キジハタのウイルス感染を確認した。分離した天然キジハタ由来RGNNVはキジハタ稚魚に対し</p>			

て病原性を示した。これらの結果から、キジハタの VNN は不顕性感染した親魚からの垂直伝播によって起こると考えられた。

#### 第4章 アカアマダイにおけるウイルス性神経壊死症の防除対策

沿岸漁業の重要な水産資源で商品価値が高いアカアマダイにおける VNN の発生を確認した。疫学調査において、親魚として用いる天然アカアマダイが PCR 陽性となり、一部の個体からウイルスが分離されたことから、VNN の発生は垂直伝播によると推定した。分離したウイルスをマハタ稚魚に注射感染したところ、マハタ病魚由来ウイルスと同等の死亡率を示し、天然アカアマダイ由来ウイルスの病原性が確認された。防除対策として、PCR 陰性の親魚を用い、受精卵を電解海水で消毒し、かつ電解処理海水を用いて飼育することが有効であることを明らかにした。また、人工卵巣腔液で未受精卵を洗浄し PCR 陰性の精子で人工授精することにより、VNN の発生を大幅に低減できることを示した。

#### 第5章 クロマグロにおけるウイルス性神経壊死症の防除対策

養殖種として世界的に注目されているクロマグロを対象とした。種苗生産過程での大量死亡事例について検討し、病理組織所見（VNN に特徴的な脳や網膜の空胞変性）とウイルス分離結果から、VNN が大量死亡の一要因であると推定した。PCR 法を用いた疫学調査では、天然幼魚や養成親魚、受精卵およびふ化仔魚から RGNNV が検出され、VNN は親魚からの垂直伝播によると結論づけた。本種の養成親魚は巨大で人為的な取り扱いが困難なため、既報の防除対策である PCR 検査による親魚の選別ができない。そこで、受精卵消毒の有無や使用薬剤および用水の処理方法について検討した結果、電解海水で卵消毒し電解処理海水で卵管理や仔魚飼育を行うと、VNN 発生数は低下して稚魚の生産数が増加した。これらの方法はクロマグロの VNN 防除法として有効であると考えられた。

#### 第6章 ウイルス感染源としての餌料魚の重要性

既報の VNN 防除対策を実施したシマアジ種苗生産において、ベータノダウイルス（遺伝子型 SJNNV）による VNN が発生した。種苗生産に使用した親魚ならびに生産に使用された餌料生物について PCR 検査を行った結果、養成親魚の餌料用に冷凍保管していた天然マアジの 55%からウイルスが検出され、シマアジ病仔魚から検出されたものと RNA2 の塩基配列（T4 領域）が一致した。このことから、天然マアジがシマアジ仔魚のウイルス感染源であると推定した。さらに、天然マアジから分離したウイルスをマアジ仔魚およびシマアジ仔魚に浸漬感染させた結果、シマアジ病魚由来 SJNNV と同等の強い病原性を示す株が確認された。日本とヨーロッパの病魚および天然マアジ由来の SJNNV についてそれらの RNA2 T4 領域の塩基配列を比較した結果、強い病原性を示す株は病魚由来株の配列に近いクラスターに分類された。以上のことから、従来の対策に加えて、餌料用魚を介した感染にも注意を払う必要がある。

#### 第7章 総合考察

第1章から第6章において得られた主要な知見に基づき、種苗期の VNN 防除法について総合的に考察した。

以上の論文内容について審査をおこなった結果、本論文には学術的新知見が多く含まれており、また本研究成果の応用的価値も高いことから、本論文は学位論文に相応しい内容であると認められる。

