

(平成 16 年北海道大学審査学位論文)

# 養殖サケ科魚類の伝染性造血器壊死症 ( I H N ) 防除技術開発に関する研究

本 西 晃

---

## 緒 言

### 第一章 長野県における I H N の発生経過

#### 第一節 長野県における I H N の発生経過と実態解明

#### 第二節 養殖現場における簡易診断法

#### 第三節 長野県における I H N の発病動向の解析

#### 第四節 種卵・種苗の流通と I H N の伝播に関する調査

### 第二章 I H N の発生と環境要因について

#### 第一節 I H N 発病と飼育水温の関連性

#### 第二節 I H N 発病と飼育環境の関連性

#### 第三節 I H N 発病と飼育密度の関連性

#### 小 括

### 第三章 I H N の伝播に関する検討

#### 第一節 I H N 伝播に関する実験的解明

#### 第二節 I H N ウイルス汚染用水によるふ化飼育と発病

#### 第三節 I H N 耐過魚のウイルス保有率

#### 第四節 I H N ウイルス保有親魚群の卵、精液、受精卵及び仔稚魚からの I H N ウイルスの分離

#### 小 括

### 第四章 I H N 防除技術に関する研究

#### 第一節 各種環境条件下における I H N ウイルスの生存性

#### 第二節 各種消毒薬による I H N ウイルスの不活化効果

#### 第三節 ポリビニールピロリドン ( P V P ) ヨード剤による消毒効果

#### 第四節 紫外線照射による I H N ウイルスの不活化効果

#### 小 括

### 第五章 養殖現場への I H N 防除技術の導入と今後のリスク評価

#### 第一節 紫外線殺菌装置による養魚用水の殺菌と I H N 予防効果

#### 第二節 隔離飼育施設と I H N 予防効果

#### 第三節 防除対策を施した飼育施設

#### 第四節 I H N 伝播モデルの検討

## 総 括

## 謝 辞

## 引用文献

---

## 結 言

### 1. 長野県のサケ科魚類養殖の歴史と魚病

長野県におけるサケ科魚類、特にマス類の養殖生産量が初めて統計上の記録として表れたのは1913年(水産業累年統計, 1979)である。1926年に水産増殖奨励規則が公布されたことから、同年長野県水産試験場の前身である県営犀川ふ化場が設置され、翌1927年には長野県明科魚類増殖場に、1938年には長野県水産指導所に改称し、マス類養殖の生産基盤の整備拡充が図られた。当初のマス類養殖は、河川および湖沼放流を目的とした種苗生産が主流で、飼育されたマス類は国内外から導入された虹鱒、河鱒、姫鱒、紅鱒、本鱒、雨鱒、白鱒および国鱒であった。数年にわたる試験の結果、この中から米国産の虹鱒(ニジマス)と河鱒(カワマス)を増殖魚種として選定し、長野県明科魚類増殖場はこれらの種苗供給および食用魚養成を行うことになった(長野県水産史, 1969)。

1950年代になると、それまで実施されてきたニジマスの河川への放流効果について否定的な見解が出され、食用魚生産が中心となった。そして、1952年に開始された米国向け冷凍ニジマスの輸出によって、養殖生産量は飛躍的に増加した。この増産を支えたのは1950年代後半から1960年代に実用化された種苗生産技術の進歩で、等調液洗卵法、産卵期の人為調整技術の実用化、配合飼料の開発等であった。長野県のマス類生産量の年次変化は表1に示したように、1950年代から順調に伸びてきたが1970年代になると鈍化し、1978年の4,525トンピークにその後は停滞から漸減の傾向を示すようになった。この原因は、1971年の円の変動相場制移行にともなう円高による対米輸出の不振、その後の石油ショックなど経済不況による生産コストの上昇や販売不振、従事者の高齢化にともなう生産規模の縮小など社会的要因のほか、販売価格の高い在来マスへの転換、高密度飼育による飼育環境の悪化および魚病の多発などによる歩留まり低下が考えられた。このうち、魚病被害は表2に示したように、全国で生産量の3.1~6.5%を占め、養殖経営上大きな問題となってきた。養殖ニジマスに発生した主な疾病は、1950年代後半から当初不明病として取り扱われていたIPN、1960年代にはピブリオ病やカラムナリス病などが報告され、1972年からは水カビ病が、1974年以降IHNが蔓延した(山崎・原, 1976)。その後イクチオホス症、連鎖球菌症、冷水病などの発生が全国養鱒技術協議会の疾病実態調査(1978~1994)に報告されている。特にIH

Nは魚病被害の中でも被害量・額とも最大で、被害額の50%以上を占める年もみられ(表2)、ニジマス養殖における最も問題となっている魚病のひとつである(本西, 1984)。

長野県ではIHNは1974年に初めて確認された。1975年には県内で生産された種苗の40%が被害を受けるまでに汚染地域が拡大した(長野県, 1979)。長野県はニジマスの種苗生産量も多く、近年では、全国の生産量に対し発眼卵は25~30%、稚魚は20~25%程度を生産し(表3)、全国へ供給していることから、種苗の不足は長野県内ばかりでなく、本県産に依存していた県外養殖業者にも打撃を与えた。長野県でも種苗の不足分は県外からの導入に頼らねばならず、種苗の来歴が明らかにならないまま導入される状況になった。これら種苗の導入に伴い、長野県に未発生魚病の侵入が懸念された。このため、IHNの防疫対策とともに種苗の安定供給が緊急の課題となった。

表1 長野県における養殖ニジマスの生産量の推移

年	生産量	年	生産量
1950	13	1973	3,977
1951	29	1974	3,904
1952	32	1975	3,880
1953	90	1976	3,780
1954	258	1977	4,248
1955	263	1978	4,525
1956	457	1979	4,296
1957	429	1980	4,449
1958	494	1981	4,370
1959	560	1982	4,328
1960	608	1983	4,186
1961	660	1984	3,874
1962	691	1985	3,931
1963	941	1986	4,175
1964	1,187	1987	4,137
1965	1,377	1988	3,705
1966	1,556	1989	3,841
1967	1,813	1990	3,532
1968	2,027	1991	3,477
1969	2,139	1992	3,364
1970	2,432	1993	3,248
1971	3,427	1994	2,995

農林水産省統計情報部：水産業累年統計第2巻  
 農林省統計調査部：漁業・養殖業漁獲統計表  
 農林水産省統計情報部：漁業・養殖業生産統計年報より  
 \*1956年以前及び1965~1972年はニジマス及びその他のマス類の合計である。

表2 養殖ニジマスの魚病被害量(額)及びIHNの被害量(額)の推移

年	魚病被害量	IHN被害量	(B)/(A)	魚病被害額	IHN被害額	(D)/(C)
	ト (A)	ト (B)	%	百万円 (C)	百万円 (D)	%
1980	543.6	90.4	16.7	554.2	171.4	30.9
1981	584.7	72.0	12.3	568.0	157.9	27.8
1982	817.8	236.4	28.9	874.0	355.5	40.7
1983	761.7	120.4	15.8	565.0	189.5	33.5
1984	874.2	48.5	5.5	718.5	249.6	34.7
1985	668.9	114.0	17.0	584.3	194.0	33.2
1986	851.4	199.1	23.4	689.0	262.0	38.0
1987	781.9	177.5	22.7	647.6	259.2	40.0
1988	798.4	264.6	33.1	572.1	302.3	52.8
1989	836.9	291.3	34.8	545.9	240.0	44.0
1990	629.2	155.3	24.7	456.1	193.6	42.4
1991	978.8	459.7	47.0	793.2	303.1	38.2
1992	630.2	119.3	18.9	525.3	283.2	53.9

水産庁研究部研究課：魚病被害・水産用医薬品使用状況の実態調査結果 より

表3 全国及び長野県のニジマス発眼卵・稚魚の生産量の推移

年	発眼卵(万粒)			稚魚(万尾)		
	全国(A)	長野県(B)	(B)/(A)%	全国(C)	長野県(D)	(D)/(C)%
1987	49,959	12,467	25.0	22,985	3,829	16.7
1979	51,280	15,577	30.4	24,398	4,100	16.8
1980	60,017	16,793	28.3	23,991	3,706	15.4
1981						
1982	55,644	14,609	26.3	28,307	6,208	21.9
1983		14,055			5,656	
1984	51,044	16,621	32.6	24,993	6,519	26.1
1985	51,904	15,549	30.0	28,281	6,564	23.2
1986	49,460	15,843	32.0	24,249	5,804	23.9
1987	49,234	15,222	30.9	23,339	7,163	30.7
1988	45,877	14,519	31.6	23,698	6,083	25.7
1989	44,801	13,116	29.3	23,698	5,092	25.5
1990	38,905	11,952	30.7	21,017	5,183	24.7
1991	41,809	11,251	26.9	20,440	4,970	24.3
1992	40,397	11,606	28.7	21,251	5,080	23.9
1993	49,299	13,116	26.6	20,890	4,553	21.8
1994	41,042	10,793	26.3	19,739	4,139	21.0
1995	41,350	10,391	25.1	21,398	4,098	19.2
1996	39,407	10,632	27.0	18,596	3,930	21.1
1997	39,948	9,884	24.7	19,167	4,923	22.4

全国養鱒技術協議会：全国サケ科魚類種卵・種苗生産状況調査 より(1981年、1983年は調査せず)

## 2. 北米における IHN 発生と日本への侵入の経過

1950 年頃から米国太平洋岸の孵化場のベニザケおよびマスノスケ稚魚に濾過性の病原体が存在することが知られていた。1953 年に Rucker *et al.* (1953) によって初めて報告されたベニザケの病気は Sockeye Salmon Virus Disease (SSVD)、コロンビア川流域の孵化場で発生したものは Columbia River Sockeye Salmon Disease (CRSD)、オレゴン州で発生したものは Oregon Sockeye Salmon Disease (OSD) と各々呼ばれていた (Rucker *et al.*, 1953; Watson *et al.*, 1954; Guenther *et al.*, 1959)。1969 年に Wingfield *et al.* (1969) によりベニザケより原因ウイルスが分離された。一方、マスノスケの病気は、カリフォルニア州サクラメント川水系で最初に見られたことから Sacramento River Chinook Salmon Disease (SRCD) と呼ばれた (Ross *et al.*, 1960; Parisot and Pelner, 1962)。当時、これらの病気は症状および病理組織像が類似しているものの (Yasutake *et al.*, 1965)、別のウイルスによる病気と考えられていた (Parisot *et al.*, 1965)。

1969 年春、カナダのフレーザー川下流の孵化場でニジマス稚魚に死亡率の高い病気が発生した。Amend *et al.* (1969) はニジマスでは従来知られていなかったウイルスを分離し、病魚の腎臓と脾臓、特に腎臓の造血組織に激しい壊死が起こっていたことから、その病気を Infectious Hematopoietic Necrosis (IHN: 伝染性造血器壊死症) と呼ぶことを提唱した。この中で IHN ウイルスは粒子の性状、細胞感受性や CPE の形態が OSD 原因ウイルスや SRCD 原因ウイルスと類似し、病魚の症状にも多少の差はあるものの、本質的には相違はないとした。その後、ベニザケ、マスノスケ、ニジマス由来の各ウイルスはその形態、物理・化学的および血清学的性状により同一ウイルスとされ、さらに病理組織的にも同一範疇に収まることから、病名は IHN に統一された。

以来、IHN は米国各地に広まり、現在、太平洋岸ではカリフォルニア州からアラスカ州まで分布している。本病は米国、カナダのみに存在するものと考えられていたが、1970 年に日本で、1977 年には台湾で、さらに 1991 年にイタリアとフランスでも発生がみられるなどヨーロッパにも広がった。日本では 1970 年にアラスカ州から輸入したベニザケ卵を導入した北海道立水産孵化場森支場で飼育中のこのベニザケと支笏湖産ヒメマスに初めて IHN が発生した。さらに翌年もベニザケ卵の輸入にとともに北海道さけ・ますふ化場虹別事業場のヒメマスおよびベニザケに本病が発生し、千歳支場のヒメマスにも発

生が見られた (Yoshimizu, 1996)。1974 年になって長野、静岡両県下のニジマスに発生が認められ、以来各地へ蔓延し、現在でもニジマスおよび在来マスに大きな損害を与えている。

## 3. 原因ウイルスと疫学

IHN ウイルスは、大きさは長さ 160~180nm、直径 80~90nm の砲弾型で、ラドウイルス科ノビラドウイルス属に分類される。本ウイルスは、エーテル、クロロホルム、酸に感受性があり、ラドウイルス科に分類される (Amend and Chambers, 1970)。熱に不安定で 55 度では 5 分で不活化されるが、-20 以下では安定で、無菌の蒸留水や平衡塩類溶液中でも比較的安定である (Yoshinaka *et al.*, 2000)。養魚池や河川水中では、泥や細菌などの微細粒子に吸着するため、濾過法では速やかに検出限界以下となる。IHN ウイルスは FHM、EPC、RTG-2、CHSE-214 などサケ科由来の培養細胞でよく増殖し (Wolf *et al.*, 1973)、培養至適温度は 15~18 度である。ウイルス感染細胞は、核のクロマチンが周縁に集まり顆粒化し核膜が肥厚して見え、さらに円形化した細胞が房状に集合して培養壁面から剥がれる。

IHN は発見当時、OSD、SRCD と呼ばれ、米国西海岸のベニザケやマスノスケの風土病と考えられていたが、ニジマスでの発生が確認された後に米国内各地に広まり、1970 年代には、日本、台湾に、さらに 1990 年代にはヨーロッパに広まった。IHN ウイルスの宿主として、ベニザケ (ヒメマス)、マスノスケ、ニジマス (スチールヘッド)、ヤマメ (サクラマス)、アマゴ、イワナ、ブラウンマス、カワマスが知られているが、養鱒技術協議会の調査によると産業的被害は、ニジマス、ヤマメ、アマゴで大きいことが報告されている。

伝染源は主として稚魚期に感染耐過したウイルス保有成魚と考えられている。産卵期以前にウイルスが検出されない成魚でも、産卵期になるとウイルス検出率が高まることが多々認められることから、検査対象として雌親魚の卵巣腔液と雄親魚の精液が採取されていたが、IHN ウイルスが精子表面に吸着し、遠心分離や濾過除菌の際に精子とともに取り除かれ検出率が低下することが明らかとなり、現在では卵巣腔液のみが検査対象となっている (Yoshimizu *et al.*, 1985)。また、催熟のため蓄養期間が長くなると、感染耐過魚や先に採卵期を迎えたウイルス保有魚から放出されたウイルスが蓄養池内の非感染魚に水平感染し、ウイルス検出率が上昇することが知られている (Yoshimizu *et al.*, 1993)。

IHN の蔓延、特に遠隔地への伝播はウイルスに汚染

された発眼卵の移植が原因と考えられている。IHNウイルスが精子表面に吸着し受精の際に卵内に侵入するとの知見が得られて(Mulcahy and Pascho, 1984)以来、垂直感染機構について論議された。IHN耐過雄親魚の精子や精漿に感染性のあるIHNウイルスの存在は証明されず、その受精卵からふ化した稚魚にもIHNの発生は認められていない。また、IHNウイルスで人為的に汚染した受精卵は発生初期の卵割期に死亡すること、さらに卵内で増殖したウイルスは卵内容物によって不活化されることが明らかになり(Yoshimizu *et al.*, 1989a)、少なくとも精子を介した垂直感染は起こり得ないと考えられている。

本研究では、IHNの防除技術として種苗生産地で実施すべき発眼卵および器具類の消毒、管理者が日常行うべき飼育環境の改善、飼育用水の殺菌技術の開発について研究し、マス類の養魚場で必要な防疫対策を講じることによりIHNウイルス汚染地区でも種苗生産が可能であることをしめすとともに、養魚場への応用を試みた。まず、第一章では、長野県におけるIHNの概要を知るため、初発生事例のウイルス学的検査によるIHN確定診断の経過、1974年から3年間の発病状況を精査し、多くの診断事例から病魚症状を出現頻度別に分類し、養殖現場での推定診断の可能性について検討した。また、診断件数の経年変化および種苗の流通実態調査から種苗の輸送に伴うIHNの伝播の可能性を指摘した。次いで第

二章では、環境要因とIHNの発病の関係について検討した。まず、発病事例から飼育水温とIHNの発病について解析し、さらに大型魚での発病要因を明らかにすることを目的に民間養魚場の実態調査を行い、飼育環境や飼育条件の悪化によりIHNの発病を惹起する可能性のあることを示した。さらに第三章では、感染源となるIHNウイルスの動向について調査し、またIHNウイルス汚染水でふ化飼育実験により飼育用水が重要な感染源となること、IHN感染耐過親魚のウイルス保有状況調査により卵が感染源となり得ることを示した。さらに、感染実験によりウイルス量や魚の大きさと感染発病との関係について検討した。また第四章では、種々の環境条件下でのIHNウイルスの生存性、各種消毒薬の殺ウイルス効果について検討し、さらに、発眼卵の消毒法、養魚用水の殺菌技術等養殖現場で利用できる防除技術の開発を行った。第五章ではこれまでの結果をふまえ、養魚施設での外照式紫外線殺菌灯を用いた養魚用水の殺菌やその他の防疫対策の実施効果について検討し、開発した防除技術の有効性を示した。さらに、ウイルス病対策として、新たなウイルス病の侵入に備えたリスク評価等が必要になると考えられることから、リスク評価を実施するためのデータ収集として大規模な同居感染実験を行い、それに基づいて離散型SIRモデルによるIHNの伝播の特徴を明らかにした。

## 第一章 長野県におけるIHNの発生経過

わが国で初めてIHNが発病したのは、1971年北海道のベニザケおよびヒメマス稚魚の事例であるが(木村, 1975)、それから3年経過した1974年、長野県、静岡県など養殖ニジマスの主産県で突発的に発病した。ニジマス養殖業界では、本症のように伝染力が強く、死亡率の高い疾病は経験したことがなく、伝染防止のための対策と無病種苗の確保で混乱した。

高い死亡率と体側筋の出血を主徴とする症状は、既知の情報からIHNの疑いがもたれた。当時、全国の地方水産試験場では数県で培養細胞によるウイルス分離が行われるようになった段階で、既存のウイルス病であるIPNの検査は実施されていたが、本症例は明らかにIPNと異なるCPEを示したものの水産試験場では確定診断はできなかった。しかし、長野県では発病した養魚場の周辺に多くの養魚場があることから他への伝染を防ぐために、この養魚場の稚魚はすべて殺処分するよう指導した。ところが同様の発症事例はこれとほぼ同時期の同年1月から2月にかけて同町内並びに隣接地区で8件、約80km離れた地区で1件が観察され、本症の拡大が憂慮される状況となった。

本章では、本疾病の確定診断を行うとともに発病の経過を明らかにし、その後の発病動向を詳述した。また、伝染源や伝染経路についての疫学調査から伝染防止のための防疫対策の必要性について述べた。

第一節では、1974年から3年間の発病事例について発病時の水温、発病サイズ、症状、死亡率等を精査する一方、本病をIHNと診断した経緯について述べ、また、県内における発病地区拡大の状況について詳述した。第二節では、初発生から21年間の長野県水産試験場のIHN診断記録を解析し、特徴的な症状を発病サイズにより分類することにより、養殖現場で簡易推定診断が可能であることを示した。第三節では、長野県のIHNの年次別発病件数の変化を全国と比較するほか、発病の季節的变化、発病時の魚の大きさの変化からIHNの発病動向を解析した。第四節は、種卵・種苗の流通とIHNの伝播に関する疫学的調査を行い、発眼卵や稚魚の導入により伝播したと考えられる事例、対策によりこれを阻止できた事例を示し、防疫対策の必要性と有効性を明らかにした。

### 第一節 長野県におけるIHNの発生経過と実態解明

#### 目 的

1974年1月初旬、長野県明科町の民間のニジマス養殖魚場で、餌付け後10日程経過した稚魚に大量死が起った。死亡の始まりは、前月12月30日頃からみられた。死亡魚の体側の筋肉には、筋節に沿って線状ないしV字状の出血を特徴とする症状が観察された。日間死亡率は5%を越え、数日のうちに80%以上が死亡する状況になった。これらの死亡魚から通常実施する魚病検査では細菌および寄生虫は検出されず、主徴である筋肉出血はこれまでの本県における診断事例では観察されることがない症状であった。本節では、長野県におけるIHNの発生初期の実態を明らかにするため、1974年から1976年までの発生事例を精査し、初発生事例の推定診断から確定診断にいたる経過を明らかにした。その後3年間の全事例を調査し、病魚の遊泳状況、外観症状、解剖所見等症状について細部にわたる観察と記録を行った。また、県内の主要なニジマス養殖地区に発病が拡大した経緯について調査した。

#### 材料と方法

調査期間と調査方法：

調査期間は、初発生年である1974年は1月～12月、第2年次は1974年11月～1975年12月に、第3年次は1975年11月～1976年12月とした。これは調査対象を0年魚としたことから、毎年新しく生産される稚魚は、11月から翌年2月に調査対象となり、その後約1年間を調査対象としたことによる。調査は県下のマス類養殖場の巡回調査のほか、異常な死亡事例があった場合に養魚場からの連絡を受けて行う現地調査および魚病診断のため、水産試験場に検査魚が持ち込まれた際の聞き取りを行った。現地では、異常のあった飼育群から診断用の魚をサンプリングするほか、飼育池での魚の状況を観察し、飼育魚種および尾数、異常発生時の水温について調査し、実験室では魚の症状の観察と魚病検査を行った。また、異常の終息時の歩留りについて聞き取り調査を実施した。

供試魚：

供試魚は養殖場で直接採取し、生かしたままあるいは氷蔵して持ち帰ったものおよび魚病診断のため水産試験場に持ち込まれたものである。サンプルは入手後直ちに検査に供したが、ウイルス検査用のサンプルの一部は実験に供するまで - 80 に凍結保存した。

病魚の診断：

症状の観察 観察用の魚はひん死魚または死亡直後の魚を用い、1事例につき5～10尾、供試魚がふ化仔魚や1g未満の小型魚の場合は20尾程度を用いた。観察は外部症状および開腹し内部症状を肉眼又は10倍程度の拡大鏡を用いて通常の魚病診断時に実施する項目について行った。飼育池での状況を表す項目については現地調査を除き、飼育者からの聞き取りによった。

ウイルス検査のための試料の調製：

供試魚体重が約0.5g以下の稚魚は全魚体を、約5g以下の稚魚は腎臓を含む内臓全体を、それ以上は腎臓、脾臓、膵臓を含む幽門垂の各一部を切り取り試料とした。試料は5尾分を1検体とし、魚体および内臓は乳鉢で磨砕した後、Hanks' Balanced Salt Solution (Hanks' B S S) に懸濁し、3,000rpm 10分間の遠心分離を行った。この上澄を0.45μm孔径のメンブランフィルター(ミリポアHA)で濾過し接種液とした。

ウイルス検査と同定：

ウイルス検査にはRTG-2またはFHM細胞を用いた。各細胞の培養には10%牛胎児血清(GIBCO)、100 I.U./m ペニシリンおよび100μg/m ストレプトマイシンを添加したEagleのMinimum Essential Medium(GIBCO MEM)を用いた。細胞はスクリュウキャップ付きのガラス試験管に1mの培地を入れ、約80%の繁茂状態になった時に検査に供した。接種液は細胞に0.1mずつ接種し、15で10日間培養を行い、その間に細胞変性効果(Cytopathic Effect: CPE)の発現を観察した。分離したウイルスは、IPNVウイルスおよびIHNVウイルスに対する家兎抗血清で定性的中和試験を行う一方、北海道大学水産学部微生物学教室に依頼し、IPNVウイルス、IHNVウイルスおよびウイルス性出血性敗血症(VHS)ウイルスに対する家兎抗血清で中和試験を行い、この結果とCPEの形態から同定した。また、一部について東京水産大学にも診断を依頼した。

その他の病原体調査：

ウイルス以外の病原体調査として、細菌、寄生虫および真菌の検査を実施した。細菌検査は鰓を対象にした外部寄生性細菌および腎臓からの細菌分離を行った。外部寄生性細菌は鰓の生標本の顕微鏡観察を行うほか、塗末標本を作り、Piffer液またはメチレンブルーで単染色を施し顕鏡した。腎臓からの細菌検査は、魚体重が約0.5g以上のものについて腎臓組織の生標本および単染色した塗末標本を顕微鏡観察するとともに、常法により白金耳で腎臓組織片を採取し、普通寒天またはBHI寒天平板培地に接種した。接種後は20で3日間培養した。寄生虫検査は、大型寄生虫について体表、鱗、口腔内、鰓および鰓蓋内側の肉眼観察を行い、その他の寄生虫については、鰓および体表の粘液について顕微鏡観察を行った。鰓は二次鰓弁の一部を切り取り、体表の粘液は多量に分泌されている場合にその粘液を掻き取り検鏡用の生標本とし、100倍の生物顕微鏡で観察した。真菌検査は体表に寄生する水カビは肉眼で、腹腔内に寄生するカビは生標本を100倍の生物顕微鏡で観察した。

## 結 果

各年の発病の概要：

初発年から3年間の発病事例を年度毎に表4～6に示した。

第1年次(1974年1月～12月)：

長野県におけるIHNVの初発年は1974年1月上旬に明科町の民間養魚場で、餌付け後10日経過したニジマス17万尾の飼育群であった。同時に飼育していた他の飼育群にも伝染し、ニジマス、ヤマメ合わせて98万尾に発病した。突発的な発病で数日のうちに80%が死亡した。病魚の症状およびウイルス分離の結果からIHNVが疑われたため、これらの群は全量殺処分した。その後近隣のニジマス養魚場で発病が相次ぎ、同年2月までに県内で10例が報告された(表4)。3月以降12月まで発病は見られなかった。10例の合計被害量は644万尾となった。発病時の大きさは0.1gのふ化仔魚から0.5gの稚魚で、各事例の被害率は40～95%に達した。水温は9～13の範囲であった。発病魚種はニジマスとヤマメであった。

第2年次(1974年11月～1975年12月)：

1974年12月から翌年5月まで35件の発病が報告された。全体の被害量は2,137万尾に達した。一部については死亡率が不明のまま処分されたり、他の飼育群と混養したため記録のない事例があった。被害量の明らかな20例について表5に示した。発病時の大きさは0.1～1.5g

表4 IHN発生第1年次(昭和48年産稚魚)の発病事例

発生池	発病時期	所在地	魚種	発病サイズ (g)	飼育量 万尾	被害量 万尾	被害率 %	用水	発病時水温 ( )	ウイルス検査	備考
1	'74 1	明科町	ニジマス	0.1	98	98	100	湧水	9~11	+	殺処分
2	'74 1	"	ニジマス	0.2	60	70	86	"	10.7	+	
3	'74 1	松本市	ニジマス	0.2	53	50	95	"	12.0	+	
4	'74 1	明科町	ニジマス	0.1	168	160	95	"	10~11	+	
5	'74 1	信濃町	ヤマメ	0.1~0.5	51	46	90	"	9~10	+	
6	'74 2	松本市	ニジマス	0.2	30	20	67	"	12.5	+	
7	'74 2	穂高町	ニジマス	0.15	78	70	90	"	10.5	+	
8	'74 2	"	ニジマス	0.2	20	10	50	"	11~12	+	
9	'74 2	明科町	ニジマス	0.2	100	70	70	"	10~13	+	
10	'74 2	"	ニジマス	0.3	125	50	40	"	10~13	+	

表5 IHN発生第2年次(昭和49年産稚魚)の発病事例

発生池	発病時期	所在地	魚種	発病サイズ (g)	飼育量 万尾	被害量 万尾	被害率 %	用水	発病時水温 ( )	ウイルス検査	備考
1	'74 11	八千穂村	ニジマス	0.1	5	5	100	湧水	11.0	+	殺処分
2	'74 12	八千穂村	ニジマス	0.15	30	25	83	湧水	11.0	+	
3	'74 12	松本市	ニジマス	0.25	20	20	100	湧水	9.5	+	殺処分
4	'75 1	穂高町	ニジマス	0.2~0.5	200	160	80	湧水	11.0	+	
5	'75 1	豊科町	ニジマス	0.2	15	15	100	湧水	11.5	+	殺処分
6	'75 1	穂高町	ニジマス	0.2~0.4	115	60	52	湧水	11.5	+	
7	'75 1	穂高町	ニジマス	0.1~0.8	100	65	65	湧水	12.0	+	
8	'75 1	明科町	ニジマス	0.2	70	70	95	湧水	10.7	+	
9	'75 1	明科町	ニジマス	0.15	25	20	80	湧水	10.5	+	
10	'75 2	穂高町	ニジマス	0.2	110	65	59	湧水	11.0	+	
11	'75 2	穂高町	ニジマス	0.15~0.2	10	10	100	湧水	11.8	+	殺処分
12	'75 2	穂高町	ニジマス	0.15~0.2	90	35	39	湧水	11.5	+	
13	'75 2	穂高町	ニジマス	0.4	45	28	62	湧水	10.6	+	
14	'75 2	穂高町	ニジマス	0.3	50	25	50	湧水	10.9	+	
15	'75 2	軽井沢町	ニジマス	0.3~0.5	148	110	74	湧水	8.5	+	
16	'75 2	明科町	ニジマス	0.15	25	20	80	湧水	10.5	+	
17	'75 2	明科町	ニジマス	0.3~0.5	20	20	100	湧水	9~11	+	殺処分
18	'75 3	穂高町	ニジマス	1.0~1.5	18	12	67	湧水	12.0	+	
19	'75 3	穂高町	ニジマス	0.5	30	28	93	湧水	11.0	+	
20	'75 3	奈川村	ニジマス	0.75	10	8	80	湧水	8.5	+	



表6 IHN発生第3年次(昭和50年産稚魚)の発病事例

発生池	発病時期	所在地	魚種	発病サイズ (g)	飼育量 万尾	被害量 万尾	被害率 %	用水	発病時水温 ( )	ウイルス検査	備考
1	'76 1	四賀村	ニジマス	0.6	60	60	100	湧水	6.0	+	殺処分
2	'76 2	明科町	ニジマス	2.5	27	13	48	湧水	10.5	+	
3	'76 2	穂高町	ニジマス	2.4	20	10	50	湧水	7.0	+	
4	'76 2	穂高町	ニジマス	3.0~7.0	20	10	50	湧水	12.0	+	
5	'76 2	茅野市	ニジマス	0.2	20	16	80	湧水	11.5	+	
6	'76 2	佐久市	ニジマス	0.2	100	100	100	湧水	8.5	+	殺処分
7	'76 2	明科町	ニジマス	0.1	120	118	98	湧水	9.0	+	
8	'76 3	穂高町	ニジマス	9.0	12	3	25	湧水	11.0	+	
9	'76 3	穂高町	ニジマス	1.9	7	3	43	湧水	13.5	+	
10	'76 3	佐久市	ニジマス	0.1	2	2	100	湧水	10.5	+	殺処分
11	'76 3	佐久市	ニジマス	3.0~10.0	5	2	40	河川	5~9	+	
12	'76 3	佐久市	ニジマス	3.0~10.0	5	1	20	河川	5~9	+	
13	'76 4	明科町	ニジマス	2.5	55	27	50	湧水	11.5	+	
14	'76 4	穂高町	ニジマス	3.5	16	2	13	湧水	11.0	+	
15	'76 4	穂高町	ニジマス	5.0	8	2	25	湧水	12.0	+	
16	'76 4	穂高町	ニジマス	7.0	3	1	33	井戸	14.0	+	
17	'76 4	松本市	ニジマス	3.5~4.5	60	30	50	湧水	12.5	+	
18	'76 4	佐久市	ニジマス	1.6~3.4	3	7.5	40	河川	5~11	+	
19	'76 4	臼田町	ニジマス	1.5~3.1	13	2	15	河川	5~11	+	
20	'76 4	穂高町	ニジマス	4.0	40	10	25	湧水	12.5	+	
21	'76 5	穂高町	ニジマス	1.7	15	5	33	湧水	11.0	+	
22	'76 5	穂高町	ニジマス	1.8	9	4	45	湧水	12.0	+	
23	'76 6	大桑村	ニジマス	3.0	6.5	1	15	湧水	10.5	+	
24	'76 6	松本市	ニジマス	1.8	10	2	20	湧水	12.5	+	
25	'76 6	信濃町	ニジマス	1.5~4.7	30	5	17	湧水	12.0	+	
26	'76 6	山之内	ニジマス	1.5	10	1	10	湧水	11.0	+	
27	'76 6	穂高町	ニジマス	0.4	10	8	80	湧水	12.0	+	
28	'76 7	白馬村	ニジマス	2.0	5	1	20	湧水	11.0	+	
29	'76 7	開田村	アマゴ	3.5	2	1	50	湧水	8.0	+	
30	'76 8	小谷村	ニジマス	0.9	17	10	59	河川	13.5	+	
31	'76 9	大鹿村	ニジマス	4.0	8	2.5	31	湧水	12.5	+	

で、全量を殺処分した事例が5例あり、他の15例についてみると被害率は39～95%であった。水温は8.5～12の範囲であった。発病魚種はニジマスのみであった。

第3年次(1975年11月～1976年12月):

1976年1月から10月までに38件が報告された。被害量合計は984万尾であった。被害量の明らかな31例を表6に示した。発病は1月から10月までで発病時の大きさは0.1～10.0g、被害率は、全量を殺処分した2例を除くと10～98%であった。水温は5～13.5の範囲であった。発病魚種はニジマスの他に初めてアマゴで2件確認された。

病魚の診断:

飼育池での病魚の状態:

病魚は体色が黒化し、動きが鈍くなる。池底に静かに横たわり、時々反転または横になってゆっくり回転するように浮遊する。最後は水流に押し流されるように、排水部に押しつけられ死亡する。不透明な糞を肛門につけたまま泳ぐ個体も見られる。

死亡魚の出現状況と特徴的な症状:

本病に罹った魚群は、死亡開始後急激に死亡率が上昇し、ほぼ2週間後までは死亡率が高く、その後さらに3～4週間ほど少数の死亡魚が見られる。日間死亡率は、死亡開始後5～10日目が高率で5%以上に達することもある。

本病の特徴的な症状として、尻鰭上部の側側を中心に筋節に沿って長さ3～5mmの線状またはV字状の出血斑が1～数本見られる。この出血斑は日間死亡率の高い5～10日目の死亡魚に多く出現する。ふ化仔魚では、さい囊表面や筋肉部に出血斑が見られる。鰓は褪色して著しい貧血状態になる。

発病後1週間を経過する頃から腹水貯留により腹部膨満を呈する個体、眼球が突出する個体が増加する。ふ化仔魚に発病した場合にはさい囊に出血斑が見られる。

ウイルス検査とIHNの同定:

第1年度10例、第2年度35例、第3年度38例のいずれも病魚はIHNの症状を示し、細胞培養を用いたウイルス検査では、核が丸く膨らみ、細胞が円形化し房状に集合するIHN特有のCPEが観察された。北海道大学水産学部に診断を依頼した3株(HV74-1、HV74-2、HV74-8)は、中和試験の結果いずれも抗IHN血清で中和され、IHNウイルスと同定された。ウイルス感染価は $10^{5.8}$

$\sim 10^{6.3}$ TCID<sub>50</sub>/mであった。また、東京水産大学で実施した抗IHN血清による定性的中和試験の結果IHNと診断された。

ウイルス病以外の診断:

鰓の検査により一部の魚から原虫類や細菌性鰓病細菌の検出された事例が見られたが、魚を死に至らしめるほど重篤ではなかった。一部の事例では、発病群にサルファ剤(スルファミトキシ、スルフィゾール)、抗生物質(カラムフェニール)を投与したが死亡魚は減少しなかった。

発病地区の状況:

発病事例を第1年次から順次長野県の地域図上に市町村別に示した(図1)。第1年次は松本市、明科町、穂高町および信濃町の4市町であったが、第2年次は初年次の発生市町村に加え佐久市、豊科町、南木曾町、軽井沢町、立科町、波田町、八千穂村および奈川村で発病し12市町村で確認された。第3年次は既発病地のうち5市町村で発生が見られなかったものの新たに、茅野市、臼田町、木曾福島町、大桑村、大鹿村、小谷村、開田村、木島平村、四賀村および白馬村で発病し17市町村で発病した。3年間で合計22市町村で発病した。なお1973年当時、県内の市町村数は123でマス類養殖業者のある市町村は59である。

## 考 察

長野県におけるIHNの発生確認は、1974年1月初旬に明科町の民間養魚場で飼育されていたニジマスの稚魚であった。本事例は、病魚の症状と培養細胞を用いたウイルス分離結果、北海道大学水産学部に依頼した診断、さらに東京水産大学による診断結果(Sano *et al.* 1977)によりIHNと同定された。

調査した初年度から3年間の発生地区の状況は次のとおりであった。初発生年の1974年は1月および2月に10件が発病し、このうち9件は本県ニジマス養殖の主産地である明科町、穂高町、松本市の県中央部に集中した。翌年生産された稚魚は1974年12月から1975年5月にかけて35件が12市町村に、3年目は1975年11月から1976年9月にかけて38件が、17市町村に発病した。図1に示すように3年間の発病地区の拡大は急激で長野県のほぼ全域におよび、主な養鱒地域すべてで発病が確認された。このように短期間のうちに汚染地域が県内全域に拡大した理由は、IHNが強い感染力を持っていることおよびニジマス養殖ではこれまで予防・防疫の概念が希薄



1974年  
(1974.1~2)



1975年  
(1974.11~1975.5)



1976年  
(1976.1~9)

図1 IHN初発生から3年間の長野県下における発病地区の拡大  
 ( )内は同一産卵期に生産された種苗のIHN発病時期  
 x 印は発病事例

で、日常の飼育管理における消毒は実施されず、発眼や稚魚の輸送にともなう病原体の伝播の対策もなく、新しい魚病の侵入に対しほとんど無防備であったことによると考えられる。長野県では、これまでに養殖ニジマスに大きな被害を与えた伝染病の発病は、1965年頃から発生したIPN（伝染性臍臓壊死症）（山崎ら,1976；Sano,1971；山崎,1990）および1970年代初めにみられたピブリオ病（田代・山崎,1976）がある。両病ともに県下全域に伝播したが、IHNの被害量はこれらをはるかにしのぎ、防疫対策の必要性が広く認識されるきっかけになった。

発病時の魚の大きさと死亡率を表4～6に示した61例を魚体重別に分類し、表7に示した。発病時の体重を1g未満、1g以上2g未満、2g以上に分けると、初発生年は10例とも1g未満（0.5g以下）であったが、2年目には1.5gサイズで発病し、3年目には平均9.0gの大型稚魚での発病も見られた。IHNの被害に関して、稚魚の死亡率の高いことはよく知られており（Ross *et al.*,1960；Parisot *et al.*,1965；Amend *et al.*1969）、本調査事例でも死亡率は発病時の体重が1g未満では77.2%、2g未満では39.1%、2g以上では36.8%となり、魚体重が1g未満では極めて高い死亡率であることが明らかになった。1g未満魚のうち、ふ化仔魚では発病後殺処分する例が多くみられた。IHNはニジマス稚魚に対して感染力が強く、死亡率が高いことが明らかになると、養殖業界も防疫対策の必要性を理解し、指導機関による養魚者個々の指導だけでなく、地域単位での組

織的な対応の必要性も認められた。全国湖沼河川養殖研究会養鱒部会では、1974年6月魚病臨時分科会を開催し、診断方法の統一、防疫対策を策定する一方、ポリビニールピロリドンヨード剤（PVP-ヨード剤）による発眼卵消毒法を決定し、各県の指導機関は養殖業者の指導を始めた（山崎・原,1976）。

長野県ではIHNの発病2年目にあたる1975年には、年間に県内で必要とする種苗の40%に相当する2,137万尾が死亡する事態となった（長野県,1979）。不足分を補うため、県内外からの種苗導入が増加したことから、種苗の輸送に伴うIHNの伝播と県内未侵入魚病の発生が危惧された。ニジマス養殖業界では、IHNの汚染の恐れのない深井戸を利用した屋内施設や山間地に新しいふ化場を作り種苗生産を始めたが、消毒に関する知識が乏しく、IHN発病地域の一層の拡大を招いた。

1970年代前半、長野県のニジマスの種苗生産は、採卵が10月から翌年2月にかけて行われることから稚魚の育成は11月から行われていた。このため、IHNの調査は、新しい稚魚の飼育が始まる11月頃から約1年間実施していた。しかし、このころから人為的な産卵期調整技術が普及するとともに選抜育種により、早期卵、後期卵と呼ばれる9～10月および4～5月の発眼卵の生産が増加し、さらに5～6月にかけ北海道産の発眼卵の導入も多くなり、稚魚生産は周年行われるようになった。この結果、年間を通して稚魚期のIHNの発病が観察されるようになった。

表7 初発生から3年間のIHN発病時の体重別死亡率

発病時の平均体重		1g未満魚	1g以上2g未満魚	2g以上
1974	発病件数(件)	10		
	飼育尾数(万尾)	793		
	死亡尾数(万尾)	634		
	死亡率(%)	79.9		
	体重の範囲(g)	(0.1-0.5)		
1975	発病件数(件)	19	1	
	飼育尾数(万尾)	1,118	18	
	死亡尾数(万尾)	789	12	
	死亡率(%)	70.5	66.7	
	体重の範囲(g)	(0.1-0.8)	(1.0-1.5)	
1976	発病件数(件)	7	5	19
	飼育尾数(万尾)	329	51	335.5
	死亡尾数(万尾)	305.8	15	123.5
	死亡率(%)	92.9	29.4	36.8
	体重の範囲(g)	(0.1-0.6)	(1.5-1.9)	(2.3-9.0)
合計	発病件数(件)	36	6	19
	飼育尾数(万尾)	2,240	69	335.5
	死亡尾数(万尾)	1,728.8	27	123.5
	死亡率(%)	77.2	39.1	36.8

## 第二節 養殖現場における簡易診断法

### 目 的

養殖現場で魚病診断を行う指導機関は、養魚者に対し診断に基づく迅速な指導が求められていることから、推定診断の段階で対策を指示するのが一般的である。このため確定診断の作業を進める一方で、精度の高い推定診断が必要である。発病魚群の経歴、飼育環境、病魚の症状は推定診断のための重要な調査項目となる。本節では長野県水産試験場でIHNと診断した事例の解析を行い、養殖現場で推定診断に必要な症状について考察した。

### 材料と方法

1974年から1994年までの21年間に長野県水産試験場で診断した事例のうちニジマスおよびアマゴについて調査した。調査は魚病診断表を精査することによったが、診断に供試した病魚の採取から診断までの取り扱いが適正で、症状の観察が十分に実施されている事例とした。

供試魚：

第一章第一節で実施した方法と同様である。

病魚の症状の観察：

第一章第一節で実施した方法と同様である。

魚病の診断：

第一章第一節で実施した方法に準じたが、ウイルス検査に用いた株化細胞はRTG-2細胞またはFHM細胞を用いた。また、ウイルス以外の病原体検査のうち、真菌の *Ichthyophonus* sp. の検査は腎臓および肝臓組織の圧偏標本を40~100倍で顕微鏡観察した。

### 結 果

魚病診断：

1974年から1994年の間におけるニジマスの診断件数は1,050件あった。IHNウイルスが分離された事例は388件で全体の37%を占めたが、このうち27件はIHNの症状とともに他の疾病の症状があり、IHNウイルス以外の病原体が検出されたことから混合感染とし、残り361件をIHNと診断した。その他はIPNおよびIPNと他の疾病の混合感染が77件(7.3%)、細菌病および

それらの混合感染が252件(24%)、寄生虫病、真菌病およびその他の事例が333件(31.7%)であった。また、アマゴの診断件数は154件で、IHNは24件(15.6%)あり、その他はIPNが13件(8.4%)、細菌病が64件(41.6%)、寄生虫病、真菌病およびその他が53件(34.4%)であった。

IHNと診断したニジマス361件のうち、飼育状況および病魚の症状の記録が明確な248件を病魚の症状の観察に用いた。なお、248件中IHNウイルス以外の病原体が検出された事例は17件あり、寄生虫病が12件、細菌病が5件であった。寄生虫病はコスティア症、トリコディナ症、キロドネラ症および白点虫症でいずれも鰓の検鏡で検出された。寄生虫の寄生量は極くわずかで、これらが引き起こす症状はみられないことから、IHNが主要原因と考えられた。細菌病は細菌性鰓病細菌の検出が4件、ピブリオ病原菌の検出が1件あった。鰓から検出された細菌性鰓病細菌の寄生量はわずかで同病の症状はみられず、また、腎臓からピブリオ菌の検出された1例ではピブリオ病の症状は観察されないことからIHNと診断した。真菌類が検出された事例はなかった。

アマゴはニジマスと同様にIHNと診断した24件中、23件を症状の観察に用いた。これらの事例では寄生虫、細菌および真菌は検出されなかった。

IHNの症状：

ニジマスの事例248件のうち、出現頻度が40%以上の症状は、鰓の褪色86.3%、鰓の線・点状出血59.3%、肝臓の褪色59.3%、腎臓の褪色49.2%、筋肉の線・V字状出血46.4%であり、20%以上出現した症状は腎臓の出血38.3%、眼球突出32.7%、背鰭のスレ28.6%、胃に水様物・粘液の貯留25.0%、腹部膨満21.8%であった。その他体色の黒化、腸管内に粘液物、眼球周囲出血等もみられ、頻度は少ないが粘液便の懸着が観察された。図2にはIHNに罹病したニジマス稚魚にみられる筋肉出血、成魚にみられる鰓の褪色と出血、肝・腎臓の褪色を示した。アマゴもニジマスと同様の症状を示し、出現頻度が40%以上を示した症状は、鰓の褪色82.6%、鰓の線・点状出血56.5%、肝臓の褪色および筋肉の線・V字状出血が52.2%であった。さらに、眼球突出、腎臓の褪色、胃に水様物の貯留が34.8%、体色黒化、腎臓の出血30.4%、腹部膨満、腸管の出血、腸管内に粘液物が26.1%、眼球周囲出血、肝臓の出血17.4%であった。両魚種とも、病魚の大きさによって出現頻度の異なる症状がみられた。

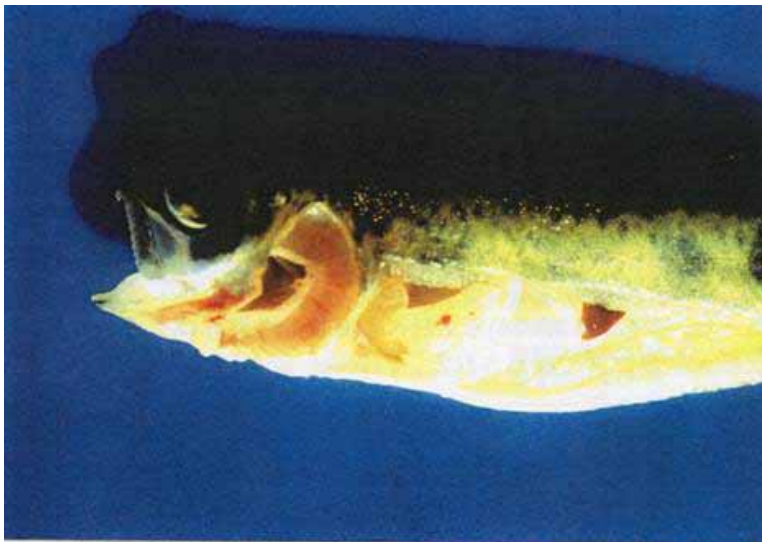


図2 IHN病魚の症状

写真上 稚魚の筋肉出血

下 成魚の鰓の退色と出血、肝臓の退色、脂肪組織の出血斑

考 察

養殖現場では、迅速な診断とともにその場で対策を指導する必要があり、推定診断のための症状の観察は重要である。病魚の症状に関しては、Rucker *et al.* (1953)、Watson *et al.* (1954)、Ross *et al.* (1960)、Parisot *et al.* (1965)、Amend *et al.* (1969)、Sano *et al.* (1977)、Pilcher and Fryer (1980)など多くの報告があり、これらの記載と本調査で得られたニジマスおよびアマゴの症状は多くの点で一致した。また、大型魚にみられる症状については、吉水(1989)、森ら(1987)、中居ら(1993)の報告があり、鰓・内臓諸器官の褪色、出血などのほか、大型魚特有の症状として腹膜、脂肪組織の出血斑がみとめられている。本症は造血器の壊死を特徴とすることから、各器官の貧血が特徴的であるが、その他の症状も多く、推定診断に有効と考えられる症状も多くみられる。

本調査で観察された症状の中には発病魚の大きさによ

って出現頻度が異なり、診断の目安となる特徴的な症状があることから、ニジマスの発病事例を用い発病時の大きさと症状の関係を検討した。発病時の体重により分類した症状別の頻度を表8に、魚体重別の出現傾向を図3～5に示した。魚体重の区分は、IHNの感受性が高く主に種苗生産施設内で飼育される2g未満魚、種苗として売買され多くの養殖場が飼育している2g以上5g未満魚、中苗とされる5g以上20g未満魚および成魚扱いとなる20g以上の4区分とした。248件を各体重別に区分すると2g未満魚から順に85、72、66および25件である。魚体重が2g未満では鰓の褪色、筋肉の線・V字状の出血が60%以上の頻度で見られた。2g以上5g未満では鰓の褪色が80%以上、肝臓の褪色が60%以上であった。5g以上では頻度の高い症状は20g以上と類似しており、鰓の褪色、鰓の出血は80%以上、肝臓、腎臓の褪色も高い出現率を示した。

表8 ニジマス発病時の体重別IHN症状の出現率(%)

魚体重g	X < 2 g	2 X < 5 g	5 X < 20 g	20 g X
出現率				
80%以上		鰓の褪色(93.1)	鰓の褪色(97.0) 鰓の出血(86.4)	鰓の褪色(100.0) 鰓の出血(88.0)
60%以上	鰓の褪色(68.2) 筋肉の出血(60.0)	肝臓の褪色(68.1)	肝臓の褪色(68.2) 腎臓の褪色(60.6)	肝臓の褪色(76.0)
40%以上	腹部膨満(48.9) 腎臓の出血(45.9) 肝臓の褪色(40.0) 腎臓の褪色(40.0)	鰓の出血(58.3) 腎臓の褪色(52.8) 眼球突出(41.7)	背鰭のスレ(47.0) 筋肉の出血(42.4)	筋肉の出血(48.0) 眼球突出(40.0) 腎臓の褪色(40.0)
20%以上	鰓の出血(30.6) 体色黒化(22.4) 眼球突出(21.2) 胃に水様物(20.0)	腎臓の出血(34.2) 筋肉出血(33.3) 背鰭のスレ(33.3) 胃に水様物(27.8) 腸管に粘液(26.2) 体色黒化(25.0) 肝臓の褪色(68.1)	腎臓出血(36.4) 眼球突出(34.8) 胃に水様物(30.3)	腸管に粘液(32.0) 体色黒化(28.0) 腎臓出血(28.0) 腸管出血(28.0) 背鰭のスレ(24.0) 脂肪組織出血(20.0) 胃に水様物(20.0)
20%未満 主な症状	腸管に粘液(17.6) 背鰭のスレ(11.8) 粘液便の懸着(7.1)	眼球周囲出血(16.7) 腹部膨満(12.5) 遊泳不活発(11.1) 胃の褪色(9.7) 腸管の出血(9.7)	腸管に粘液(16.7) 遊泳不活発(13.6) 眼球周囲出血(13.6) 体色黒化(12.1) 肝臓の出血(12.1) 心臓の褪色(10.6) 脂肪組織出血(10.6) 腸管の出血(9.1)	肝臓の出血(12.0) 眼球周囲出血(8.0) 心臓の褪色(8.0) 幽門垂の出血(8.0)

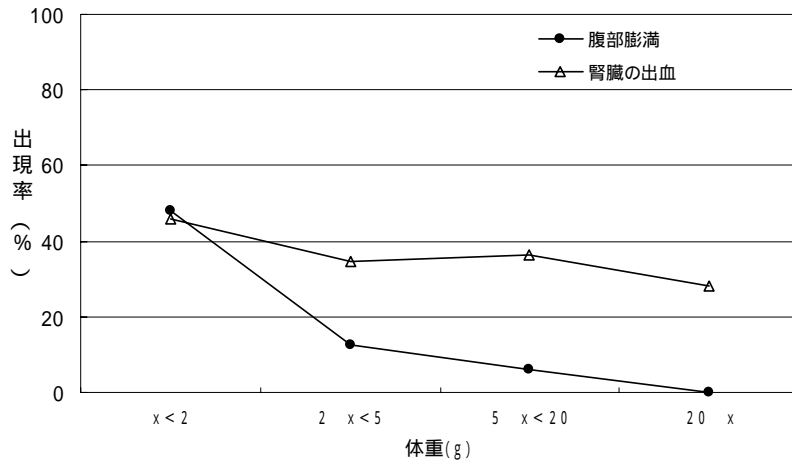


図3 稚魚期に出現率が高く、大型魚では出現率が低い症状

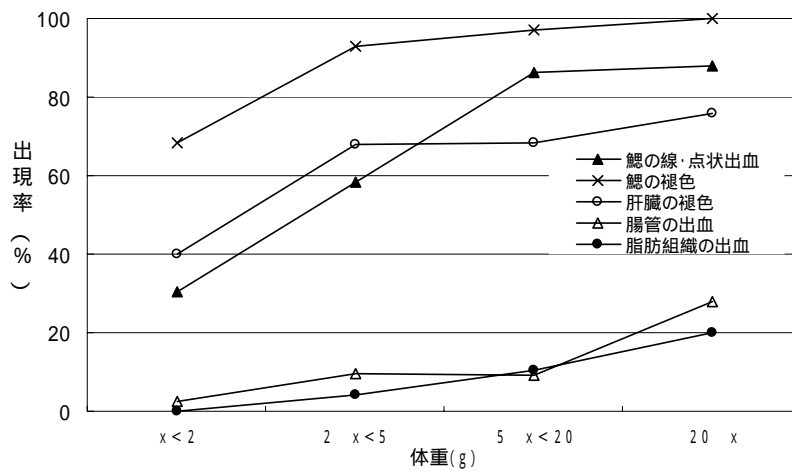


図4 稚魚期に出現率が低く、大型魚では出現率が高い症状

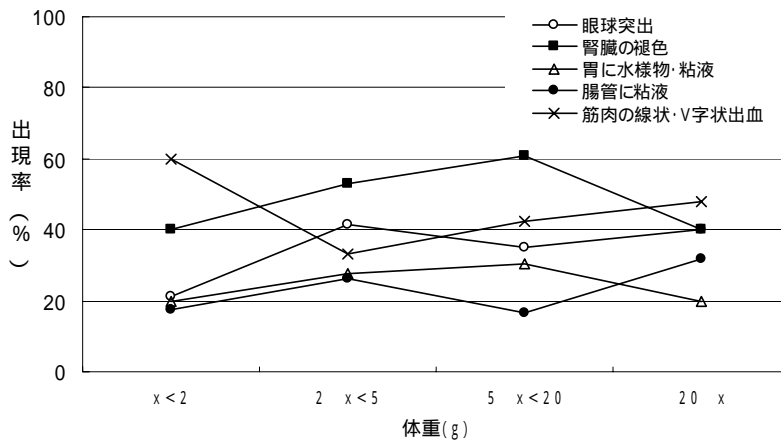


図5 稚魚期から大型魚まで出現率に差が見られない症状



図3に示したように、稚魚期に多く見られ大型になると少なくなるものには腎臓の出血、腹部膨満があり、腹部膨満は20gを越えると観察されなくなった。逆に大型魚になるに従い出現率が高くなる症状は2タイプあり、一つは稚魚でも頻度は高いが大型になるとさらに高くなるもの、二つ目は稚魚ではほとんど見られず大型魚で20~30%出現するもので、前者には鰓の褪色、鰓の線・点状出血、肝臓の褪色で、後者には腸管の出血、脂肪組織の出血斑がある(図4)。また、魚の大きさによって明確な傾向は見られないが、各サイズで20%以上の出現率を示したものは、肝臓の褪色、胃に水様物・粘液の貯留、腸管に粘液の貯留、眼球突出があった(図5)。

症状には本症特有のものや他の疾病と同様のものがあり、標本の採取から検査までの取り扱いに注意すべき点が認められた。すなわち、体色黒化や粘液便の懸着は、養魚池では普通に観察できるが、小型魚の場合は魚の体温変化や時間の経過で褪色したり、懸着している便は検

体採取時あるいは検査のための輸送中に離脱するものがある。また、筋肉の線状・V字状出血は、魚体重が0.5g以下の稚魚に大きな出血斑として見られるが、1gを越え体表に色素沈着が多くなると、外観からでは出血の確認が困難になる。このため病魚は光に透かせたり、二枚おろしにして筋肉を開いて観察する必要があった。さらに、症状からIHNと直接的な関係は少ないと考えられる背鰭のスレ症状は大型魚に多く観察された。Pilcher and Fryer(1980)の記載した脾臓の褪色は観察できなかった。

以上のことから養殖現場では、表9に示したように病魚の50%以上に出現する症状、すなわち、2g未満魚では鰓の褪色と筋肉の線状・V字状出血、2g以上の魚では鰓の褪色および出血、肝臓の褪色、腎臓の褪色が認められた事例についてはIHNの推定診断は可能と考えられた。

表9 ニジマスのIHNの推定診断に必要な病魚の症状

病魚の大きさ	2g未満	2g以上
症状	鰓の褪色 筋肉の線状、V字状出血	鰓の褪色と線状出血 肝臓の褪色 腎臓の褪色

### 第三節 長野県におけるIHNの発病動向の解析

#### 目 的

1974年に初めて長野県に発生したIHNは、本章第一節で述べたとおり、短期間のうちに県内ほぼ全域に汚染地区を広げ、ニジマス稚魚を中心に大きな被害を与えた。その後、種苗として流通している2~5gの稚魚に発病が増え、さらに大きな20g以上の養成魚での発病もみられるようになってきた。

本節では長野県のIHN初発生以来21年間の診断結果から発病の動向を、年次別発病件数、発病時期、発病時の魚の大きさの変化について解析、全国の発病件数と比較検討した。

#### 材料と方法

IHNの発病件数：

第二節で調査したニジマスのIHNおよびIHNと他の疾病との混合感染事例計388件の診断件数を発病件数とした。診断は養魚者の依頼に基づく現地における検査、水産試験場に持ち込まれた病魚の検査および県下養魚場の巡回指導時の検査によった。IHNの診断は、高死亡率の疾病として水産試験場が実施したことからほぼ発病実数と考えられる。

IHNの診断方法：

第一章第二節に述べた方法と同じである。

調査期間：

調査は1974年から1994年の21年間である。

調査対象養魚場：

対象となったマス類養魚場は、1974年は244経営体であった。

全国の発病状況：

全国の発病状況は、全国湖沼河川養殖研究会養鱒部会および部会が改組した全国養鱒技術協議会が実施したニジマス・在来マス類等の疾病実態調査の結果を取りまとめた。調査期間は1973年から1994年の22年間である。診断は参加33都道県水産試験場等が同部会および協議会の取り決めにしたがい実施したもので信頼性は高い。

同部会および同協議会では魚病診断に際して、1977年以前は、新しい稚魚が調査対象となる毎年10月から翌年9月までの一年間に診断した件数を10月を含む年度分とし、種苗生産が周年行われるようになった1978年以降は毎年4月から翌年3月までの1年間の診断件数を集計した。したがって、初発生の1974年1～3月の事例は1973年の発病に区分される。

## 結 果

長野県内のIHN発病件数の年次変化：

表10に1974～1994年の間に長野県下のマス類養魚場で発病したニジマスおよび在来マス類のIHN発病件数を、図6にニジマスの発病件数の年次変化を示した。

ニジマスは1974年に長野県の最初の発病事例として12件が確認され、翌1975年から3年間は1976年を頂点に各年30件を超え、流行の最盛期であった。その後5年間隔で1981年、1986年に26および24件のピークを迎えたが、1988年以降は10から15件前後を推移している。

在来マス類では、ヤマメは1974、1979、1983～1985に稚魚に発病したが、80年代後半になってヤマメの養魚場が減少するとともに発病は見られなくなった。一方、1970年頃から山間地を中心に養殖が行われるようになったアマゴの発病は継続して見られている。その他の魚種では、イワナ、ヒメマス、ギンザケおよびイワカワでの発病が確認された。

調査期間中対象となった長野県内のマス類養魚場は、1974年の244経営体から漸減し、1994年には202経営体となり約17%減少した。このうちニジマス養魚場は約80%を占めている。

全国のIHN発病件数の年次変化：

1973年～1994年間のニジマスのIHN発病件数および発病都道県数の年次変化を図7に示した。わが国でニジマスに初めてIHNの発病が確認されたのは、1974年に長野県、静岡県、栃木県および山梨県の養鱒主産県に発病した事例である。本症の全国への伝染は早く、2年後の1976年までに、発病は養鱒部会会員33都道県中24都道県に及んだ。発病のピークは1976、1981、1986

および1891年で5年ごとに4回出現した。

長野県発病事例の発病月および発病時魚体重の変化：

1974年から1994年間のニジマスの発病事例のうち1974～1977、1981、1986および1992年の事例について月別の発病件数および発病時の大きさの変化について図8、9に示した。1974年は1、2月および11、12月の稚魚生産期に限られていたが、1975年には3～5月にも発病がみられ、1977年以降は周年見られるようになった。この傾向はその後も継続した。

発病時の魚体の大きさの区分は、第一章第二節に示した症状の区分と同様に2g未満魚、2～5g未満魚、5～20g未満魚および20g以上に分類した。1974、1975年の発病はすべて2g未満であったが、1976年には20g未満魚に、1977年以降は20g以上の養成魚にも発病した。また、2g未満魚での発病件数は1976年以降減少した。

## 考 察

IHNは1974年の初発生から2年間で長野県内全域に汚染地が広がり、3年目の1976年の発病件数が最も多くなった。その後5年ごとに2回ピークが出現した。この傾向は全国の発病状況とよく似ており、3回のピークの出現年が一致した。

IHNの発病が全国的に拡大したのは長野県の状況と同様、初発生年から3年目の1976年には、全国の主要養鱒県に流行した。発病地区では防疫対策として、1975年からPVP-ヨード剤による発眼卵消毒が実施されたが、IHNは伝染力が強いという、種苗の流通が全国的に行われていたことから、対策が十分普及する間もなく流行したものと考えられた。

伝染病の流行が周期的に現れる現象を医学分野で循環変化(Cyclic fluctuation)と呼んでいる(松田,1964)。山崎(1990)はニジマス稚魚のIPNの流行に周期性のあることを認め、IPNの流行における循環変化であるとし、この周期が3、4年で親魚の成熟期間と一致することから、この循環変化は親から子への垂直感染によるものと考えた。IHNの流行については、長野県の状況と全国の状況は同様で、5年ごとにピークを迎える周期性のあることが明らかになった。周期性については、感染体である魚の感受性、ウイルスの病原性等の変化の検討が必要になるが、これに関しては知見が少なく、大型魚での発病が増加していること(森ら,1987;中居ら,1993)、血清型の異なるIHNウイルスの存在が示唆されること

(McCain *et al.*, 1971)などが報告されているにすぎない。今後の調査が必要と考えられる。

図8および9に示したように、1974・1975年の発病時の大きさはいずれも2g以下で、発病月は11～2月、12～5月と種苗生産期のみを発病していたが、次第に周年発病するようになるとともに大型魚での発病も増加してきた。周年発病に関しては、早期卵・後期卵と呼ばれる9～10月および4～5月に生産される発眼卵が流通するようになり、IHNに感受性の高い稚魚の飼育期間が

周年に拡大したことが考えられる。大型魚の発病に関しては、発病の周期性に関して述べたウイルスの病原性や魚の感受性の変化によるものと推定されるが、原因についての調査は行われていない。この傾向はその後も継続しているが、種苗生産施設で飼育される2g未満魚の発病件数は1976年以降低下した。このことは、種苗生産池で実施したヨード剤による発眼卵消毒、日常作業時の消毒など防疫対策の効果と考えられる。

表10 魚種別IHN診断件数(長野)

魚種	1974	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94
ニジマス 稚魚	12	35	36	31	17	19	19	24	5	8	17	20	23	18	12	9	8	9	14	10	14
ニジマス 成魚				1		1	2	2	6	3	1		1	1		2	5	1	1		1
ニジマス 計	12	35	36	32	17	20	21	26	11	11	18	20	24	19	12	11	13	10	15	10	15
ヤマメ 稚魚	1					3					1	2	2								
ヤマメ 成魚																					
ヤマメ 計	1					3					1	2	2								
アマゴ 稚魚			2	1	1	1	1	1	2	5			2	2		2				1	1
アマゴ 成魚																2					
アマゴ 計			2	1	1	1	1	1	2	5			2	2	2	2				1	1
イワナ 稚魚										1	1		4		2						
イワナ 成魚															1						
イワナ 計										1	1		4	1	2						
ヒメマス 稚魚											1										
ヒメマス 成魚																					
ヒメマス 計											1										
ギンザケ 稚魚																					
ギンザケ 成魚																					1
ギンザケ 計																					1
イワカワ 稚魚												1									

稚魚：ニジマスは20g未満、他は10g未満  
成魚：ニジマスは20g以上、他は10g以上

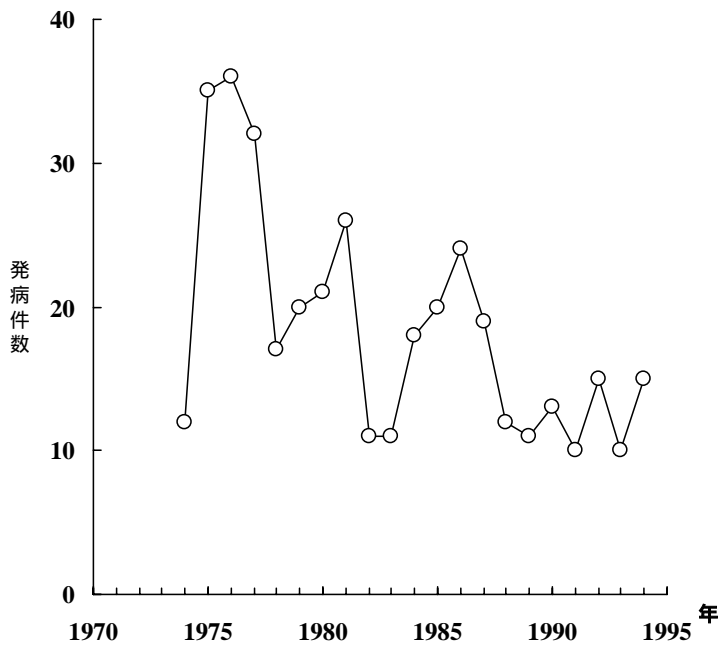


図6 長野県におけるニジマスのIHN発病件数の年次変化

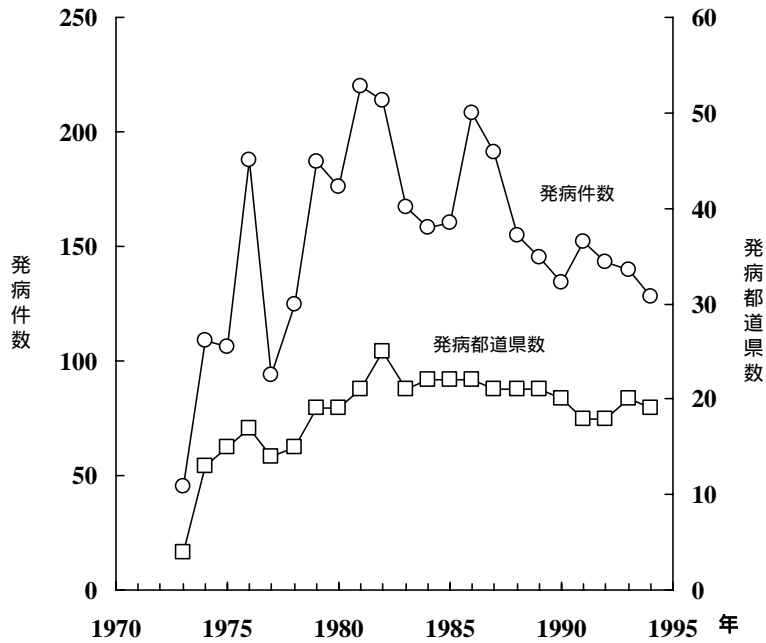


図7 全国におけるニジマスのIHN診断件数及び発病都道府県の年次変化

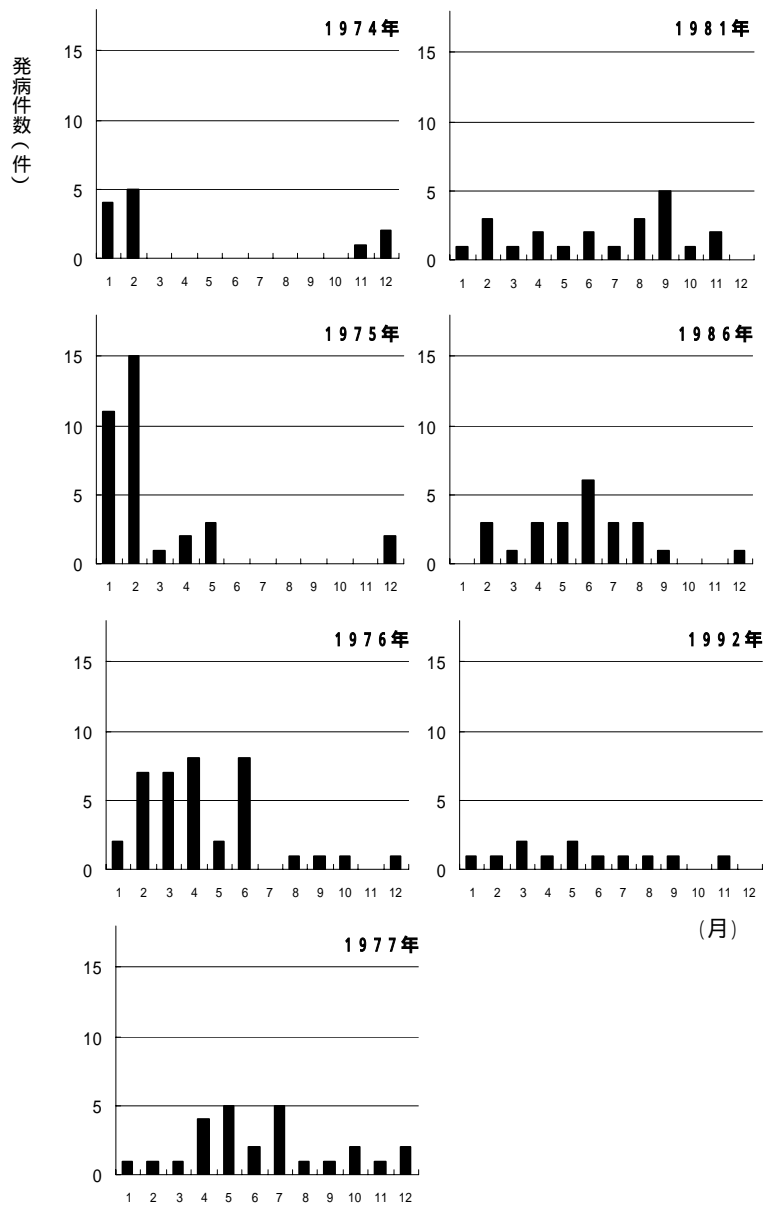


図8 長野県の主なIHN発病年の月別発病件数の推移(ニジマス)

縦軸は発病件数、横軸は月を示す

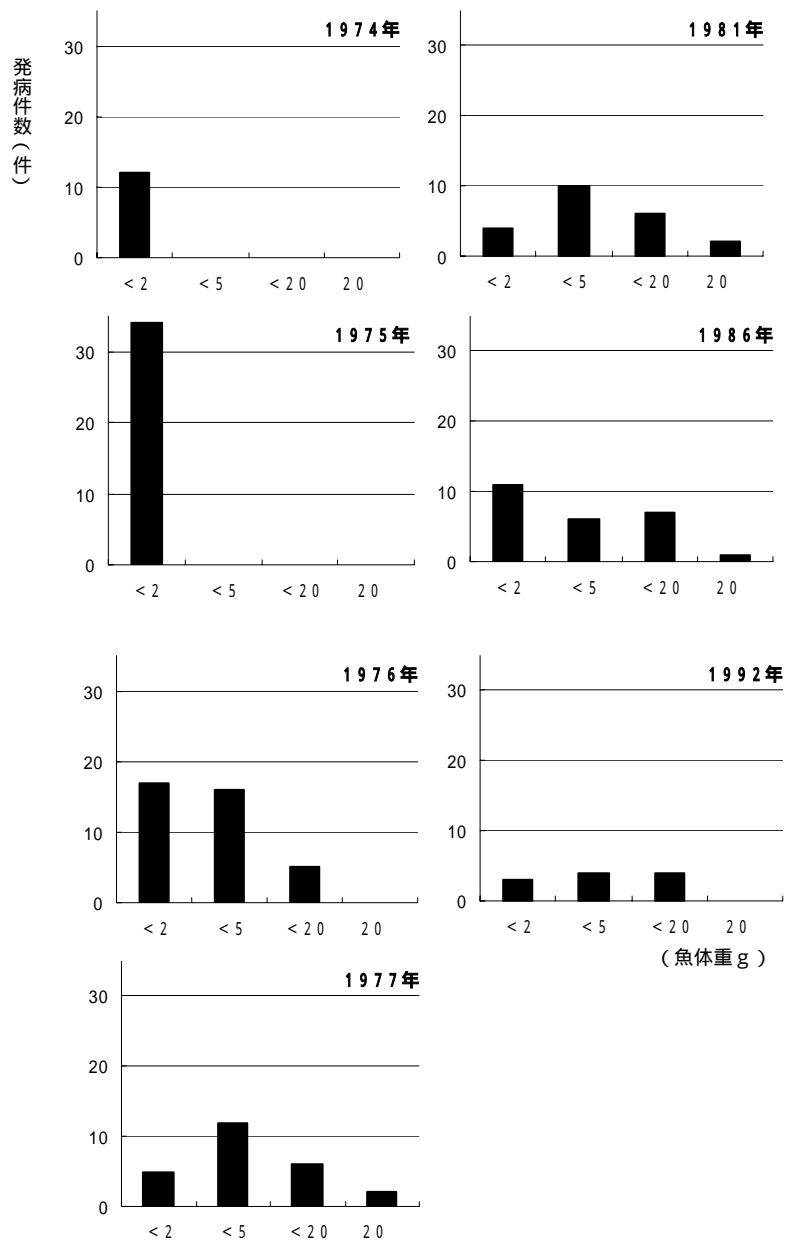


図9 長野県の主なIHN発病年の発病時魚体重の変化（ニジマス）  
縦軸は発病件数、横軸は魚体重を示す

目 的

養魚場間の魚病の伝播は、用水やその水系の生息魚を介して行われたり、発眼卵や活魚の輸送に伴って病原体が運ばれる場合が多い。輸送手段が発達した今日では、種卵・種苗による遠隔地への伝播も容易になっている。

IHNの日本への侵入は1971年、米国から北海道に輸入されたマスノスケ、ギンザケあるいはベニザケの発眼卵とともに持ち込まれたと考えられている(Kimura and Awakura, 1977)。しかし、1974年の本州中部地方に発病した伝染経路については明らかにされていない。

本節では、長野県のIHN初発生年における発眼卵の流通状況調査およびふ化施設の疫学調査を行い、種卵・種苗の導入に伴いIHNが侵入したと考えられる事例および防疫対策により発病を防止した事例について検討した。

材料と方法

IHN初発生年の発眼卵の流通と伝染経路の推定：

長野県内の主な発眼卵生産者およびIHNが発病した養魚場へ発眼卵を出荷した生産者について、1973年秋の採卵開始から1974年1月までに出荷したすべての出荷先養魚場の発病状況を、導入したロット毎に調査した。あわせて発眼卵生産者の飼育魚についても調査した。調査は1974年1月下旬から2月上旬にかけて、38養魚場を対象に現地で聞き取りを行った。

発眼卵、稚魚の輸送に伴うIHNの伝播事例：

長野県内のニジマス生産者のうち発眼卵または稚魚を導入し飼育している養魚場から、新設のふ化場1ヶ所、前年にIHNの発病があった養魚場6ヶ所および発病経験がない養魚場3ヶ所計10ヶ所を選び調査した。この中から発眼卵、稚魚の輸送に伴ってIHNが伝播したと考えられる事例およびこれを防いだ事例についてとりあげた。

調査項目としては、養魚場の立地概要、用水の種類、飼育管理の状況、前年のIHNの発病の有無、実施した防疫対策および不足したと考えられる対策を設定し、管理者から聞き取り調査した。また、現地で直接作業状況の確認をした。調査時期は1976年10月から1977年8月の間とし、随時現地調査した。

IHN初発生年の発眼卵の流通と伝染経路の推定：

1974年1、2月にIHNが発病した10養魚場に発眼卵を出荷した9生産者並びに発病はないが発病地区に発眼卵を出荷した2生産者、計11の生産者について、出荷先および自己飼育群のIHNの発病状況を表11に示した。

1974年1月中旬にIHNの発病があったのは、表11に<sub>1</sub>で示すA-1、A-3、A-8、M-2およびW-1の5養魚場であった。その後2月中に<sub>2</sub>の5養魚場で発病が確認された。

初発生は明科町のA-8で、隣接する穂高町のH-1から発眼卵で導入し、飼育してきたニジマスで、1974年1月初めから餌付け直後の稚魚に死亡が見られた。その後同時飼育の他の群にも発病が見られた。A-8の上流にはA-7があるが発病していない。発眼卵を出荷したH-1での発病はなくH-1から出荷した10養魚場についてみるとA-8のほか2月中に3ヶ所で発病した。

次に発病したのは、明科町のA-3と松本市のM-2で1月10日頃から死亡魚が観察され、1月下旬にIHNと確認された。A-3は自家生産の発眼卵由来の稚魚に発病したもので、3ヶ所の出荷先での発病はなかった。M-2は自家産の発眼卵の他、A-1および県外から導入しているが、初発生群の特定はできなかった。

4番目に発病した明科町のA-1はA-3の下流にあり、A-3より約1週間遅れて発病した。A-3の排水をふ化用水の一部として使用していたことから、水を介して感染したものと推定された。A-1は大手の種苗生産者で、1月末までに14ヶ所に出荷し、発病があったのは自己飼育群と前出のM-2および2月中に発病したH-5、H-11の4ヶ所であった。

5番目に発病したW-1は県北部の信濃町に位置し、1月下旬発眼卵で導入したヤマメ稚魚に発病した。発眼卵を出荷したY-1では発病していない。

1974年2月になり、表中の<sub>2</sub>で示す明科町のA-2、A-5、穂高町のH-5、H-11および松本市のM-3で発病した。A-2、A-5はすでに発病したA-3の飼育池に隣接しており、人、器具類、動物の交流があり、これらがIHNを仲介したものと考えられた。H-5、H-11およびM-3は、いずれも既発病養魚池との交流があった。発眼卵生産者の出荷先と発病養魚場の関係を明確にする要因はなかった。

表 11 IHN初発生年における発眼卵卵の流通とIHNの発病（<sub>1</sub>: 1974年1月に発病した群、<sub>2</sub>: 1974年2月に発病した群、 : 発病しなかった群）

購入者	卵生産者	A - 1	A - 2	A - 3	A - 4	H - 1	M - 1	O - 1	S - 1	K - 1	T - 1	Y - 1	県外	自家産
	A - 1	1												
	A - 2		2											
	A - 3			1										
	A - 4													
	A - 5					2				2				
	A - 6													
	A - 7													
	A - 8					1								
	H - 1													
	H - 2													
	H - 3													
	H - 4													
	H - 5	2				2	2	2	2					
	H - 6													
	H - 7													
	H - 8													
	H - 9													
	H - 10													
	H - 11	2				2	2	2						
	H - 12													
	H - 13													
	H - 14													
	H - 15													
	TO - 1													
	M - 1													
	M - 2	1											1	1
	M - 3							2	2	2				
	M - 4													
	I - 1													
	I - 2													
	I - 3													
	I - 4													
	O - 1													
	S - 1													
	K - 1													
	TE - 1													
	W - 1											1		
	Y - 1													



発眼卵、稚魚の輸送に伴うIHNの伝播事例：

調査養魚場10ヶ所のうち、発病は8ヶ所(新設ふ化場1ヶ所、前年発病養魚場5ヶ所、前年未発病2ヶ所)、未発病は2ヶ所(前年発病および未発病各1ヶ所)であった。発病した8ヶ所のうち、IHNを耐過した成魚と稚魚の管理を同一人が行うなど管理上の問題が指摘された

事例が4件、発眼卵、稚魚の輸送に伴って伝染したと考えられる事例が各1件、原因が特定できなかった事例が2件であった。表12にはこれらのうち、発眼卵および稚魚の輸送に伴ってIHNが伝播したと考えられる事例と対策を実施したことにより発病を抑えることができた事例を示した。

表12 種苗の移動に伴いIHNが伝播した事例及び防疫対策により防いだ事例

養魚場名	A	B	C
1975年の発病	(新設)	無し	有り
1976年の発病	有り	有り	無し
概要	山間地の新設した稚魚専用池である 近くに養魚場はなくIHNV汚染のない用水が十分ある 専任管理者を置いた	これまで発病したことのない地域の山間地にある養魚場である 卵消毒以外の対策は実施していない 近くに養魚場はない 用水は河川水を使用、漁協によりIHNを耐過したヤマメが放流された	前年発病したことから今年には十分な対策を実施し発病を防いだ 近くに養魚場はない 水源は100m上流でIHNV汚染の恐れはない
ふ化用水	河川水	湧水、河川水	湧水
導入種苗	消毒未済みニジマス発眼卵 350万粒	消毒済みニジマス発眼卵 30万粒	IHNV保有親魚から採卵した消毒済みニジマス発眼卵 400万粒
事前に実施した防疫対策	用水路、池、ふ化器具類の消毒 立ち入り規制 管理人の専任	特に無し	用水路、池、などの消毒 立ち入り規制 管理人の専任
不足した防疫対策	発眼卵の消毒をしない	ふ化用水のIHNV汚染防止対策	
有効だった防疫対策			発眼卵消毒* 日常作業時の消毒** 水系・施設の消毒*** 立ち入り規制 管理人の専任

- \* 発眼卵消毒はポリビニルピロリドンヨード剤 50ppm 15分消毒
- \*\* 手、ビニール手袋などは逆性石鹼液 100倍を使用
- \*\*\* 用水路、施設、長靴などは60%高度サラシ粉 1,000~2,000倍液を使用

Aは他の養魚場と交流のない山間地にふ化場を新設し、IHNの汚染の恐れのない河川(沢)水を用い、専任の管理者に飼育管理させた。しかし、ふ化時期の近いニジマス発眼卵350万粒を未消毒のまま収容したところ、ふ化仔魚に発病が認められた。この卵は、IHNウイルス汚染用水で飼育された親魚から採卵されたもので、この親魚群からIHNウイルスが検出された。受精卵は発眼期までこの汚染用水で飼育されていたことが明らかになった。

Bは山間地の養魚場で近くに養魚場はなく、これまでこの地区ではIHNの発病がなかったことから、発眼卵消毒以外に対策は実施しなかった。ふ化用水として河川

水を利用して飼育していた。飼育中の平均体重0.9gのニジマス稚魚30万尾の群に発病した。河川からの取水部上流で地元漁業協同組合によるヤマメ稚魚の放流が初めて行われた。このヤマメはIHNを耐過直後の稚魚であることが判明した。

Cは前年発病したが、水源の湧出部から水路およびふ化場全体を塩素消毒し逃亡魚を殺滅させた。導入したニジマス発眼卵はIHNウイルス保有親魚から採卵したものであるが、発眼卵はPVP-ヨード剤で消毒後ふ化槽に収容した。また、養魚場への一般の立ち入りを禁止し、専任管理者を置き、日常作業時の消毒を励行したところ発病はなかった。

## 考 察

長野県内の初発生年の感染について発眼卵の流通を中心に調査したところ、飼育用水、人・器具類の交流によると推定される事例はあったものの発眼卵生産者と出荷先の発病との関連は見られなかった。特に、県内の大手発眼卵生産者である A-1、O-1、K-1、T-1 については、A-3 から用水を介して伝染したと推定される A-1 を除くと、いずれも自己飼育群での発病がなく、IHN ウイルス汚染卵の流通に伴う伝播とは考えにくい結果となった。

1974 年 1、2 月に発病した 10 養魚場は、W-1 を除く 9 ヶ所が本県ニジマス養殖の中心地である穂高町、明科町および松本市に集中している。これらの養魚場は距離的にもほぼ 15km 以内にあり、日常から人や魚の交流が頻繁に行われていることから、防疫対策を実施していない状況下ではこれらの交流によって伝染した可能性が高いと考えられた。

長野県の発眼卵生産量は 1973 年、1974 年ほぼ同数で、1 億 1,000 万粒あり、県内外へ出荷されている。また、県外からの導入もあり、県内保有数は年間で 1 億粒である。輸送の件数については正確に把握していないが、一梱包 5 万粒が標準輸送単位であることから、年間 2,000 個以上の梱包が県内外に輸送されているものと推定できる。したがって卵消毒が十分実施されずに、発眼卵や梱包材料に付着した IHN ウイルスが感染源となり出荷先へ伝染させた可能性は否定できない。一方、発眼卵と並び、輸送にともなう病気の伝播の可能性のある稚魚の流通について、1977 年長野県が実施した結果(長野県, 1979)によると、この 1 年間に県内業者間の輸送件数は 147 件、1,834 万尾に達した。また、県外から導入された稚魚については 70 件、1,190 万尾であり、導入先は山形県、福島県、栃木県、群馬県、静岡県、愛知県、岐阜県、新潟県および石川県の 10 県であった。長野県内から県外に出荷された稚魚は、13 件 200 万尾で栃木県、山梨県、愛知県、新潟県および兵庫県 の 5 県に及んでいる。

第 32 回養鱒部会報告(岐阜県, 1976)では、感染経路に関する各県報告のとりまとめとして他県からの種卵・種苗の移入によるとする報告がある。

このように種卵・種苗の流通は頻繁にかつ広域に行われていることが明らかになり、種卵、種苗および梱包材料、輸送車など輸送にともなって魚病が伝播する可能性の高いことが明らかになった。

次に、種卵・種苗の輸送に伴う IHN の伝播事例として、長野県内でニジマス発眼卵のふ化と稚魚飼育を行っている養魚場を調査した。A は IHN ウイルス汚染水で発眼期まで飼育された発眼卵の消毒未実施により、卵とともに運ばれた IHN ウイルスが感染源になり発病したものと考えられた。しかし発眼卵に付着していたウイルスによってふ化仔魚に感染したのか、ふ化用水やふ化槽周辺が汚染され、これらから感染したのかについては明らかではない。

B は IHN ウイルスを排出している稚魚が、飼育用水を汚染させたことにより発病したものと考えられる事例である。放流直後に死亡したヤマメ稚魚が養魚場の注水部スクリーンに流下し、その後 8 日目から飼育中のニジマス稚魚に IHN が発病したことから判明した。稚魚の輸送にあたっては IHN の有無とともに輸送水の IHN ウイルス汚染にも注意が必要である。

C は防疫対策を実施し発病を防いだ事例である。サケマス養殖における PVP-ヨード剤による卵消毒は、出荷時に出荷者が実施し、購入者は荷受け後、添付されているヨード剤で再度消毒するのが一般的である。たとえ IHN ウイルス汚染卵であっても消毒によりウイルスフリーにできることは C の事例でも示されている。

IHN ウイルスによる汚染卵・稚魚は直接あるいは水系汚染などから間接的に IHN を伝染させることが示された。また、これらに対する対策を実施することにより発病を抑えることも可能であることが明らかになった。特に IHN に感受性の強い稚魚期の防疫対策として、稚魚生産施設を隔離し、日常作業時の消毒を徹底することは有効な手法と考えられた。

## 小 括

長野県のサケ科魚類に発病したIHNの概要を知るため、1974～1994年間の診断事例を調べた結果を得た。

1. 1974年長野県のニジマス稚魚を中心に養殖サケ科魚類に発病した疾病は、観察された症状、培養細胞上のCPE、抗血清による中和試験の結果からIHNと確定診断された。
2. IHNによる被害量は初発生年は644万尾、2年目は2,137万尾となり、長野県の年間必要量の40%に相当する稚魚が死亡したが、3年目には984万尾に半減した。一方、IHNの発生地区は22市町村に拡大し、主要な養鱒地域はほとんど汚染された。
3. IHNによる死亡率は、1g未満魚は77.2%、1g以上2g未満魚は39.1%、2g以上では36.8%となり、1g未満魚での死亡率の高いことが示された。
4. 長野県水産試験場におけるニジマスのIHN診断事例中248例から病魚の症状を整理したところ、発病サイズにより出現頻度に差がみられ、頻度の高い症状すなわち、2g未満魚では鰓の褪色および筋肉の線状・V字状出血が、2g以上魚では鰓の褪色と線状出血、肝臓の褪色および腎臓の褪色が観察された

場合にはIHNの推定診断が可能と考えられた。アマゴにもニジマスと同様の症状が観察された。

5. 1974年から1994年の21年間における長野県のIHN発病傾向は、1976、1981、1986年の5年毎にピークを示し、その後は増減を繰り返している。この傾向は全国の発病傾向と一致した。発病期は、当初11～2月の稚魚生産期に限られていたが、感受性の高い稚魚の飼育が周年行われるようになったこと、また、発病サイズが大型化することにより、周年発病が観察されるようになった。
6. 初発生年の事例について疫学調査を行い、発眼卵生産者と出荷先での発病状況を調査したが、汚染源を特定することはできなかった。しかし、発眼卵、稚魚の輸送に伴うIHNの伝播事例から、種苗の流通によるIHNの伝播が明らかにされた。その一方、発眼卵のPVP-ヨード剤消毒、IHNウイルス非汚染水の使用、日常の消毒の徹底により、外部からIHNウイルスの侵入を防ぎ、IHNの発病を阻止できることが判明した。

## 第二章 IHNの発生と環境要因について

第一章で述べたように、IHNはサケ科魚類の特に稚魚期の致死性の高い疾病として知られ、治療法がないことから、対策として予防・防疫が中心となっている。当初稚魚中心であったIHNの発病は、前章第三節で示したように大型魚にも観察されるようになり、長野県では1977年以降体重20g以上のニジマスにも発病が確認されるようになった。この傾向は全国的にもみられ、全国養鱒技術協議会のニジマス・在来マス類等の疾病実態調査(1978～1984)で報告されている。

一般にニジマス養殖では稚魚が2～5gの大きさになると、それまで飼育されていた稚魚池から養成用の池に移されるが、この飼育形態はIHNの防疫対策にも反映されている。すなわち、IHNウイルスに感受性の特に高い稚魚期は非汚染用水を用いたり、施設の入り口で管理者の消毒や、使用する器具類の消毒を実施するなど隔離形態の防疫対策をとって種苗生産が行われるが、その後の養成池の飼育はIHNウイルス既汚染水系のことが多い。この理由として養成池を含めた施設全体を対象に防疫対策を施すには経費的に難しいこと、長野県のニジマス養殖の中心地である穂高町、明科町では同一水系にいくつもの養魚場があり同じ用水を繰り返し使用しておりIHNウイルスフリーの用水を確保することが難しいこと、大型魚でのIHNによる死亡率は10%以下の事例が多く、被害額は既存の細菌性魚病と同様に考えられていることなどによる。一方、同一養魚場内でもIHNウイルス汚染水系に移動後、発病までの期間や被害量に差がみられること、年間数回導入する稚魚にもIHNが発病した際の死亡率に差がみられることが明らかになり、防疫対策や被害量の軽減のためには用水量の季節的变化や飼育密度、水温などの環境条件に関する調査も必要になった。

これまで、IHNの発病原因や対策に関して飼育環境との関係について論じられたものは少なく、飼育水温による発病の制御(Amend, 1970; 埼玉水試, 1988)、飼育密度の影響について(Mulcahy *et al.*, 1983a; Amend *et al.*, 1973)などがあるにすぎない。

本章では、第一節で長野県の発病事例から水温と発病件数、死亡率の関係を解析した。第二節では、年間生産量約100トンのニジマス養魚場について、1年間にわたる飼育実態調査を行い、用水量の年変動と飼育量などの環境条件および給餌量や選別作業、ヒブリオ病対策など

の養魚管理作業とIHNの発病の関係について検討した。第三節では、飼育密度とIHNの発病に関する実験を行った。これらの結果からIHNの発生と環境要因の関係について論議した。

### 第一節 IHNの発病と飼育水温の関連性

#### 目 的

魚類の感染症に対する環境因子の影響について、感染症の流行には季節性が認められ、その主要な要因は水温と考えられている(若林, 1996)。IHNに関しては、Watson *et al.* (1954)がベニザケ稚魚の死亡率は15.5に比べ20で低かったことを報告し、Amend *et al.* (1973)も発病に直接影響を与える要因として水温をあげている。

本節では長野県のニジマスのIHN発病事例から飼育水温と発病件数および死亡率の関係について検討した。

#### 材料と方法

飼育水温と発病件数：

第一章第二節で調査した1974年から1994年の間におけるニジマスのIHN発病事例から水温および飼育用水の種類のみらかな336事例を用いた。

飼育水温：発病日ないしその付近の最高・最低水温の中間値、又は午前10時頃の水温を飼育水温とした。

飼育用水の種類：河川水と湧水に分類し、井戸水は湧水に区分した。湧水に区分された用水の中には、湧出部から1km以上流下した後利用される例があるが、長野県水産試験場の養魚台帳の区分に従った。本調査で湧水に区分された事例は、年間を通し日変動は5以内、平均水温の年変動は10以内の用水で、日平均水温は7以上である。

飼育水温と死亡率：

第一章第一節で調査し、表4～6に示した62例のうち殺処分した9例を除いた52例の飼育水温と被害率を用いた。表中の水温表示で範囲を示す事例の場合はその中央値を用い、被害率は死亡率として示した。

結 果

(17.6%)であった。

飼育水温と発病件数：

発病時の水温とIHNの発病件数の関係を図10に示した。IHNが発病した水温は最低が4.2、最高が20.0であった。水温10以上14未満での発病が336件中254件(76.5%)を占めた。用水別では湧水使用池での発病は、7.0~18.0の範囲で287件(85.4%)、河川水使用池での発病が4.2~20.0の範囲で59件

飼育水温と死亡率：

発病時の水温と死亡率の関係を図11に示した。52例の飼育水温は7.0~14.0の範囲にあったが、10~13の間の事例が39例であった。死亡率は同じ水温でも10%未満から95%以上を示す事例があり、水温と死亡率の間に相関はみられなかった。

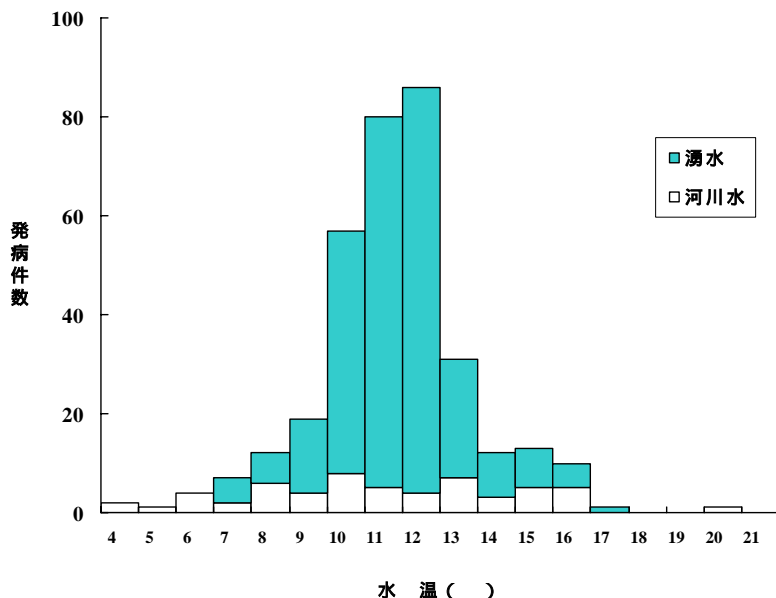


図10 発病時の水温の分布

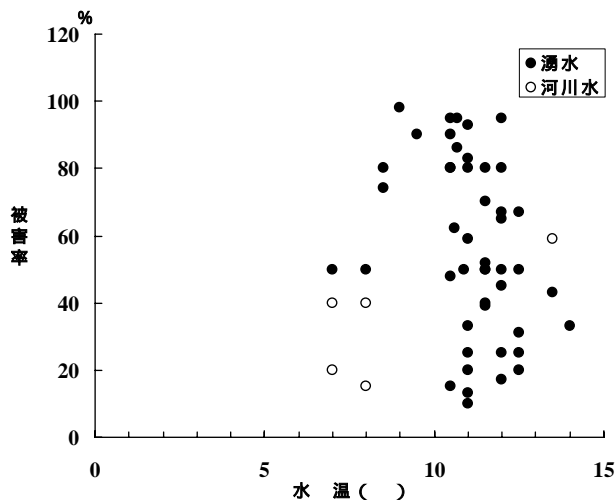


図11 水温とIHNの死亡率

## 考 察

IHNは水温4～20の範囲で発病し、10以上14未満での発病事例が多かった。この水温域はIHNの発病適温であることのほか、IHNに感受性の高い稚魚期の飼育に使用される湧水の多くがこの水温域にあることにより、発病事例が多くなったと考えられる。また、使用している河川水は冬季の1～2から夏季の20～22まで水温変動があり、今回の発病事例のうち4～6および20の低・高水温期のものは河川水使用池であった。

IHNウイルスの増殖温度について Wingfield *et al.* (1969)は、4～20で増殖し、13～18が至適、23以上では増殖しなかったことを報告している。長野県のニジマス養魚場の稚魚飼育水温はIHNウイルスの増殖適温とほぼ一致していることが示された。また、本県のニジマス養殖の中心である松本市周辺では、一部の河川・湧水併用者を除き多くは湧水が使用され、水温は12～13である。そして県内必要種苗の65%がこの地区で飼育されているなど飼育事例が多いことからこのような結果になったものと考えられた。発病時水温と死亡率については、調査範囲の7～14の水温域では一定の傾向はみられず、各温度で高死亡率から低死亡率までみられていることから、IHNの死亡率に及ぼす影響は発病時の体重（第一章第一節）やウイルス量など水温以外の要因が大きいものと考えられる。

### 第二節 IHNの発病と飼育環境の関連性

#### 目 的

IHNの発病以後、多くのニジマス養魚場では、稚魚の自家生産をやめ、2～5gのIHNフリー稚魚を導入し、120～180gの商品サイズまで養成する養魚形態が一般的になった。しかし、ウイルス保有親魚や耐過魚の飼育されている用水はIHNウイルスに汚染されている可能性が高く、導入したIHNフリー稚魚にIHNが頻発している。さらに稚魚期にIHNを耐過したニジマスは、商品サイズに達するまでに、再びIHNが発病する例がしばしば見られる。全国養鱒技術協議会は、毎年疾病実態調査を行い、参加各県の魚病診断件数を報告している（長野県水産試験場、第3～19回全国養鱒技術協議会要録、1978～1994）。これらの報告によると、大型魚におけるIHNの発生は増加の傾向にあり、環境条件の悪い飼育池では死亡率が高いことなどが指摘されている。IH

Nの防除対策や被害の軽減を考える上では発病要因として飼育条件などの影響を調査しておく必要があると考えられる。

本節では一般的なニジマス養魚場におけるIHNの発病実態を明かにするため、長野県の中規模なニジマス養魚場の実態調査を行った。調査は20gから100gのニジマスを対象に、1年間にわたり魚の選別移動、給餌などの作業と注水量、水質、飼育量などの飼育条件および導入した種苗や上流養魚場の魚病発生状況を調査し、これらとIHN発病の関係について検討した。

#### 材料と方法

##### 1. 調査対象養魚場の概要

養魚池と養魚用水：

養魚池と用水の流れを図12に示した。長野県穂高町の民間養魚場で、池面積は稚魚池4面320㎡、養成池14面1,500㎡、合計1,820㎡である。養成池間の高低差はなく平面的である。用水はすべて湧水であるが、水量はおおよそ夏期900/sec.、冬期350/sec.と変動する。用水の一部は200m上流の湧出部から直接流入するが、全体の70%以上は2km程上流で湧出し、途中一ヶ所のニジマス養魚場を経由して当該養魚場に流入する。稚魚飼育にはIHNの汚染のない湧出水を使用しているが、一部は上流養魚場を経由した用水も使用する。

養魚形態：

稚魚を購入し、約180gの商品サイズまで養成する。種苗として年間100万尾の稚魚を購入し、55万尾（約100t）を商品として出荷する。当養魚場では1975年のIHN発病以来この形態で経営してきたが、1982年から一部発眼卵を購入し、ふ化飼育を開始した。ふ化用水は、深井戸からポンプアップしたIHNウイルス非汚染用水である。従業者は、経営者の他、男子2名の計3名である。

養殖池の使用状況：

購入した稚魚は図12に示す稚魚池に収容する。5～10gになると西1から4号に移動する。さらに20～30gになると選別し、大型魚を中3、4号に移動する。ここで40～60gになると選別し、大型魚から順次中1、2号に移動する。中1、2号では100gになると選別し東1、2号に移動し、出荷サイズに達したものを東3・4号池から出荷する。図中の西および中の池は2号と3号池の間に仕切を入れ、1、2号と3、4号をそれぞれ一面として利用している。

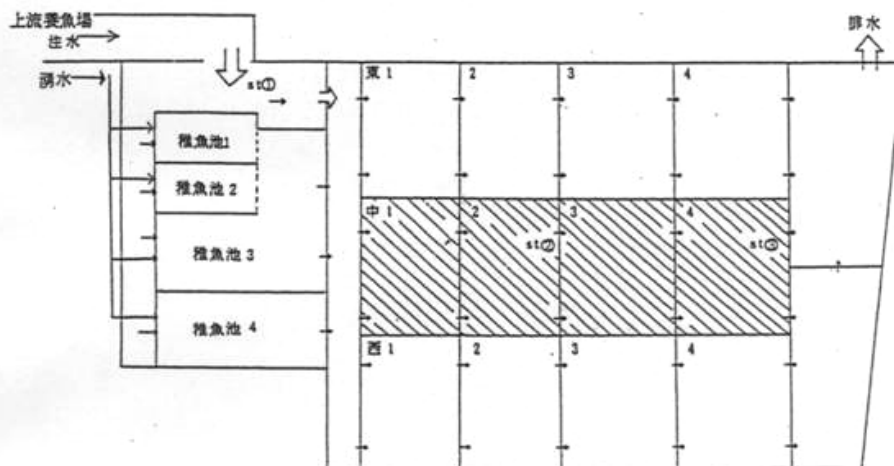


図 12 対象養魚場の養魚池と用水の流れ  
斜線部が対象池

#### 魚病の発生：

2～5gサイズで購入した稚魚では、1ヶ月内に例外なくIHNが発病し、死亡率は通例5～30%である。さらに、養成池で50g前後になるとしばしばIHNの症状が見られ、IHNウイルスが分離される。また、ピブリオ病が例年5月から10月の間に2～3回発病し、治療のため、毎年2回以上の抗菌剤投与が行われる。

#### 2. 調査項目と調査方法

当養魚場では冬期を除くと通常1ヶ月に1回以上の選別作業が行われ、同一群を継続調査することはできない。このため、調査対象池として中1、2号および3、4号池を選定した(図12斜線部)。選別・移動作業により対象池の飼育量が変化することから、選別・移動から次の選別・移動までを一期間とし飼育成績を求めた。水質等の調査地点は注水部、2号池および4号池の排水部の3地点を定点として選び、それぞれst.、st.、st.とした。調査は1982年7月から1983年7月まで実施した。期間中、定期調査として7月～11月は毎月4回、12月から7月は2ないし3回の現地調査を行った。水温、給餌量、死亡魚数および死亡重量については養殖場担当者が毎日記録した。

#### 水質：

次に示す項目について調査した。

#### 水温：

デジタルポケット温度計(モデル2541 横河電気)を用いて、st. については毎日最高および最低水温、st.、st. については定期調査時の水温を測定した。

#### 溶存酸素量：

隔膜ガルバニ電池式DOメータ(MY-900 飯島精密工業)を用いて、st.、st.、st. について定期調査時に測定した。

#### アンモニア態窒素：

St.、st.、st. について定期調査時にネスラー法で測定した。

#### pH：

St.、st.、st. について定期調査時に比色法で測定した。

#### 一般生菌数：

St.、st.、st. について定期調査時(7月～2月の間調査)90mmシャーレの普通寒天培地に試水(原水および1/10希釈水)を0.05m<sup>2</sup>ずつ塗抹し、20、48時間後のコロニー数を計数した。

#### 注水量と飼育量：

注水量は総注水量と中1号への注水量を測定した。測定はブライス電気式流速計(三映測量器)を用いて流速を求め、流巾、水深から計算した。測定は毎月2回ない

し3回実施した。飼育量は、当養魚場の実績から給餌量の70%を増肉量とし、次項で述べる管理作業における魚の移動量から推定した。また注水量と溶存酸素量およびニジマスの酸素消費量から中1～4号池の基準収容量を求め、実際の飼育量と比較した。さらに、各期の期首および期末の飼育密度を求めた。なお、ニジマスの基準収容量(最大値)は次式により求めた(養鱒の研究,1976)。

$$W = \frac{(O_i - O_o) \times V}{K}$$

W : 収容量 kg  
 $O_i$  : 流入水中の溶存酸素量 m /  
 $O_o$  : 溶存酸素量の健全臨界値 3.5m /  
 V : 注水量 /hr  
 K : 飼育魚の平常時の酸素消費量 m /kg・hr

#### 管理作業 :

管理作業は原則として養魚場の従業者が行った。選別と魚の移動作業については実施日と魚の移動経路および移動量を記録した。また毎日の給餌量を記録した。

#### 魚病検査 :

IHNおよびピブリオ病の検査を中心に次のとおり実施した。死亡魚の計数と病原体検査は死亡魚を毎日取り上げて計数するとともに外観症状を観察した。魚病の発生が疑われた場合には、定期調査以外にも随時調査し、死亡魚の病性鑑定を行った。病原体の検査は定期調査時および魚病発生時に、st.、st. で得られた新鮮な死亡魚から各10尾(10尾に満たない場合は得られただけ)をサンプリングし、魚体重の測定と症状を観察した後病原体検査に供した。IHNウイルス検査は腎臓、肝臓および脾臓の一部を採り5尾分を1検体とし、磨碎濾液をRTG-2細胞に接種しCPEを観察した。ピブリオ病検査は0.5%NaCl加普通寒天培地を用い、各個体の腎臓から細菌分離を行った。

#### 健康魚の病原体検査 :

中1、2号および3、4号池の外観から健康とみられる飼育魚各30尾を取り出し、死亡魚の検査と同様に検査した。ピブリオ病原菌については腎臓組織約0.2gを無菌的に採取し、pH8.4のアルカリペプトン水で増菌し保菌状況を調査した。調査時期はピブリオ病が終息し、死亡魚にIHNの症状が観察され始めた時期(8月3日、10月6日)および死亡魚にIHNの症状が見られなくなった時期(9月3日)の3回とした。

#### 導入種苗の保菌検査 :

種苗生産者から購入する稚魚は、死亡魚の検査と同じ方法で、ウイルスおよび細菌検査を実施した。

#### 上流養魚場の状況 :

上流300mにあるニジマス養魚場について、随時飼育状況、魚病発生状況を把握し、当養魚場の魚病発生との関連を調査した。

## 結 果

#### 水質調査 :

##### 水温 :

図13に注水部(st.)の水温を旬毎の最高、最低および平均値について示した。調査した1年間に平均水温は15から7の間を変化した。年変動は7、8月の平均水温がほぼ15で最も高く、その後2月まで順次低下し3月から上昇するパターンを示した。また、当養魚場内でも注排水部の差がみられ、夏期は注水部より排水部の方が0.1～0.3高くなり、冬期は逆に0.1～0.5低くなった。稚魚飼育用水は年間を通じ10.5～13.5の範囲であった。

##### 溶存酸素量(DO) :

図14に3定点のDOの周年変化を示した。注水のDOは5.4～8m/の範囲で推移し、夏期の高水温時に少なく、冬期に漸増の傾向がみられた。注水部(st.)では8月～11月にかけて、10月の一時期を除き5.4～6.1m/、飽和度は70～83%と低酸素状態が続き、2月にはDOが5.8m/、飽和度68.6%を記録した。st.およびのDOは同程度の値で推移しており、一部ではst.の値が高くなった。各池には攪水車が設置され、酸素補給があることからst.の排水部ではニジマスの適正飼育に必要なとされる3.5m/以下の値は一度も記録されなかった。

##### アンモニア態窒素 :

図15にアンモニア態窒素の年変化を示した。注水(st.)に上流の養魚場で発生したと考えられるアンモニアが検出された。st.、のアンモニア量は調査時期によって大きく変化した。これは、選別作業や給餌などにより池底の排泄物が水中に浮遊し、試水のサンプリング時に混入したのと考えられ、魚の収容量との関係は認められなかった。



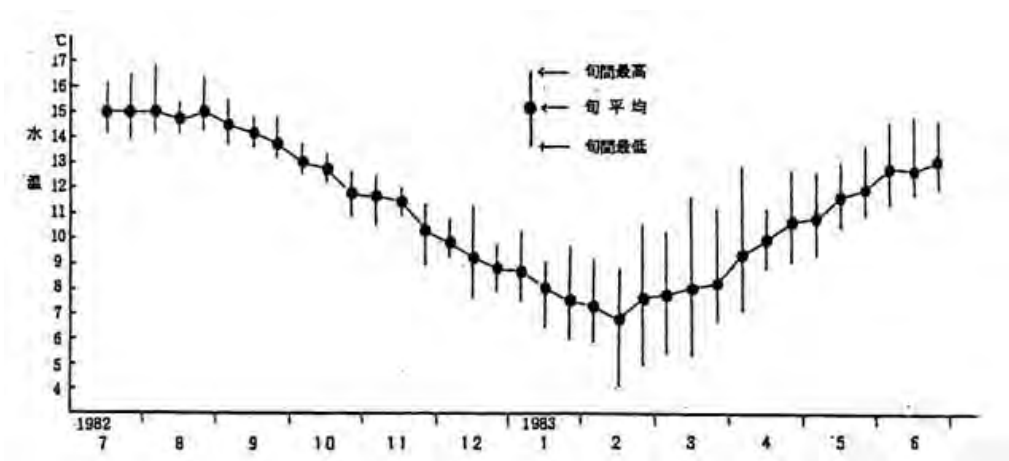


図13 飼育用水の水温の年変動(旬毎の最高、最低、平均値を示す)

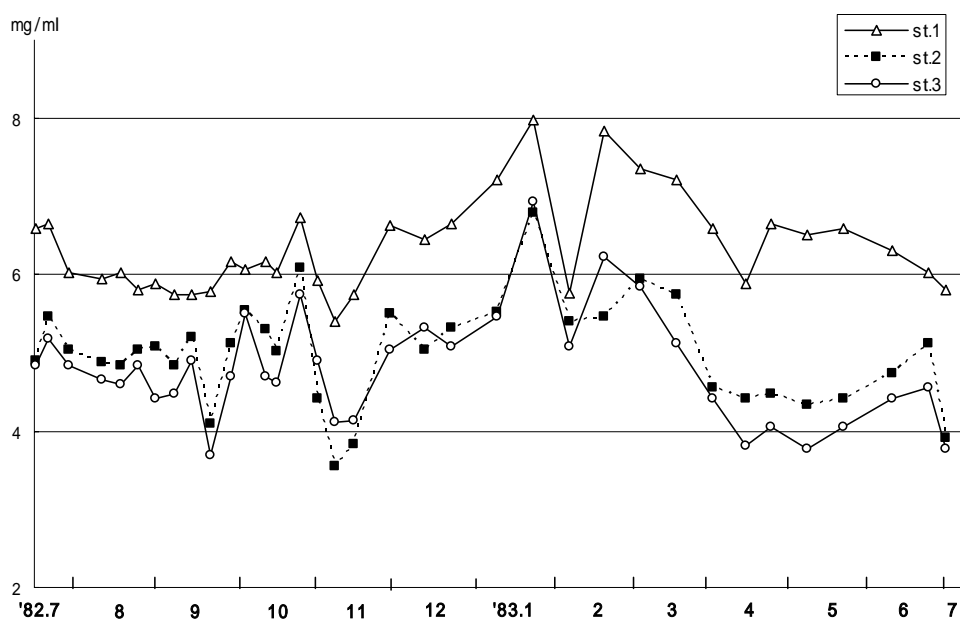


図14 溶存炭素量の年変化

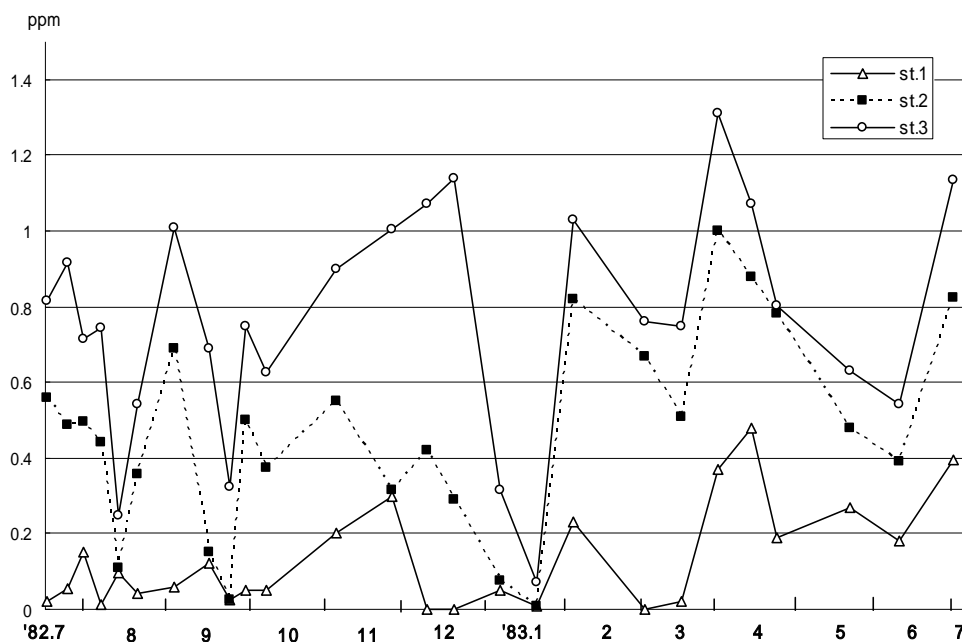


図15 アンモニア態窒素量の年変化

pH :

調査期間を通じ pH の変化はほとんどなく、注水部で 6.5~6.7 排水部で 6.5~6.8 の範囲であった。

注水量 :

注水量は 8 月下旬に 910 /sec の最大を、3 月中旬に 360 /sec の最低値を記録した。

一般生菌数 :

表 13 に飼育用水中の一般生菌数を示した。注水部では用水 1m 当り  $10^3$  個、st.、st. はやや増加して  $10^3$  ~  $10^4$  個付近を推移した。

魚病の発生状況 :

期間中、調査対象池のニジマスには IHN が 4 回、ピブリオ病が 4 回、(仮)非寄生性鰓病(全国養鱗技術協議会要録、岡山県、1982)が 1 回発病した。図 16 には日間死亡率、魚病の発生時期およびピブリオ病治療のためのサルファ剤投与期間について示した。なお、日間死亡率は旬毎に平均値で示したが、旬の途中で選別移動が行われ期が変わる場合は、同旬内の選別移動日前後の死亡率を按分して示した。

表 13 養魚用水中の一般生菌数

	st.	st.	st.
'82. 7.15	$2.2 \times 10^4$	$2.0 \times 10^5$	$9.7 \times 10^4$
7.20	$2.8 \times 10^3$	$4.2 \times 10^3$	$5.0 \times 10^3$
7.28	$1.1 \times 10^4$	$1.3 \times 10^4$	$1.4 \times 10^4$
8. 3	$5.0 \times 10^3$	$7.0 \times 10^3$	$1.1 \times 10^4$
8.10	$5.7 \times 10^3$	$4.5 \times 10^3$	$3.9 \times 10^3$
8.17	$4.0 \times 10^3$	$4.5 \times 10^3$	$7.4 \times 10^3$
8.24	$4.4 \times 10^3$	$5.2 \times 10^3$	$4.9 \times 10^3$
8.31	$4.7 \times 10^3$	$5.7 \times 10^3$	$6.2 \times 10^3$
9. 7	$5.5 \times 10^3$	$2.0 \times 10^4$	$1.8 \times 10^4$
9.14	$2.8 \times 10^3$	$3.3 \times 10^3$	$9.8 \times 10^3$
9.21	$5.8 \times 10^3$	$9.7 \times 10^3$	$8.6 \times 10^3$
9.28	$3.0 \times 10^3$	$3.6 \times 10^3$	$9.1 \times 10^3$
10. 5	$3.3 \times 10^3$	$4.9 \times 10^3$	$6.3 \times 10^3$
10.13	$1.3 \times 10^4$	$1.4 \times 10^4$	$1.9 \times 10^4$
10.17	$4.5 \times 10^3$	$1.1 \times 10^4$	$8.9 \times 10^3$
10.26	$7.3 \times 10^3$	$7.1 \times 10^3$	$1.1 \times 10^4$
11. 2	$8.0 \times 10^3$	$7.5 \times 10^3$	$8.4 \times 10^3$
11. 9	$9.2 \times 10^3$	$9.7 \times 10^3$	$1.2 \times 10^4$
11.16	$3.1 \times 10^3$	$6.2 \times 10^3$	$7.7 \times 10^3$
11.30	$1.7 \times 10^4$	$1.8 \times 10^4$	$1.7 \times 10^4$
12.15	$5.1 \times 10^3$	$8.4 \times 10^3$	$8.2 \times 10^3$
12.24	$4.3 \times 10^3$	$6.3 \times 10^3$	$1.5 \times 10^4$
'83. 1.11	$3.5 \times 10^3$	$2.8 \times 10^3$	$2.0 \times 10^3$
1.25	$5.1 \times 10^3$	$3.4 \times 10^3$	$6.3 \times 10^3$
2. 8	$3.9 \times 10^3$	$4.0 \times 10^3$	$1.4 \times 10^4$
2.22	$5.5 \times 10^3$	$8.9 \times 10^3$	$1.1 \times 10^4$

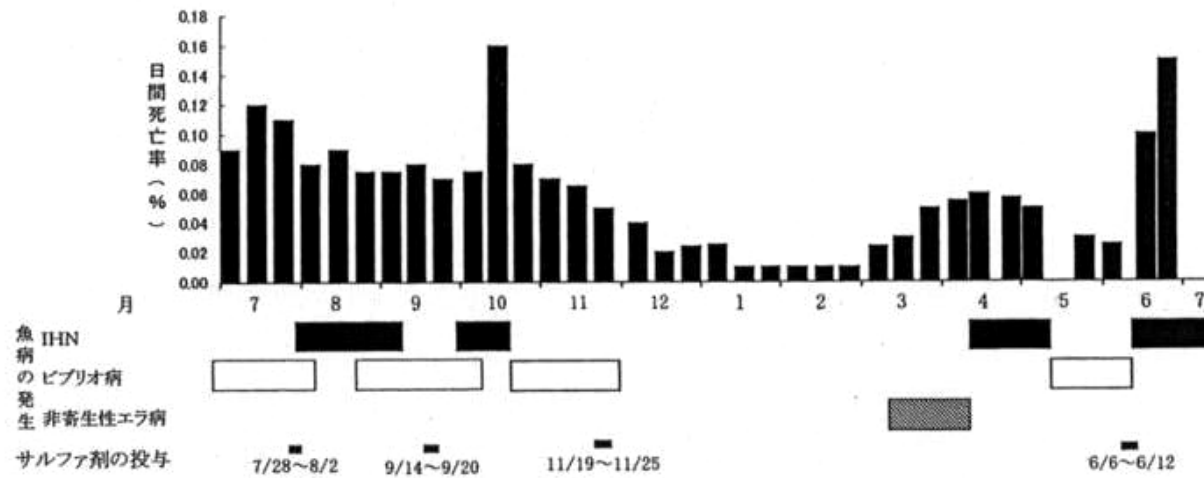


図 16 日間死亡率と魚病の発生時期およびピブリオ病治療のためのサルファ剤投与期間

魚病の発生と日間死亡率：

調査を開始した7月上旬にはピブリオ病が発生していた。日間死亡率は0.1%前後であった。7月28日から6日間メロニリオンを1日当たり100mg/kg・BW経口投与したところ、死亡魚はやや減少しピブリオ病の症状はみられなくなった。しかし引き続き死亡魚は出現し、鰓の褪色と線状出血、肝臓、腎臓の褪色および脂肪組織の点状出血などIHN特有の症状があり、IHNウイルスが分離された。死亡率は0.08%/日で9月上旬まで約4週間発病が続いた。8月下旬の死亡魚の一部からピブリオ菌が分離されるようになり、9月上旬までIHNとピブリオ病の混合感染が続いた。IHNが終息したことからピブリオ病治療のため9月14日から再び前回と同量のメロニリオンを7日間投与したが完治しなかった。この直後からIHNの症状を示す死亡魚が増加し始め、10月中旬まで約3週間続いた。死亡率は0.16%/日と高くなった。10月下旬から再びピブリオ病が発病し、11月19日から7日間、3度目のメロニリオン投与を前回と同量行ったところ11月末までにピブリオ病は終息した。12月から2月にかけて死亡率は0.01~0.02%/日と低い状況で魚病の発生はなく推移した。3月中旬から死亡魚が増加し始めた。これらの死亡魚からウイルス、細菌、寄生虫などの病原体は検出されず、エラの上皮細胞の増殖を特徴とする症状が観察され、(仮)非寄生性鰓病と診断した。この症状を示す死亡魚は4月上旬まで続いた。4月中旬にはIHNの症状を示す死亡魚が出現しIHNウイルスが分離された。死亡率は0.05~0.07%/日であったが5月上旬まで約4週間続いた。5月中旬になり、死亡尾数は少ないがピブリオ病の症状を示す死亡魚が出現したことから、6月6日から7日間、前回と同量のメロニリオンを7日間投与した。これによりピブリオ病は治療できたが、その直後からIHN症状を示す死亡魚が増加し、IHNウイルスが分離された。死亡率は0.15~0.2%で7月中旬まで4週間にわたりIHNの症状を示す死魚がみられた。

飼育魚の病原体調査：

健康魚とみられる飼育魚について8月3日、9月3日および10月6日に調査したウイルスおよび細菌検査結果を表14に示した。各回ともIHNウイルスは分離されなかった。細菌は0.5%NaCl加普通寒天培地では分離されなかったが、pH8.4のアルカリペプトン水で増菌したところ、9月3日に検査した中3、4号池の1尾からピブリオ菌が分離された。

導入種苗の保菌検査：

表15に示したように稚魚は4回にわたり55万尾を、発眼卵は40万粒をいずれも長野県内の生産者から購入した。購入時の稚魚のウイルス、細菌検査では全例で陰性であった。しかし、これらの稚魚では導入2~3週後にはすべてIHNが発病した。すなわち、8月27日導入稚魚は9月中旬から、9月19日導入群は10月上旬から、10月31日導入群は11月中旬から、12月20日導入群は1月中旬から発病した。また、12月25日発眼卵で導入した群は、4月下旬から一部を稚魚池に出して飼育したが、IHNは5月中旬から発病した。推定被害率は第1群より順に10、25、20および30%であった。発眼卵導入群の被害率は約25%であった。

飼育管理状況：

調査期間の1年間に魚の選別・移動は16回実施されたことから、飼育期間は1~16期に分けた。対象池(中1~4号)における各期間の飼育成績、基準収容量および飼育密度について表16に示した。

選別・移動作業：

選別作業は出荷に伴い空いた池を補充し、飼育魚の大きさを揃える目的で行われ、曳き網で集められた魚は、箱の底面に一定間隔の棧が取りつけられたふるいで選別される。この作業はニジマスの需要が増加する3月から11月の間は多く、冬期間は少ない。選別作業によって大小に分けられたニジマスは群中の大型魚から重量で約1/2を次の池に移した。作業はIHNの発病中でも実施せざるを得なかった。1および3回目の発病時はIHNの終息期に、2および4回目の発病時は発病初期に選別作業が行われた。1、3回の発病時は作業後に死亡率が増加することはなかったが、2、4回目では日間死亡率の増加がみられた。

給餌量・死亡魚数：

給餌率1.2%を目安に摂餌状況により加減した。中1~4号池では年間57.6トンの餌を与え、40.3トンの増肉が得られたが死亡魚は約37,000尾(2.4トン)であった。

飼育量：

図17には各期の期首、期末の飼育量を基準収容量に対する割合で示した。基準収容量を0とした場合、第3、4期(8月下旬~10月中旬)、第7期(12月中旬~1月上旬)および10、11期(3月上旬~4月上旬)は基準を超

えて飼育されていた。図 17 に示した基準収容量は各期間中に複数回測定した注水量およびDOから計算によって求めた値の平均値である。また飼育密度は期首が29.7~49.2kg/m<sup>3</sup>、期末が33.5~60.3kg/m<sup>3</sup>と周年にわたり高密度飼育が常態化していた(表 16)。

上流養魚場の魚病発生状況：

対象養魚場では8月中・下旬に8g、2月下旬に4gサイズのニジマスにIHNが発生した。例年発生するピブリオ病の発生はなかった。

表 14 飼育魚のIHNウイルスならびにVibrio sp.検出状況(陽性数/検体数)

	中1・2号池			中3・4号池		
	IHN	Vibrio sp.		IHN	Vibrio sp.	
	RTG-2cell	普通寒天培地*	増菌培地**	RTG-2cell	普通寒天培地*	増菌培地**
'82.8.3	0/5	0/30	0/30	0/5	0/30	0/30
9.3	0/5	0/30	0/30	0/5	0/30	0/30
10.6	0/5	0/30	0/30	0/5	0/30	0/30

調査対象池の健康とみられるニジマス30尾を供試した

IHNウイルス検査は5尾分を1検体とした

\* 0.5%食塩加普通寒天培地、\*\* アルカリペプトン水

表 15 導入種苗のウイルス・細菌検出ならびにIHNの発病状況

導入年月日	尾数	平均体重	ウイルス検出	細菌検出	IHNの発病	被害量
'82.8.27	15万尾	4.0g	0/2	0/5	9月中旬	10%
9.19	10	3.0	0/2	0/5	10月上旬	25
10.31	20	2.6	0/2	0/5	11月中旬	20
12.2	10	2.2	0/2	0/5	1月中旬	30
12.25	70万粒(発眼卵)		-	-	5月中旬	25

ウイルス検査は5尾分を1検体、細菌検査は1尾1検体とした(陽性数/検体数)

## 考 察

IHNの発病と飼育環境の関係を明らかにするために、長野県の中堅ニジマス養魚場について、1年間にわたって環境条件、管理作業およびIHNの発生状況を調査した。調査対象とした飼育池では、この1年間に20g以上サイズのニジマスに4回のIHNの発病があった。発病した事例の発病時期および発病時の水温、発病期前後の飼育環境について表 17 に示した。若林(1996)は、魚に与えられたストレスにより生体防御能は低下すること、ストレスとして、低・高水温、振動、低い溶存酸素や汚濁物質、病原微生物や寄生虫さらに過密飼育、取り揚げ選別、輸送などをあげている。今回調査した4事例に共通しているのは、IHN発病の直前に他の疾病が発生していること、高密度飼育および選別作業が行われたことなどであった。

疾病の発生については、第1、2および4回目の発病

前にはピブリオ病の発生があり、サルファ剤の投薬が実施された。IHNの症状は投薬後に顕著になった。第3回目の発病前は(仮)非寄生性エラ病が発生した。本症は用水量が減少する春先にみられ、飼育環境の悪化が原因とみられるが、詳細は明らかになっていない。また、ピブリオ病は11月上旬にも発病し、同下旬にはサルファ剤の投与を行ったが、この時はIHNの発病はみられなかった。11月下旬から12月上旬の水温は8.8~11.6で、他のIHN発病時の水温、9.2~16.6に比べ低下しているが、第二章第一節で示したように、IHNの発病に影響を与えるほど低水温とはいえない。一方著者らは、稚魚期にIHNを耐過した50gのニジマスを用い、人為的にピブリオ病に感染させ、スルフィナゾールを投与したところ死亡魚の一部からIHNウイルスを検出することができた(長野県水産指導所,1977)。これらのことからIHN発病適水温下でのピブリオ病、(仮)非寄生性鰓病の発生やピブリオ病治療のためのサルファ剤投与はニジマスにストレスとなり、IHNの発病を促したものと考えられる。

表 16 調査期間中の飼育成績

期	飼育期間	飼育 日数	期首収容量 (kg)	期首平均体重 (g)	総給餌量 (kg)	増重量 (kg)	死亡尾数	死亡重量 (kg)	期末収容量 (kg)	基準収容量 (kg)	期首飼育密度 (kg/m <sup>2</sup> )	期末飼育密度 (kg/m <sup>2</sup> )
1	7/ 7~ 7/22	16	11,950	64.4	2,596	1,818	2,790	190	13,590	18,270	31.4	35.8
2	7/23~ 8/21	30	12,050	61.3	4,793	3,355	4,935	300	15,100	16,020	31.7	39.7
3	8/22~ 10/ 1	41	14,690	57.1	8,222	5,755	7,221	380	20,070	15,500	38.7	52.8
4	10/ 2~ 10/19	18	15,130	56.4	3,359	2,353	4,464	264	17,271	15,740	39.8	45.5
5	10/20~ 10/31	12	16,501	64.5	2,189	1,532	2,146	126	17,898	18,720	43.4	47.1
6	11/ 1~ 11/15	15	13,520	59.6	2,344	1,641	1,787	100	14,830	15,670	35.6	39.0
7	11/16~ 1/12	58	14,720	60.1	9,450	6,613	3,606	190	21,410	18,050	38.7	56.3
8	1/13~ 2/21	40	18,700	87	6,148	4,304	1,076	100	22,900	25,380	49.2	60.3
9	2/22~ 3/ 2	9	14,500	60	1,152	806	193	20	15,290	22,000	38.2	40.2
10	3/ 3~ 3/21	19	17,360	59.2	2,104	1,473	534	40	18,790	16,590	45.7	49.4
11	3/22~ 4/ 4	14	16,500	80.4	2,069	1,448	1,380	120	17,830	17,110	43.4	46.9
12	4/ 5~ 4/27	23	12,690	98.4	4,568	3,198	1,889	190	15,700	15,390	33.4	41.3
13	4/28~ 5/13	16	11,390	89.3	3,072	2,150	975	90	13,450	22,060	30.0	35.4
14	5/14~ 5/21	8	14,790	65	1,272	890	595	40	15,640	20,610	38.9	41.2
15	5/22~ 6/14	24	15,970	57.9	1,872	1,310	1,714	100	17,180	18,180	42.0	45.2
16	6/15~ 6/30	16	11,270	145.8	2,384	1,669	1,640	220	12,720	21,200	29.7	33.5
計					57,594	40,315	36,945	2,470				

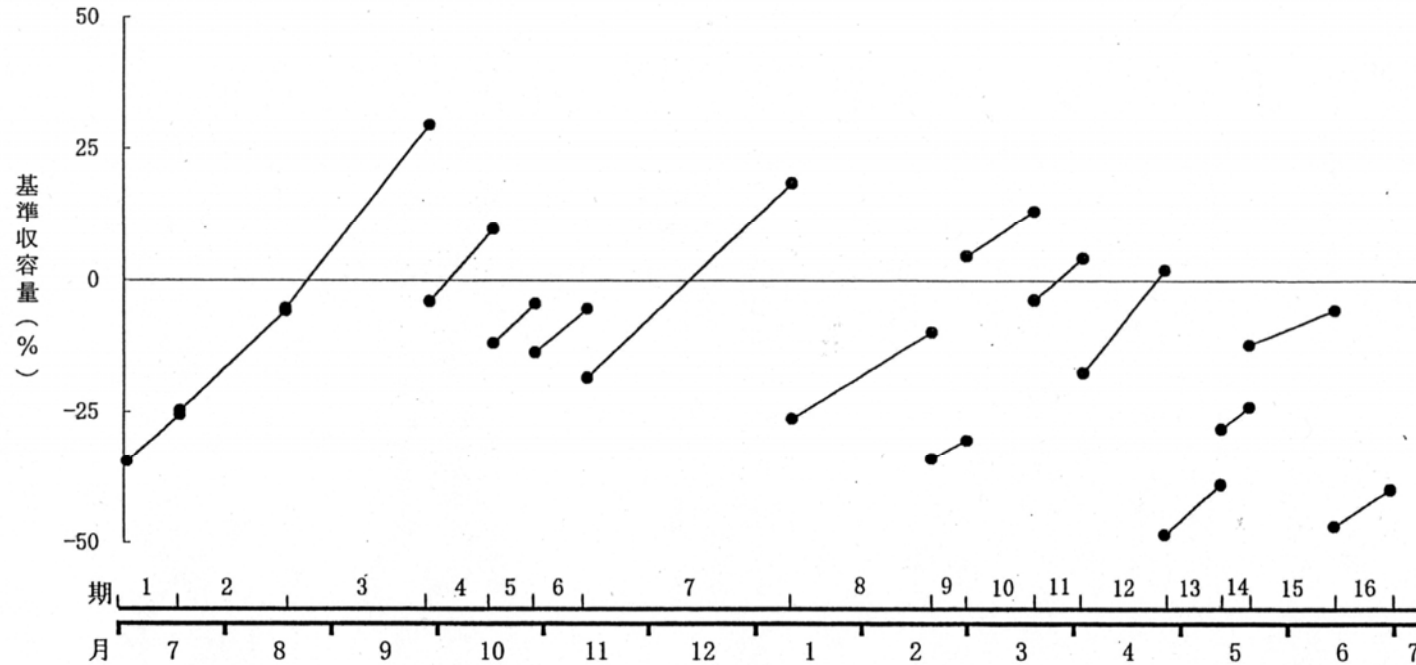


図 17 各期の調査対象池の飼育量  
 (各期の期首および期末の飼育量を基準収容量を0とした場合の比率で示した)

表 17 IHN発病時の水温及び発病時前後の飼育状況

発病	発病期間 (月、旬)	発病時の水温	選別作業*		発病前最大飼育量			他の疾病と処置		上流養魚場の魚病発生
			回数	月 日	注水 1 /sec 当	kg/m <sup>2</sup>	kg/m <sup>3</sup>	発生魚病	投薬	
第1回	8上~8下	13.9~16.6	2	7/22,8/21	50.3kg	35.8	55.1	ピブリオ病	サルファ剤	なし
第2回	10下~10上	13.6~14.8	2	10/1,10/19	80.3	52.8	81.2	ピブリオ病	サルファ剤	8中~下IHN
第3回	4中~5上	9.2~12.8	3	3/21,4/4,4/27	146.8	41.3	63.5	エラ病**	なし	なし
第4回	6中~7上	11.5~14.7	3	5/21,6/14,6/30	68.1	45.0	69.2	ピブリオ病	サルファ剤	なし

\* IHN発病前1ヶ月及び発病中の選別作業

\*\* (仮)非寄生性エラ病

ニジマス養殖は当養殖場に限らず集約的養魚の形態が取られ、高密度飼育が広く行われている。過密飼育が感染症の流行を引き起こしやすいことはよく知られた事実であり(若林,1996)、Becker and Fujihara(1978)は収容密度を変えてマスノスケ稚魚を飼育し、カラムナリス病による死亡率は、収容密度に比例して高くなったことを報告している。当養魚場では周年高密度飼育が行われ、第2回目のIHN発病期を除き基準収容量の範囲内であったが、飼育密度は41.3~52.8kg/m<sup>3</sup>で、長野県下養鱒場の一般的な飼育密度である20~30kg/m<sup>3</sup>に比べはるかに高密度であった。また、第3回の発病前は、注水量1/sec当りの飼育量が146.8kgとなり、極端に高い値で

あった。大渡・山崎(1976)によれば注水量が毎秒1、DOの飽和度を85%とした時の適正飼育量(限界量)は50gのニジマスの場合、水温10では96kg、15では51kgとしている(表18)。これに従えば、各発病期前の飼育量は限界ないしそれ以上となっており、第2および3回の発病前には限界量を大きく越えている。また適正飼育量は、DOの飽和度85%を100とした場合、飽和度75%では水温10の時は64、15の時は57に低下する(大渡,1982)ことも知られている。当養魚場の用水は上流養魚場で酸素が消費されることから、飽和度は75~83%前後を推移しており、適正飼育量はさらに低下していたものと考えられた。

表18 注水量が毎秒1のときのニジマス収容量(kg)

魚体重g	1	2	5	10	25	50	100	200
水温								
5	120	130	148	163	190	218	251	303
7.5	75	82	93	103	121	140	164	199
10	52	57	64	69	84	96	114	139
15	29	31	35	38	45	51	59	69
20	17	19	21	23	27	30	35	42

注水DO 85%, 標高0m

排水DO 3.5m /

酸素消費量は飼育条件下

(養鱒の研究, 1976より)

魚病発生中に実施される選別などの作業について、細菌性エラ病、ピブリオ病など、発病に条件性の強い疾病では作業後死亡率の増加することが経験的に知られており、通常、養魚者は魚病発生中に選別作業を実施することはない。今回の4事例の場合にはIHNの発病中に選別作業が行われ、第1および3回目の発病事例ではIHNの終息期に、第2および4回目の事例では発病初期に実施した。1、3回目では作業による死亡率への影響はみられなかったが、2、4回目ではその後の死亡率の上昇がみられた。発病初期の病勢が強い場合には選別等の作業による影響があるものと考えられた。当養魚場の水系におけるIHNの発病状況を図18に示した。この1年間では、8月上旬に養成池(中1~4号)に第1回目の発病があり、以降は図18に示したように、12月下旬から1月上旬および4月上旬を除き、ほぼ周年IHNが発病しており、飼育用水はIHNウイルスに汚染されているものと考えられた。稚魚の場合、飼育用水の汚染によりほぼ例外なく発病するが、大型魚では用水がウイルスに汚染されていても、必ずしも直接発病に結びつく傾向はみられなかった。

水質に関しては、水温は前述のとおり、10~14がIHNの発病適水温域と考えられるが、通常の飼育範囲では水中の一般細菌数、アンモニア態窒素、pHおよびDOがIHNの発病に及ぼす影響は明らかにならなかった。

以上の結果から、発病適水温域内では疾病の発生、投薬、過密飼育、選別・移動作業は影響の度合いに差はあるものの、ニジマスに対してストレスとなり、単独あるいは複合してIHN耐過魚にIHNの発病を惹起することが予想された。したがって飼育環境を良好に維持し、魚病の発生を抑えるとともに抗菌剤投与を適切に行い、選別などの作業実施時期に注意するなど養魚管理を適正に行うことがIHN対策として重要である。過密飼育、粗雑な取扱い、低酸素などが介在して細菌病、寄生虫病が起こることはWedemeyer(1970)、Snieszko(1974)らによって報告されているが、ウイルス病に対しても同様に考える必要がある。なお、大型魚については、IHN発病中の群れであっても、健康魚と見られる飼育魚からはIHNウイルスが検出されなかったことから、ウイルスの由来や病原性の論議とともに、耐過魚のウイルス保有状況調査も必要と考えられる。



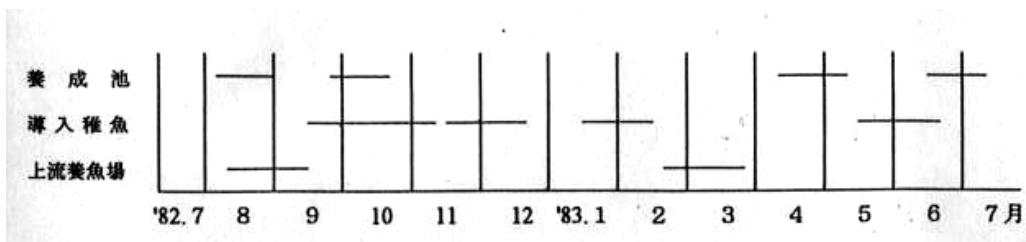


図 18 調査養魚場の水系における I H N 発生状況  
は発病期を示す

### 第三節 I H N の発病と飼育密度の関連性

#### 目 的

サケ・マス類の飼育環境条件のなかでも密度は、飼育魚に与える影響の大きなもののひとつである。過密飼育になると摂餌量の減少や成長の停滞ばかりでなく感染症の流行を引き起こしやすいことが経験的に知られている。しかし、実験的に検証することは難しく、これらに関する報告は少ない。

本節では、ニジマスの餌付け稚魚を用い飼育密度を変えて飼育し、I H N の自然発病と被害量、成長について検討した。

#### 材料と方法

##### 供試魚：

長野県水産試験場で飼育中の親魚から採卵し、ウイルス非汚染用水でふ化飼育したニジマス稚魚である。餌付け後 5 日間経過し、餌付けが完了した 10 万尾の群から 7 万 5 千尾を供試した。平均体重は 0.12 g であった。

##### 飼育水槽：

塩化ビニール製 1.5 × 0.5 × 0.5 m の方形の水槽で水深は 0.4 m、飼育面積は 0.667 m<sup>2</sup>、水容積は 0.267 m<sup>3</sup> である。

##### 試験区分：

試験区は 4 区分とし、それぞれ 5 千、1 万、2 万および 4 万尾を収容した。表 19 には試験区分と供試魚数および水面積 1 m<sup>2</sup>、水容積 1 m<sup>3</sup> 当たりの換算値を示した。

表 19 試験区分と飼育量

区分	供試尾数	飼育密度	
		1 m <sup>2</sup> 当り	1 m <sup>3</sup> 当り
1 区	5,000 尾	7,500 尾	18,750 尾
2 区	10,000	15,000	37,500
3 区	20,000	30,000	75,000
4 区	40,000	60,000	150,000

##### 飼育用水：

水源は湧水であるが、途中 I H N の発病経験のあるニジマス養殖場を経由しているため、I H N に汚染されている可能性の高い用水である。注水量は稚魚 1 万尾当たり毎分 5 とし、排水部の溶存酸素量は 4.5 m / を下回らないようにした。水温は 7.3 ~ 10.5 の範囲にあった。

##### 試験期間と飼育管理：

飼育は 1978 年 1 月 31 日から 3 月 4 日までの 33 日間である。期間中市販のクランブル配合飼料を改変ライトリッツの給餌率表(大渡, 1982)に従い毎日魚体重の 3 ~ 4 % を給餌した。期間中は毎日水槽の掃除を行った。

##### 魚病検査：

死亡魚は毎日取りあげ計数した。また、随時外観症状を観察するとともに鰓の生標本を鏡し、外部寄生虫と細菌の検査を行った。ウイルス検査は全魚体を用い、第一章、第二節に示した方法に従い濾液を R T G - 2 細胞に接種し C P E を観察した。

#### 結 果

##### 飼育経過：

飼育成績を表 20 に、生残率と平均体重を図 19 に、累積死亡率を図 20 に示した。5 千および 1 万尾収容区の飼

育状況は良好で活発に摂餌した。2万および4万尾区は過密状態で、試験開始時から供試魚の一部は飼料が食べられない状況であった。このため両区では飼育開始4日目にやせた瀕死魚が排水部のスクリーンに押し流され、スクリーンの目が詰まる状況になったため取り上げて死亡魚として計数した。この状況は試験終了まで続いた。試験終了時の歩留まりは、1区から順に85.9、64.9、57.6および29.4%で高密度区ほど低かった。同様に平均体重も開始時に0.123gであったものが、1区から順に0.34、0.30、0.21および0.20gとなり高密度区では成長が悪くなった。また飼料効率は1区が105.6%であったのに対し、2区は38.8%、3、4区は増重が無く算出できなかった。

魚病の発生：

7日目に全区で死魚が見られた。死魚では各飼育群の

中の成長の良い魚で筋肉出血やエラの貧血などIHN特有の症状がみられた。これらの死魚からは全区でIHNウイルスが分離された。さらに、全区とも一部の魚に細菌性鰓病が観察された。細菌性鰓病に対しては実験開始8日目および11日目にニフルピリノール2ppm、10分間薬浴を酸素補給しながら止水で実施した。薬浴により1区では細菌性鰓病は見られなくなり、2区では鰓への細菌の寄生がわずかになったが、3、4区では病気は治癒せず試験終了までみられた。IHNは発病後5～14日頃に症状の顕著な死亡魚が多く現れ、死亡率のピークもその時期に一致する傾向が認められた。しかし1区では他区に比べ明瞭なピークがないまま経過した。発病後約2週間でIHN症状を示す死魚は減少したが、その後も引き続き散見された。3、4区では細菌性鰓病が原因と考えられる死亡魚が増加したため、IHNとの区分はできなかった。

表 20 密度を変えて飼育したニジマス稚魚の飼育成績

試験区	1 区	2 区	3 区	4 区
供試尾数(尾)	5,000	10,000	20,000	40,000
重 量(g)	615	1,230	2,460	4,920
平均体重(g)	0.123	0.123	0.123	0.123
取上尾数(尾)	4,294	6,490	11,524	11,750
取上重量(g)	1,460	1,947	2,420	2,350
平均体重(g)	0.34	0.3	0.21	0.2
給 餌 量(g)	800	1,848	2,210	3,365
尾数歩留(%)	85.9	64.9	57.4	29.4
増 重 量(g)	845	717	-40	-2,570
飼料効率(%)	105.6	38.8	---	---

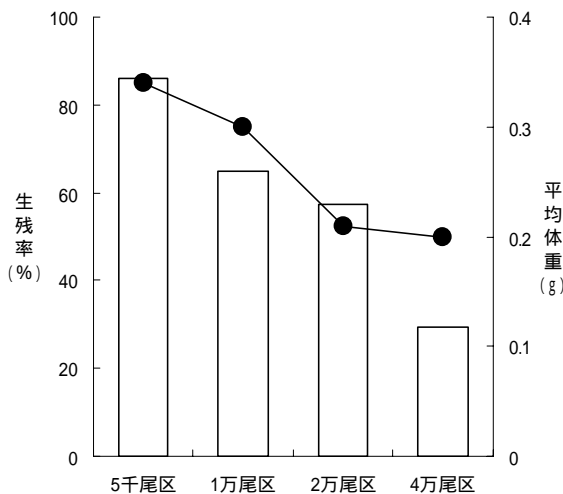


図 19 飼育密度を変えて飼育したニジマス稚魚の生残率と平均体重

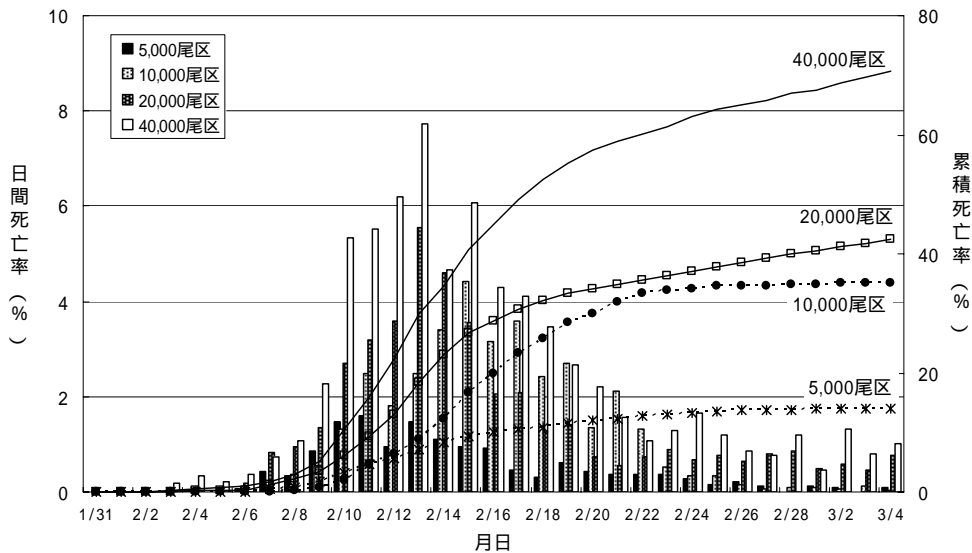


図20 密度の異なる飼育群の日間死亡率と累積死亡率

### 考 察

集約的な養殖において、過密は魚病を発生させる環境ストレス要因として重要なものの一つであり(Wedemeyer 1970)、本章第二節の養魚場の実態調査で明らかになったように、稚魚期にIHNを耐過した20~100gの大型魚では、飼育条件の悪化によりIHNを再発する。Mulcahy and Bauersfeld(1983)は、ベニザケ発眼卵を、同型のふ化器に密度を三段階に変えて収容し、ふ化させ、ふ化稚魚の一部を2ヶ月間飼育したところ、低密度区ではIHNは発生せず、中、高密度区ではIHNが発生し、死亡率は90%以上となったことから、高密度飼育による影響を指摘した。

本実験では、IHNの自然発病は、密度に関係なく実験開始7日目に始まり、各区の死亡魚からIHNウイルス

スが検出された。しかし細菌性鰓病の発生がありIHNによる死亡率の比較はできないが、日間死亡率の変化および生残率には明らかな差がみられた。また、高密度は成長にも大きな影響を与えた。野村(1982)は、注水量の増加とともに収容量を増加させていくと、たとえ排水部で溶存酸素量が健全臨界値以上存在していても、ある収容密度以上になると、成長率、飼料効率、摂餌率および生存率が低下してくることを報告し、この原因として1尾の魚が占める生活空間の狭さに由来するストレス、摂餌行動の障害、池中の流速増加による基礎代謝量の増大を指摘している。過密飼育は魚にストレスを与え、成長阻害や魚病を誘発し、特に魚病については、発病に条件性の強い細菌病や寄生虫病のみならず、IHNに対しても同様に考える必要がある。したがって、IHNに対しては、防疫対策とともに飼育密度を適性に保つなどの飼育環境の改善によって被害の軽減は可能と考えられた。

## 小 括

IHNの発病と環境要因について検討し次の結果を得た。

1. 長野県に発生したIHNの診断事例から、水温と発病件数および死亡率について解析した。IHNは水温4～20の範囲で発病し、10以上～14未満の事例が多く全体の75.6%を占めた。また、水温が7～14の範囲では、水温とIHNによる死亡率の間に相関はみられなかった。
2. 長野県の中堅ニジマス養魚場について、一年間にわたり、魚病発生状況、飼育管理状況を調査した結果、IHNに関し次の結果を得た。

稚魚期にIHNを耐過した魚体重20～100gの養成魚にIHNは4回発病した。いずれも発病前にピブリオ病又は(仮)非寄生性鰓病に罹病していたほか、ピブリオ病治療のためのサルファ剤

投与後にIHNが顕著に現れた事例があった。

当該養魚場の水系はほぼ周年にわたりIHNウイルスにさらされており、養成魚は高密度飼育が常態化していること、ピブリオ病の発病も多くその発病中でも選別作業が行われることなど飼育環境の悪化により大型魚でもIHNが惹起されるものと考えられた。

導入した種苗(稚魚4回、発眼卵1回)は、いずれも稚魚期にIHNが発病し、被害率は10～30%であった。

3. 餌付け時のニジマスを用い、飼育密度を変えてIHNウイルス汚染用水で飼育したところ、全区でIHNと細菌性鰓病が発病したが、高密度になるにしたがい歩留まりは低下し、成長も劣った。

### 第三章 IHNの伝播に関する検討

魚病の伝播様式は、ある世代(親)から次の世代(子)へ卵や精子など生殖に関わって伝染する垂直感染と、それらには関係なく個体から個体へ伝染する水平感染がある。魚類で垂直感染が問題となるのは主に種苗生産を行う場合で、集約的な飼育が行われている稚魚期には、発病個体は少数でも、その後の水平感染によって引き起こされる被害は大きくなるのが一般的である。したがって、わずかな数の病原体保有親魚であってもその影響はきわめて大きいものとなる。対策として病原体フリー親魚を選別するための検査、産出された卵などの消毒による清浄化が必要になる。一方、水平感染は感染源となる病魚や不顕性感染魚などの感染源そのものが導入される場合と、これら感染源で汚染された用水、管理者、活魚輸送等の車、飼育用資機材、動物が媒体となって伝染する場合がある。サケマス類の養殖現場で行われている防疫対策はこの水平感染防止が中心である。現在、わが国で養殖サケ科魚類の重要疾病となっているIHN、IPN、BKDはいずれも北米から発眼卵とともに持ち込まれたものと考えられている。また、第一章でIHNが長野県内で伝播した事例では、病魚や発眼卵の移動とともに伝播したことが明らかになっている。

本章では、主に水平感染に関与する伝染源および伝染経路について検討した。第一節では、卵や稚魚が感染媒体となり得ることを解明するため、実験的にIHNウイルスに感染させた卵や稚魚のウイルス保有状況やその後の発病状況について調査した。第二節では一般養魚場の飼育排水が流入する用水でふ化飼育し、飼育されている親魚のIHNウイルス検出状況とふ化稚魚の発病との関連性について調査した。第三節では伝染源となるIHN感染耐過魚のウイルス保有状況を、0、1、2年魚および親魚について、さらに、21の民間養魚場の1年魚について検査した。また、第四節ではウイルス保有親魚から得られた卵を受精し稚魚まで飼育する間、受精卵、発眼卵、ふ化仔魚および稚魚期にウイルス検査を実施し、検出の可否とその後のIHNの発病の有無を調査した。

#### 第一節 IHN伝播に関する実験的解明

##### 目 的

IHNの伝染源としては病魚、感染を耐過した成魚、

親魚およびウイルス保有親魚から得られた卵・精液等は重要と考えられている。これらがウイルスを保有するに至る過程や保有状況、ウイルスの排出を明らかにすることは、当ウイルスの伝染源や伝染経路を特定し、その伝播経路を遮断する上で非常に重要である。

本節では、IHNウイルスに曝露された卵や稚魚がウイルスを保有し、さらに感染源となる可能性について検討するため、ニジマスの卵からふ化仔魚期までの各発生段階でIHNウイルスの人為感染操作を行い、それぞれ生育過程で、ウイルス回収の可否を確かめるとともに稚魚期まで飼育し、発病の有無を調査した。実験1では未受精卵・発眼卵・ふ化仔魚に、実験2では稚魚に対し感染実験を行った。

#### 実験1．卵およびふ化仔魚を用いた感染実験．

##### 材料と方法

供試卵・精液・発眼卵およびふ化仔魚：

長野県水産試験場で飼育されたニジマス親魚から得られた卵、精液およびそれらを受精して得られた発眼卵、ふ化仔魚を用いた。供試卵数および稚魚数は表21に示した。

供試ウイルス：

0.2~0.5gのIHN罹病ニジマス稚魚を氷冷下で磨砕し、Hanks' BSSで5倍又は10倍希釈した後、4で15分間(3,000rpm)遠心処理した上澄液およびその上澄液をRTG-2細胞を用いて15で7~10日間培養した培養ウイルス液の二種類を実験に供した。

試験区分と感染方法：

表21に示したように、上澄液と培養ウイルス液を混合したウイルス液に未受精卵を15分間浸漬した試験区2区、また、未受精卵と同じウイルス液を等量の精液に加えて受精した試験区2区、培養ウイルス液のみを精液に等量加えて受精した試験区計3区、さらに、上澄液と培養ウイルス液の混合液にふ化12日前の発眼卵を24時間浸漬した試験区1区、ふ化仔魚を60分間浸漬した試験区2区を設けた。なお、未受精卵、受精卵、発眼卵をウイルス液に浸漬した区と浸漬をしない区を設け、PVP-

書式変更：箇条書きと段落番号

ヨード剤で 50ppm、15 分間消毒して対照区とした。また、ふ化仔魚についてはウイルス液に浸漬しない対照区のみを設けた。

ウイルス検査：

感染操作を終了した時点（実験開始時）および餌付け後 1 ヶ月目（実験終了時）に全区についてウイルス検査を実施し、その間、発眼、ふ化および浮上時にも適宜ウイルス検査を実施した。なお、ふ化仔魚区は浮上に IHN が発病したため、その時点でウイルス検査を行い実

験を終了した。ウイルス検査用サンプルとして、卵は 5 粒、稚魚は 5 尾用いた。ウイルス検査は第一章第一節の方法と同様に行ったが、未受精卵、受精卵および発眼卵は乳鉢で磨砕後 Hanks' B S S で 100 倍希釈し、0.45 μm 孔径のメンブランフィルターで濾過したものを接種液とした。

飼育用水：

用水は脱塩素水道水を使用した。水温は 4.3~9.2 である。

表21 IHNウイルスの未受精卵、精液、発眼卵及びふ化仔魚への感染

試験区	供試卵又は ぶ化仔魚	ウイルス感染方法
1	未受精卵	ウイルス液（病魚 3 g を Hanks' B S S で 5 倍希釈し、その遠心上澄液 10m に培養ウイルス液 5m を加えたもの）5m を供試卵 2,000 粒に加え、15 分間静置後等調液で洗卵、受精
2	未受精卵	ウイルス液（試験区 1 の遠心上澄液 10m に培養ウイルス液 2m を加えたもの）5m を供試卵 500 粒に加え、15 分間静置後等調液で洗卵、受精
3	ウイルス加精液による受精卵	試験区 1 のウイルス液 1m を精液 1m に加えたもので卵 2,000 粒を受精。
4	ウイルス加精液による受精卵	試験区 2 のウイルス液 1m を精液 1m に加えたもので卵 500 粒を受精
5	ウイルス加精液による受精卵	培養ウイルス液 1m を精液 1m に加えたもので卵 2,000 粒を受精
6	発眼卵(ふ化前 12 日)	ウイルス液（病魚 5 g を Hanks' B S S で 10 倍希釈し、その遠心上澄液 40m に培養ウイルス液 3m を加えたもの）10m を卵 1,500 粒に加え、24 時間静置
7	ぶ化仔魚	培養ウイルス液 3m を加えた地下水 100m に供試魚 100 尾を入れ、60 分間浸漬
8	ぶ化仔魚	試験区 6 のウイルス液 20m を加えた地下水 2,000m に供試魚 600 尾を入れ、60 分間浸漬
9	未受精卵対照	試験区 1 と同様に感染、2,000 粒を等調液で洗卵、受精、PVP-I 消毒
10	未受精卵対照	ウイルス感染なし、2,000 粒を洗卵、受精、PVP-I 消毒
11	受精卵対照	試験区 3 と同様に感染、2,000 粒を洗卵、受精、PVP-I 消毒
12	受精卵対照	ウイルス無添加精 1m 液で 2,000 粒受精、PVP-I 消毒
13	発眼卵対照	試験区 6 と同様に感染、1,500 粒、PVP-I 消毒
14	発眼卵対照	ウイルス感染なし、2,000 粒を 24 時間、水中に静置、PVP-I 消毒
15	ぶ化仔魚対照	ウイルス感染なし、供試魚 100 尾を地下水 100m 中に 60 分間静置

結 果

ウイルス検査および発病状況の結果を表 22 に示した。ウイルス添加精液で受精した受精卵、ウイルス液に浸漬した未受精卵と発眼卵およびふ化仔魚のいずれもウイル

ス感染操作直後の検査では IHNウイルスが検出された。ふ化仔魚は感染後 5 および 14 日に発病し、死亡魚から IHNウイルスが再分離された。未受精卵、受精卵および発眼卵は、それぞれ発眼、ふ化、浮上時いずれの検査でも IHNウイルスは分離されず、餌付け後 1 ヶ月経過ま

で IHN の発病はなく、終了時のウイルス検査でもウイルスは検出されなかった。対照区はウイルス感染操作の有無にかかわらず、PVP-ヨード剤消毒後の検査ではい

ずれもウイルスは検出されず、餌付け後1ヶ月経過まで IHN の発病はなかった。

表 22 人為感染させた未受精卵、受精卵、発眼卵及びふ化仔魚からのウイルスの検出

試験区	供試卵又はふ化仔魚	感染方法	発病の有無	ウイルス検査				
				開始時	発眼卵	ふ化仔魚	浮上稚魚	餌付1ヶ月
1	未受精卵	ウイルス液中に15分静置	無	+	-			-
2	未受精卵	ウイルス液中に15分静置	無	+		-	-	-
3	受精卵	ウイルス液加精液で受精	無	+	-			-
4	受精卵	ウイルス液加精液で受精	無	+		-	-	-
5	受精卵	ウイルス液加精液で受精	無	+			-	-
6	発眼卵	ウイルス液中に24時間静置	無	+			-	-
7	ふ化仔魚	ウイルス液中に60分浸漬	有	感染後5日	+			
8	ふ化仔魚	ウイルス液中に60分浸漬	有	感染後14日	+			
9	未受精卵対照	感染操作後PVP-I消毒	無	-				-
10	未受精卵対照	感染せずPVP-I消毒	無	-				-
11	受精卵対照	感染操作後PVP-I消毒	無	-				-
12	受精卵対照	感染せずPVP-I消毒	無	-				-
13	発眼卵対照	感染操作後PVP-I消毒	無	-				-
14	発眼卵対照	感染せずPVP-I消毒	無	-				-
15	ふ化仔魚対照	感染せず	無	-				-

#### 考 察

IHN の伝播経路を検討するため、IHN ウイルスを感染操作した未受精卵、受精卵、発眼卵およびふ化仔魚をウイルスフリー用水で飼育し、それぞれ発眼期、仔・稚魚期にウイルスの検出を行うとともに発病の有無を観察した。

感染操作によってウイルスは卵表面を汚染するほか、受精時に精子とともに卵内に侵入するものと予想されたが、ウイルス感染操作直後の卵およびウイルスに感染させたふ化仔魚からウイルスは検出できたものの、ウイルス液に浸漬した未受精卵や発眼卵、ウイルス添加精液で媒精した受精卵あるいはその発眼卵からウイルスは検出できず、それをふ化飼育した稚魚にも発病がなかった。この結果から、ウイルスは卵表面を汚染するものの、卵内へは侵入しないかあるいは卵内へ侵入したウイルスは不活化されることが推測される。しかし、第一章第四節で例示したように、未消毒卵の搬入によって発病する事例も確認されており、ふ化場やその水系のウイルス汚染

のほか、卵の移動に伴う器具・機材の汚染などは発病要因になるものと考えられた。

Amend(1975)は、IHN 耐過親魚から得られた受精卵にウイルスを証明できず、これを飼育して得られた稚魚にも発病がなかったことを報告し、この理由としてウイルス汚染はあったとしても卵表面に限られ、ふ化槽に收容されている間に流されてしまったと考察した。一方、Mulcahy and Pascho(1985)は、ベニザケ卵を用いた実験から IHN ウイルスの垂直感染の可能性を示唆した。吉水ら(1989)はサクラマス・サケの受精直後の卵および発眼卵内に、IHN ウイルスを強制的に接種し、経過を観察した。その結果、受精直後卵ではサクラマスは1週間、サケは5週間以内にウイルスが検出されなくなり、それぞれ3週間および5週間以内に全卵が死亡し、受精卵内はウイルスが増殖できる環境にないとしている。また、発眼卵内のウイルスは増殖し、サクラマスは7日までに全個体が、サケは15日までに90%が死亡した。以上のことから、たとえ受精時に精子とともに卵内に侵入したとしてもウイルスは増殖できずに失活するものと推察される。したがって、養魚場では受精卵を消毒することで

卵収容場所の用水やふ化場周辺のウイルス汚染を防ぎ、さらに発眼期に死卵を取り除き、再び消毒を実施することにより、IHNウイルスフリーのふ化仔魚が得られると考える。

## 実験2. 稚魚を用いた感染実験.

### 材料と方法

#### 1. ウイルス濃度を変えた試験

供試魚：

1975年11月長野県水産試験場のニジマス親魚から採卵し、脱塩素水道水でふ化飼育した平均体重0.12gの浮上稚魚を用いた。

供試ウイルス：

1974年12月に長野県水産試験場飼育のニジマス病稚魚から分離したIHNウイルス(HV7405株)を、RTG-2細胞で培養し供試した。ウイルス感染価は、第1回試験は $10^{7.3}$ TCID<sub>50</sub>/m、第2回試験は $10^{7.4}$ TCID<sub>50</sub>/mであった。

感染方法：

培養ウイルス液を地下水で希釈し、第1回試験では100倍、1000倍、1万倍および10万倍液( $10^{5.3}$ 、 $10^{4.3}$ 、 $10^{3.3}$ 、 $10^{2.3}$ TCID<sub>50</sub>/m)各500mを作り、供試魚50尾を1時間浸漬した。第2回試験ではウイルス濃度を1万、10万および100万倍( $10^{3.4}$ 、 $10^{2.4}$ 、 $10^{1.4}$ TCID<sub>50</sub>/m)とし、第1回試験と同様に浸漬した。試験区はそれぞれ重複区を設けた。対照区は地下水中に1時間浸漬した。

ウイルス検査：

死亡の初期、盛期および末期の死亡魚について、第一章第一節に示した方法により実施した。

飼育用水：

脱塩素水道水を用いた。水温は3.9~8.6である。

飼育期間：

第1回試験は1975年12月3日から'76年1月14日までの6週間、第2回試験は1975年12月27日から'76年2月7日の6週間である。

#### 2. 供試魚の大きさを変えた試験

供試魚：

長野県水産試験場のニジマス親魚群から1976年10月~1977年2月に採卵し、ふ化飼育した平均体重0.12、0.95および2.10gの稚魚各100尾を用いた。

供試ウイルス：

IHNウイルスHV7405株で感染価は $10^{5.9}$ TCID<sub>50</sub>/mであった。

感染方法：

培養ウイルス液の12,600倍希釈液( $10^{1.8}$ TCID<sub>50</sub>/m)を感染用ウイルス液とし、0.12g、0.95g、2.10gの稚魚をそれぞれ1、5、10の感染用ウイルス液に1時間浸漬した。対照区はそれぞれ脱塩素水道水中に1時間浸漬した。

飼育用水：

脱塩素水道水を用いた。水温は6.4~11.0である。

飼育期間：

1977年4月11日から4週間である。

### 結 果

#### 1. ウイルス濃度を変えた試験

第1、2回試験の累積死亡率を、それぞれ図21、22に示した。第1回試験では $10^{2.3}$ の重複区の片方を除きすべてIHNが発病し、感染から発病までの期間は高濃度区ほど短く、 $10^{5.3}$ 区は5、6日、 $10^{4.3}$ 区は8日、 $10^{3.3}$ 区は9、12日、 $10^{2.3}$ 区は13日であった。また、発病後の日間死亡率についても高濃度区ほど高い傾向が見られた。試験区の最終的な累積死亡率は、 $10^{5.3}$ 区では30日までに、その他の区でも試験終了時までにはほぼ100%に達したが、対照区では死亡魚は観察されなかった。

第2回試験では $10^{3.4}$ 、 $10^{2.4}$ 区でIHNが発病し、感染から発病までの日数は12日~14日で、その後1週間経過して日間死亡率が高くなり $10^{3.4}$ 区では26日までに、 $10^{2.4}$ 区では37日までに100%死亡したが、 $10^{1.4}$ と対照区では死亡魚は観察されなかった。いずれの試験区においても死亡魚はIHNの症状を示し、IHNウイルスが分離された。

#### 2. 供試魚の大きさを変えた試験

累積死亡率を図23に示した。0.12g稚魚では感染1週間後から死亡が始まり、累積死亡率は初めの1週間で52%に達した。0.95g稚魚では0.12g稚魚と同様、感染



後1週間経過して発病したが、累積死亡率は1週後に11%、2週後に25%となった。2.10g稚魚では、感染2週間後に発病し、死亡率は低いまま推移した。感染4週間目の累積死亡率は、小型魚から順に92%、35%、11%

となり、死亡魚はいずれもIHN症状を示し、IHNウイルスが分離された。なお、対照区では発病は観察されなかった。

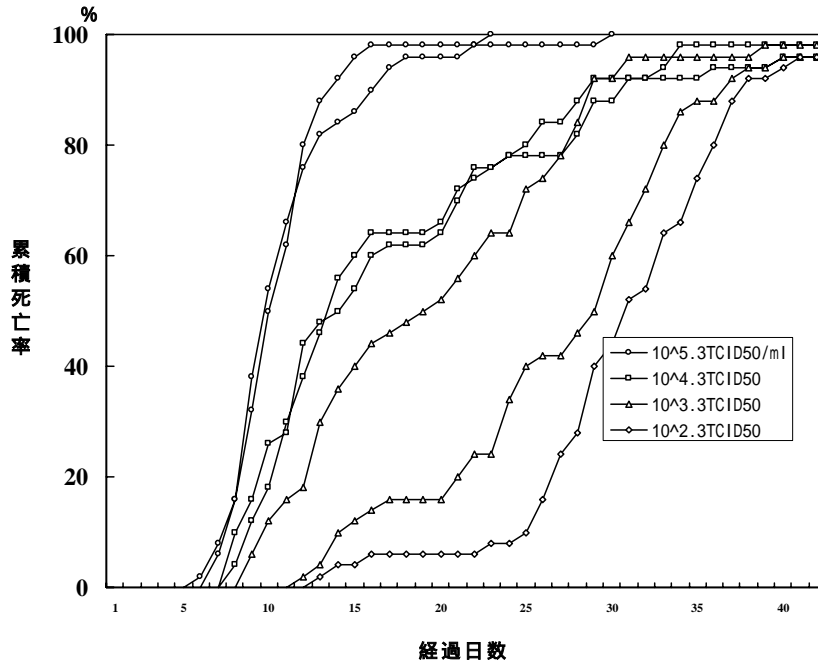


図21 IHNウイルス濃度と人為感染したニジマス稚魚の累積死亡率の関係(第1回)

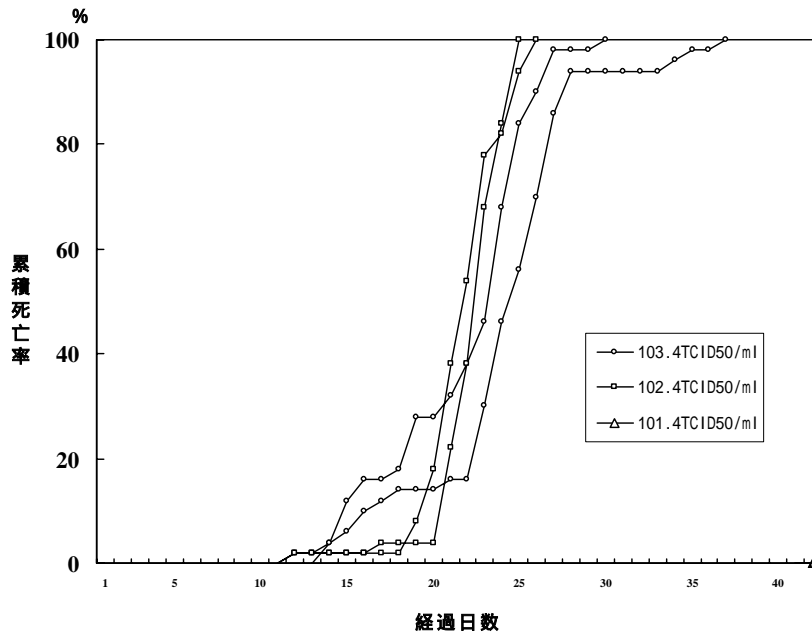


図22 IHNウイルス濃度と人為感染したニジマス稚魚の累積死亡率の関係(第2回)

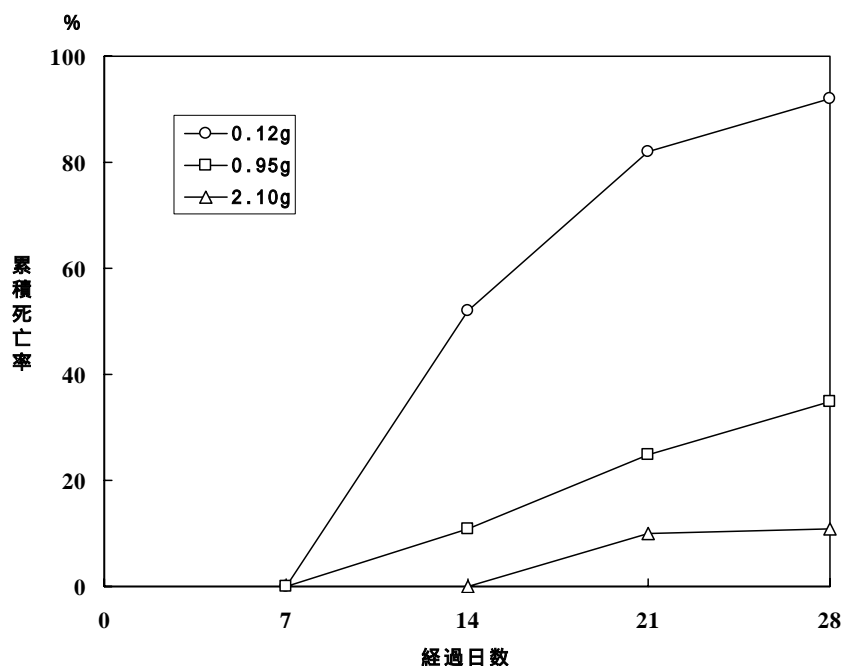


図 23 IHNVウイルスに人為感染したニジマスの大きさと累積死亡率の関係

#### 考 察

IHNVウイルスに感受性の高い0.12gのニジマス稚魚を用い、ウイルス濃度を変えた2回の感染実験によって、ウイルス濃度が高いほど感染から発病までの期間は短く、日間死亡率は高くなる傾向がみられること。感受性の強い稚魚の場合、低濃度のウイルスによっても感染が起り、一旦発病すると累積死亡率は100%近くに達することが明らかになった。

次に、IHNVウイルスを平均体重0.12、1および2gのニジマス稚魚に感染させたところ、4週間後までの死亡率は0.12g稚魚が92%に達したのに対し、1g稚魚は35%、2g稚魚は11%にとどまった。この結果は、成長にともなってIHNVに対する抵抗性が増加することを示すものと考えられ、第一章第一節で述べたように発病時の魚体重が小さいほど死亡率は高い傾向があることを考えあわせると、ふ化後の成長が死亡率低下に与える影響は強いものと考えられる。長野県における初発生から3年間のIHNV発生事例61事例について、発病時の魚体重別に分類すると、IHNVに感受性の高いとされる2g未満魚の発病件数が42件で68.9%を占めていることがわ

かった。餌付けから2gサイズまでの成育期間は、およそ3ヶ月を要することから、IHNVに感受性の高い餌付けから3ヶ月間は特に防疫対策が必要と考えられる。

#### 第二節 IHNVウイルス汚染用水によるふ化飼育と発病

##### 目 的

IHNVに感染した病魚、ウイルス保有親魚はウイルスを水中に排出し、これが感染源となっているとする報告が多い。Leong and Turner(1979)はIHNV発病魚の飼育水からIHNVウイルスを検出し、このウイルスが感受性期の魚への感染源になっているであろうと述べ、Amend(1975)、Mulcahy *et al.*(1983a)は、ベニザケ親魚の排出するウイルスが飼育用水を汚染し、これが感染源になると推察している。また、第一章第四節の調査で同一水系の上流養魚場におけるIHNVの発病が下流養魚場の発病原因と考えられる事例、耐過魚を放流したことによる用水汚染が原因で発病したと推定できる事例を報告した。

本節では、ふ化用水のIHNVウイルス汚染と発病の関係を明らかにするため、採卵日の異なる受精卵を汚染用

水と非汚染用水でふ化飼育し発病の有無を調べた。同時に供試親魚の体腔液、精液についてウイルス検査を実施した。

#### 材料と方法

##### ふ化用水：

上流にIHNを耐過した稚魚や成魚および非耐過親魚が飼育されている用水(汚染用水)およびIHNウイルスによる汚染の恐れのない地下水(非汚染水)を用いて、1974年と1975年にそれぞれ7ロットについて実験を行った。

##### 供試卵：

1974年の実験では、長野県水産試験場において9月25日から11月27日の間7回にわたりニジマス親魚から採卵し、受精卵を採卵日毎に約1万粒ずつ両用水にふ化収

容し、発眼後それぞれ3,000粒をふ化飼育用とした。なお、供試卵は未受精および発眼時にPVP-ヨード剤(商品名：水産用イソジン液)で50ppm(有効沃素濃度)15分間消毒した。また、比較のため未消毒区を設けた。

1975年の実験では、9月22日から11月4日の間に7回採卵し、1974年の実験と同様にふ化飼育した。PVP-ヨード剤による卵消毒も同様に実施した。

##### ふ化飼育水槽：

受精卵と発眼卵はそれぞれ12.5容(31×26×20cm)の塩化ビニル製のふ化槽に収容し、浮上期まで飼育した。浮上後は40容(50×24×33cm)の塩化ビニル水槽で飼育した。

##### 飼育水温：

1974および75年の汚染水、非汚染水の月別の最高および最低水温を表23に示した。

表23 汚染・非汚染用水の水温( )

1974年9月～1975年2月			1975年9月～1976年2月		
期 間	汚染用水	非汚染用水	期 間	汚染用水	非汚染用水
'74. 9月下	13.5-17.0	14.3-16.0	'75. 9月下	10.7-15.2	12.8-15.0
10月	10.5-14.7	12.2-15.6	10月	10.8-14.7	12.3-17.0
11月	8.2-13.5	9.2-12.5	11月	8.8-13.2	8.0-11.9
12月	6.0-10.5	7.0- 9.1	12月	8.4-13.0	5.8- 8.6
'75. 1月	3.0- 8.5	6.0- 8.5	'75. 1月	6.7-12.2	3.9- 7.3
2月	3.8- 8.8	5.4- 8.0	2月	6.8-11.9	5.2- 8.2

##### 供試親魚群のIHNウイルス検査：

採卵日毎に、雌親魚の排卵孔からは体腔液を、雄親魚からは精液を採取し、検査用サンプルとした。サンプルは無希釈およびHanks' BSSで5倍希釈し、体腔液は1尾分を1検体、精液は5尾分を1検体としてウイルス検査に供した。それぞれの検体は0.45μm孔径のメンブランフィルターで濾過し、その0.1mをスクリュウキャップ付きのガラス試験管に1mの培地とともに培養したRTG-2細胞に接種した後、培養温度15で10日間CPEの発現を観察した。また、分離されたウイルスについては、IHN家兔抗血清を用い定性的中和試験を実施した。

##### 死亡魚のウイルス検査：

発病後死亡魚のウイルス検査は、第一章第一節と同様

の方法によった。

#### 結 果

1974年および1975年の発病状況を表24、25に示した。また、供試親魚のウイルス検出状況を表26に示した。

両年とも、卵のPVP-ヨード剤消毒の有無とその時期にかかわらず、汚染水区ではすべてIHNが発病し、非汚染水区では発病はみられなかった。非汚染水区では、浮上後2ヶ月間の飼育でも発病はみられなかった。

汚染水区の発病時期は、両年とも11月下旬以降で、1974年は9月採卵群のみ餌付け後に発病したが、その他の群は浮上前または浮上直後の稚魚に発病した。1975年はすべて餌付け後の稚魚に発病し、死亡率はいずれも90

表 24 IHNウイルスによる汚染用水と非汚染用水でふ化飼育したニジマスの発病状況(1974)

採卵 年月日	汚染用水区							非汚染用水区				
	卵消毒		ふ化年月日	浮上年月日	発病		発病時の 発生段階	卵消毒		ふ化年月日	浮上年月日	発病 有無
	未受精卵	発眼卵			有無	年月日		未受精卵	発眼卵			
'74. 9.25	無	有	'74.10.26	'74.11. 9	有	'74.11.25	餌付 14 日後	無	有	'74.10.26	'74.11.12	無
10.15	無	有	11.18	12. 1	有	12. 1	浮上直後	無	有	11.18	12. 1	無
10.23	無	有	11.26	12.23	有	12.23	浮上直後	無	有	11.27	12.23	無
10.31	無	有	12. 8	-	有	12.25	浮上前	無	有	12. 8	'75. 1. 4	無
11.14	無	有	12.25	-	有	'75. 1.14	浮上前	有	無	12.23	1.16	無
11. 2	無	無	12.28	-	有	1.17	浮上前	無	無	12.28	1.22	無
11.27	有	有	'75. 1. 7	-	有	1.27	浮上前	有	無	75. 1. 6	1.29	無

表 25 IHNウイルスによる汚染用水と非汚染用水でふ化飼育したニジマスの発病状況(1975)

採卵 年月日	汚染用水区							非汚染用水区				
	卵消毒		ふ化年月日	浮上年月日	発病		発病時の 発生段階	卵消毒		ふ化年月日	浮上年月日	発病 有無
	受精直後	発眼卵			有無	年月日		受精直後	発眼卵			
'75.9.22	有	有	'75.10.12	'75.10.27	有	'75.11.19	餌付 3 週後	有	有	'75.10.15	'75.11. 3	無
9.29	有	有	10.27	11.15	有	11.19	餌付 4 日後	有	有	10.27	11.15	無
10. 6	有	有	10.31	11. 2	有	12.18	餌付 4 週後	有	有	11. 2	11.28	無
10.14	有	有	11.12	11.28	有	12.21	餌付 3 週後	有	有	11.14	11. 3	無
10. 2	有	有	11.16	12. 3	有	12.27	餌付 3 週後	有	有	11.18	12. 1	無
10.27	有	有	11.26	12.15	有	'76. 1. 9	餌付 3.5 週後	有	有	11.29	'76. 1. 4	無
11. 4	有	有	12. 4	'76. 1. 4	有	1.19	餌付 2 週後	有	有	12. 8	1. 2	無

%以上と推定され、ふ化仔魚では、餌付け後の稚魚に比べて死亡率が高くなる傾向がみられた。

供試親魚のウイルス検査では1974年は10月下旬、1975年は11月上旬に雌親魚の体腔液からIHNウイルスが初めて検出された。検出率は1974年は8.6%、1975年は4.1%であった。雄親魚からは1975年の11月下旬に1検体から検出された。

表 26 供試親魚のIHNウイルス保有状況  
雌は体腔液を個体毎に、雄は精液5尾分を1検体とした(陽性/供試数)

	1974年		1975年	
	雌	雄	雌	雄
9月下旬	0 / 6	0 / 3	0 / 29	-
10月上旬	0 / 3	0 / 2	0 / 10	-
10月中旬	-	-	0 / 10	-
10月下旬	1 / 8	0 / 1	0 / 10	0 / 1
11月上旬	1 / 4	0 / 1	2 / 9	0 / 1
11月中旬	1 / 9	0 / 1	0 / 26	0 / 2
11月下旬	0 / 20	-	2 / 14	1 / 3
12月上旬	1 / 8	0 / 1	1 / 15	0 / 2

### 考 察

長野県水産試験場で飼育中のニジマス雌親魚からIHNウイルスが検出されたのは、1974年は10月下旬、1975年は11月上旬以降であった。したがって、各年の親魚群はウイルスを保有しており、供試卵はIHNウイルス汚染があったものと考えられる。この卵を用いてIHNウイルス汚染水および非汚染水でふ化飼育をしたところ、汚染水使用区では消毒の有無にかかわらず14回の全事例でIHNが発病し、非汚染水使用区では発病しなかった。IHNの発病を抑えるためには、IHNウイルスに感受性の高い仔稚魚期のふ化飼育には非汚染水の利用が不可欠と考えられる。

一方、非汚染水を用いた場合には消毒を実施しない場合でも発病が無く、このことは、前節の実験的にウイルス汚染卵を非汚染水で飼育した結果とAmend(1975)の報告が一致し、IHNの発病には卵のウイルス汚染の有無よりも、ふ化場やその水系のウイルス汚染が大きく影響することを示唆している。しかし防疫の観点からは、卵消毒によって得られたウイルスフリー卵を導入することにより周辺のウイルス汚染を防ぐことが極めて重要と考えられる。

汚染水飼育でのIHNの発生時期は11月25日('74)

および11月19日('75)で、これはその年の親魚の体腔液からIHNウイルスがはじめて分離されてから3~4週間後にあたる。水産試験場の水系では上流の民間養魚者も含め、ニジマスの産卵は例年9月下旬に始まり11月を盛期に翌年1月までの約4ヶ月間続けられている。産卵盛期の11月には成熟親魚数が増加し、親魚から飼育用水中に排出されるIHNウイルス量も多くなると推定され、産卵期親魚が排出したIHNウイルスが汚染源となり、この用水で飼育された稚魚に発病が惹起されたものと考えられる。

### 第三節 IHN耐過魚のウイルス保有率

#### 目 的

前節で産卵親魚が排出するウイルス汚染が飼育水の汚染源になり得ることを明らかにした。しかし、産卵期以外の飼育水のウイルス汚染の可能性、特に、感染耐過魚からのウイルス排出状況とこれらの感染源としてのポテンシャルについては明らかではない。

本節では、IHNウイルスの養殖場における動態を明らかにするため、稚魚期に感染耐過した魚群の成長段階別にIHNウイルスの保有率を調べた。実験1では長野県水産試験場で飼育し、IHNを感染耐過したニジマス0年、1年および2年魚の3群について、実験2では県内のニジマス養魚場の感染耐過したニジマス1年魚について、実験3では長野県水産試験場および民間養魚場のニジマス産卵期親魚について、それぞれウイルス保有状況を調査した。

#### 材料と方法

##### 1. 長野県水産試験場におけるIHN感染耐過魚のウイルス保有状況(実験1)

供試魚:

供試した3群の発病期と検査用試料の採取時期を図24に示した。第1群は1974年1~4月に発病後、生残した約3万尾を24ヶ月間飼育した2年魚、第2群は1975年2~4月に発病後、生残した約1.5万尾を13および14ヶ月間飼育した1年魚で、第1群は1976年4月19日に、第2群は1976年5月2日と5月29日に試料を採取した。また、第3群は1976年2月に発病し、4月に終息した2万尾の群れで、終息期の4月16日(0ヶ月経過)および1、2、5ヶ月経過した同年5月21日、6月30日、9月1日に試料を採取した。飼育用水は飼育池の上

流約 1 km で湧出し、途中養魚場を経由するためウイルス病や細菌病などに汚染した湧水で、年間 7 ~ 20 の幅で水温が変動する。

ウイルス検査用試料の採取と調製：

飼育池から 1 群あたり 8 ~ 22 尾のニジマスを採捕し、

1 尾 1 検体として、魚体重が 0.5 g 未満の稚魚は全魚体を、5 g 未満の稚魚は腎臓を含む全内臓を、それ以上は腎臓、脾臓およびすい臓を含む幽門垂の一部をそれぞれ約 0.5 g 摘出してウイルス検査に供した。ウイルス検査は第一章第一節に示した方法と同様である。

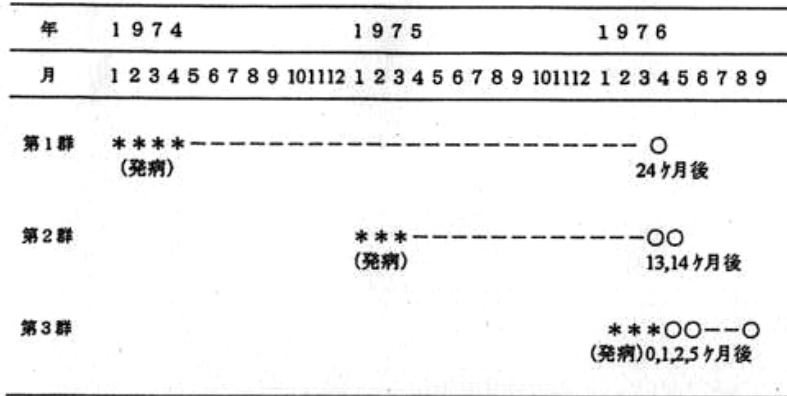


図 24 IHN 感染耐過魚のサンプリング時期  
( \* 印は発病期、 ○ 印はサンプリング月を示す )

2 . 民間養魚場の 1 年魚のウイルス保有状況 ( 実験 2 )  
供試魚：

長野県内の IHN 耐過魚を飼育している 21 養魚場および未発病の 5 養魚場で飼育されているニジマス 1 年魚 ( 魚体重 100 ~ 140 g ) を用いた。

ウイルス検査用試料の採取と調製：

各養魚場で飼育中のニジマスを 5 尾ずつ取上げ、氷冷して水産試験場に持ち帰り検査用試料とした。試料は、5 尾分を 1 検体として実験 1 と同様の方法により調製し、ウイルス検査に供した。ウイルス検査は 1976 年 5 ~ 7 月に実施した。

3 . 産卵期親魚のウイルス保有状況 ( 実験 3 )

供試魚：

1974 年から 1977 年に長野県水産試験場で飼育中の産卵期のニジマスを用いた。1976、1977 年に産卵期を迎えた親魚はそれぞれ 1973、1974 年に採卵し、稚魚期に IHN を耐過した満 3 年魚である。1974、1975 年に産卵期を迎えた親魚は IHN を耐過していないが、同場および上流養魚場で飼育している稚魚に IHN が発病し、IHN ウイルス汚染水で飼育されたものである。1974 年は雌 64

尾、雄 35 尾、1975 年は雌 154 尾、雄 45 尾、1976 年は雌 76 尾、1977 年は雌 88 尾を供試した。

1974 年 11 ~ 12 月に産卵期を迎えた三つの県内民間養魚場の親魚を用いた。三養魚場のうち二養魚場の供試親魚はいずれも IHN を耐過していないが、1974 年 1 ~ 2 月に同一養魚場内の稚魚に発病があり、IHN ウイルス汚染水で約 10 ヶ月飼育されたものである。二つの養魚場からは雌 88 尾および雄 24 尾を検査に供した。また、IHN 未発病の一養魚場からは雌 9 尾、雄 7 尾を採取し検査に供した。

ウイルス検査用試料の採取と調製：

雌は体腔液、雄は精液を用いた。これらの採取にあたっては、魚体表面の水分を十分拭き取った後、搾出法により滅菌スピッツ管内に卵と体腔液または精液を適量採取した。体腔液および精液は Hanks' B S S で 5 倍希釈し、体腔液が少量の場合は採取した卵を Hanks' B S S で洗浄し、その洗浄液を接種液とした。体腔液は 1 尾 1 検体とし、精液は 5 尾分を 1 検体とし、 1 尾を 1 検体とした。ウイルス検査方法は実験 1 と同様である。

結 果

実験 1 :

長野県水産試験場の感染耐過魚のウイルス保有状況を表 27 に示した。2 年魚(第 1 群)は 24 ヶ月後の検査で、1 年魚(第 2 群)は 13 および 14 ヶ月後の検査でいずれも IHN ウイルスは検出されなかった。0 年魚(第 3 群)は、IHN 終息期の稚魚では 20 尾中 4 尾から IHN ウイルスが分離されたが、終息後 1、2 および 5 ヶ月経過した稚魚では検出されなかった。

実験 2 :

民間養魚場の 1 年魚のウイルス保有状況を表 28 に示した。21 養魚場の IHN 耐過魚 21 検体からはいずれもウイルスは検出されなかった。また、未発病の 5 養魚場から得られた 5 検体からも IHN ウイルスは検出されなかった。

実験 3 :

産卵期親魚について、長野県水産試験場および民間養魚場の親魚のウイルス保有状況を表 29 および表 30 に示した。

水産試験場飼育親魚では IHN ウイルス汚染水飼育親魚および IHN を耐過した親魚いずれからも IHN ウイルスが検出された。雌親魚では、1974 年 10 月～12 月、1975 年 11 月～12 月、1976 年 11 月、1977 年 11 月～12 月に IHN ウイルスが分離された。ウイルス保有率は 1974 年から順に 7.8、3.7、3.1 および 10.2% であった。雄親魚については 1974 および 1975 年に検査し、1975 年 11 月に 1 尾から分離された。

民間養魚場の親魚の検査では IHN 汚染池の雌 88 尾中 9 尾(10.2%)から、雄 24 尾中 2 尾(8.3%)から IHN ウイルスが分離された。IHN 未発病池の親魚からは雄、雌ともウイルスは分離されなかった。

表 27 IHN 耐過魚のウイルス検査

魚の年齢	0 年(第 3 群)				1 年(第 2 群)		2 年(第 1 群)
	0 (発病末期)	1	2	5	13	14	24
IHN 発病後の経過月数							
IHNV の分離 陽性数/供試尾数	4/20	0/8	0/20	0/20	0/8	0/22	0/20

表 28 長野県内民間養殖場のニジマス 1 年魚のウイルス検査(1976)

対象養殖場数	ウイルス分離*
IHN 発病 21	0/21
IHN 未発病 5	0/5

\* 5 尾を 1 検体とした

表 29 長野県水産試験場で飼育中のニジマス産卵期親魚のウイルス検査  
雌は体腔液、雄は精液を供試した(陽性数/供試尾数)

年・雌雄 月	1974		1975		1976	1977
	雌	雄	雌	雄	雌	雌
9	0/6	0/6	9/29			
10	1/11	0/2	0/30		0/20	
11	2/31	0/2	4/49		3/46	2/41
12	2/16	0/5	1/26		0/10	7/47
1			* 0/20			
計	5/64	0/15	14/154		3/76	9/88

\*1976 年 1 月実施(1975 年産卵群)

表 30 長野県内民間養殖場のニジマス産卵期親魚の IHN ウイルス検査(1974)  
雌は体腔液、雄は精液を供試した(陽性数/供試尾数)

対象養殖場	雌	雄
IHN 発病あり	9/88	2/24
IHN 未発病	0/9	0/7

## 考 察

IHN感染耐過魚およびIHNウイルス汚染用水で飼育されたニジマスのウイルス保有率について調査した。長野県水産試験場で飼育されている年令の異なる3群についてみると、稚魚ではIHN発病末期に20%の個体からIHNウイルスが検出されたが、終息後1、2および5ヶ月の検査では検出されなかった。また、耐過後13、14ヶ月および24ヶ月経過した1、2年魚でもウイルスは検出されず、さらに長野県内21ヶ所の養魚場のIHNを耐過したニジマス1年魚からも検出されなかった。一方、IHNを耐過した産卵期の親魚およびIHNウイルス汚染水で飼育された産卵期親魚からはIHNウイルスが分離された。すなわち、発病中の病魚を除くと産卵期の成熟した親魚以外からIHNウイルスは分離できなかった。

耐過魚からのウイルス検出に関して、第二章第二節で実施した民間養魚場の調査で、通常の飼育魚(体重20~100g)からはIHNウイルスが検出されることはないが、飼育条件の悪化、ピブリオ病の発生などに伴いIHNが再発し、死亡魚からIHNウイルスが検出されることを報告した。Mulcahy *et al.* (1983b)はIHNウイルスは発病している稚魚と産卵期親魚以外に分離されることはほとんどないこと、Amend(1975)は3~4年魚のニジマスでは産卵期前には検出されなくても産卵期に入ると検出率が高まること、また、耐過したニジマスは数年以上IHNウイルスを保有していることを報告した。本調査でもこれらと同様の結果を得た。さらに、IHNを耐過していなくてもIHNウイルス汚染水で飼育中にウイルス保有魚となり、産卵期にはウイルスを排出することも明らかになった。しかし、単にIHNウイルス汚染水で飼育することによってウイルス保有魚となるのか、飼育中にウイルス保有魚を捕食することによって保有魚になるのかは明らかでない。

産卵期親魚のウイルス保有について、Grishkowsky and Amend(1976)、Mulcahy *et al.* (1982, 1983b)、Mulcahy and Pascho(1986)、吉水ら(1988b)はベニザケ、マスノスケ、サケなど海産サケ科魚類が産卵期に回帰した親魚からIHNウイルスを検出し、木村・吉水(1979)、木村ら(1980, 1981, 1982)は回帰したベニザケ、マスノスケ等がIHNウイルス、IPNウイルス、*Aeromonas salmonicida*を保有していることを報告した。さらに、養殖サケ科魚類の産卵期親魚のIHNウイルス保有については、花田ら(1978)、吉水ら(1988)の報告がある。また、Amend(1975)、

Mulcahy *et al.* (1983a)はIHNについてベニザケ親魚の排出するウイルスが飼育用水を汚染し、これが感染源になると推察している。長野県のニジマス養殖は、同一水系に数ヶ所の養魚場が立地することがめずらしくなく、ここに稚魚から親魚まで飼育されていることから、病魚および産卵期親魚から排出されるIHNウイルスが飼育用水を汚染し、水系全体が汚染域となっているものと考えられた。第二章第二節で示した民間養魚場のある水系はほぼ周年にわたってIHNウイルスに汚染されていることが明らかになり、導入した稚魚はすべてIHNが発病した。これらのことから、飼育用水のIHNウイルス汚染はその水系のIHNの発病に重要な役割を果たしているものと推察される。

長野県水産試験場における雌親魚の産卵期間中のIHNウイルス保有率は3.1~10.2%、民間養魚場のもものでは10.2%であった。Yamazaki and Motonishi(1992)は1984~1989年にかけて本報と同じ方法で長野県水産試験場および民間養魚場の産卵期雌親魚のIHNウイルス保有率を調べ、長野県水産試験場の親魚は3.3~20.0%、民間養魚場では15.0~73.3%であったことを報告している。この調査は1974~1977年の調査から10年経過しており、親魚のウイルス保有率は高まったものと考えられ、親魚から排出されるIHNウイルス量も多くなっているものと予想される。防疫対策を考える上ではウイルスに汚染された飼育用水対策とともにウイルスフリー親魚の育成も課題となっている。また、ウイルス保有率の変化などウイルスの動態を継続調査することも必要である。

## 第四節 IHNウイルス保有親魚群の卵、精液、受精卵および仔・稚魚からのIHNウイルス分離

### 目 的

前節でIHN耐過ニジマスのウイルス保有について調査し、耐過魚であっても通常時にはIHNウイルスは検出されず、産卵期の親魚からのみ分離できることが示された。

本節では、IHNウイルスを保有する産卵期の親魚から得られた未受精卵、精液およびこれらを受精して得られた受精卵、発眼卵、仔、稚魚からのウイルス分離を試みた。

### 材料と方法



供試卵、精液、受精卵および仔・稚魚：

長野県水産試験場で飼育中の IHN ウイルス保有ニジマス親魚約 3,500 尾の群について、1974 年 9 月 18 日から 12 月 16 日の間、12 回の採卵日ごとに約 3,000 粒の卵および精液を取り、通常の受精操作を行い IHN ウイルス汚染のない地下水でふ化飼育したものである。各採卵日には雌親魚を 50～200 尾、雄親魚を 10～30 尾用いた。

飼育水温：

期間中の水温は 4.3～12.8 の範囲であった。

ウイルス検査用の試料の採取と調製：

試料の採取は採卵日ごとに雌親魚の体腔液をウイルス検査するほか、卵、精液を採取するとともにこれらを受精し、稚魚期までの各発生段階でウイルス検査を実施した。体腔液および精液は本章第三節と同様に採取し、5 尾分を 1 検体として 1～3 検体を検査に供した。未受精卵は採卵後数十尾分を混合し等調液でよく洗卵し、10 粒を取り出し磨砕後 Hanks' B S S で 100 倍希釈し接種液とした。なお、表 31 に示したように、12 回の操作中 1～7 回はそのまま受精させたが、8～12 回では卵は受精の前に等調液で調整した PVP-ヨード剤(水産用イソジン液) 50ppm15 分間消毒を行い、さらに卵に付着したヨード剤を等調液で洗い流した後受精させ、これをウイルス検査に供した。また、受精後の卵はすべて PVP-ヨード剤消毒を行いふ化槽に収容した。発眼卵、ふ化仔魚、浮上稚魚は 10 粒または 10 尾を採取し、未受精卵と同様に処理し検査に供した。ウイルス検査方法は、卵については第三章第一節に示した方法に準じ、稚魚については第一章第一節に示した方法と同様である。発眼した卵はウイルス検査用サンプル採取後、PVP-ヨード剤で消毒し、ふ化槽に収容した。ふ化した稚魚は、餌付け後 3 ヶ月間飼育し IHN 発病の有無を観察した。

## 結 果

体腔液、精液、未受精卵、受精卵、発眼卵およびふ化仔・稚魚の IHN ウイルス検出状況を表 31 に示した。

IHN ウイルスが検出されたのは体腔液のみで 12 回の検査中 6 回から検出された。また、体腔液からウイルスが検出された親魚の卵を含む未受精卵およびそれらから得られた受精卵、発眼卵、ふ化仔、浮上稚魚からは検出されなかった。さらに、餌付け後 3 ヶ月間(平均体重 1.2g)の飼育期間中 IHN の発病はなかった。

## 考 察

長野県水産試験場で飼育しているニジマス親魚群は IHN ウイルスを保有しているが、この親魚群から得られた卵、体腔液、精液、それらを受精して得られた受精卵、発眼卵および稚魚についてウイルス検査を実施したところ、体腔液以外からは IHN ウイルスは検出されなかった。すなわち、ウイルス汚染が予想できた未受精卵、受精卵、発眼卵および稚魚であってもウイルスを検出することはできなかった。

体腔液中に IHN ウイルスが検出された卵群で、ヨード剤消毒を実施しない未受精卵(4、5、6)であっても、卵からウイルスの検出ができなかったが、これはウイルスが卵中に存在せず、卵表面に付着したウイルスは等調液による洗卵中に洗い流されたと考えられた。IHN 耐過親魚から得られた卵や稚魚のウイルス保有に関して、Wingfield and Chan(1970)、Amend(1975)は、得られた受精卵に IHN ウイルスが保有されていることを証明できず、それを飼育した稚魚にも IHN ウイルスの存在を明らかにできなかったことを報告した。また、本章第一節で実験的にウイルスを添加した卵、精液で受精し、得られた受精卵、発眼卵および稚魚からウイルスの検出はできなかったが、実験もこれら一連の結果を支持するものであった。また、IHN 耐過親魚から得られたウイルス汚染卵であっても汚染は卵表面に限られる(Amend, 1975)と考えられることから、PVP-ヨード剤の卵消毒により卵表面のウイルスを殺滅することでウイルスフリーの卵を得、その後の飼育管理で外部からのウイルス汚染を防ぐことで、IHN の発病を阻止できるものと考えられた。

表 31 採卵時から稚魚期までの成長段階ごとの I H N ウイルス検出状況 (陽性数 / 検体数)

採卵日	体腔液		精 液		未受精卵		発眼卵	ふ化仔又は稚魚*2	備 考			
	個体	群*1	個体	群*1	個体	群*2			卵消毒の有無*3			I H N の発病
									未受精卵	受精卵	発眼卵	
1	9.18	0/3	0/3	0/1		0/1	0/2	0/2	無	無	有	餌付 3 ヶ月間発病無し
2	9.25	0/3	0/5	0/1		0/1		0/2	無	無	"	"
3	10. 2	0/3		0/1	0/8		0/2	0/2	無	無	"	"
4	10.31	1/8		0/1			0/2	0/2	無	無	"	"
5	11. 8	1/4	0/1	0/1		0/1	0/2	0/2	無	無	"	"
6	11.13		1/3	0/1		0/1	0/2	0/2	無	無	"	"
7	11.18	0/6				0/1		0/2	無	無	"	"
8	11.21	0/4			0/8				有	無	"	"
9	11.26	0/8					0/2		有	無	"	"
10	11.28	1/9					0/2	0/2	有	無	"	"
11	12. 9	1/8		0/1		0/1	0/2	0/2	有	無	"	"
12	12.16	1/8				0/1		0/2	有	無	"	"

\*1 5尾分を1検体とした

\*2 数十尾分の中から10粒または10尾を1検体とした

\*3 等調液で調整した P V P - ヨード剤、50ppm15分浸漬

## 小 括

IHNの伝染源や感染経路対策を考えるうえで必要なIHNウイルスの動向に関する調査を行って、次の結果を得た。

1. ニジマスの卵から稚魚までの各発生段階でIHNウイルスを感染させたところ、未受精卵、ウイルス加精液で受精した卵、受精卵、発眼卵からはウイルスが検出されず、餌付け1ヶ月後まで発病はなかったが、ふ化仔魚では発病した。稚魚に対しては $10^{2.3}$  TCID<sub>50</sub>/m以上のウイルス量で発病させることができ、ウイルス量が多くなるほど発病までの日数が短く、発病後の日間死亡率は高くなる傾向がみられた。大きさの異なる稚魚に対する感染実験では、大型魚ほど累積死亡率が低くなる傾向がみられた。
2. IHNウイルス汚染水および非汚染水を用いて、ニジマス発眼卵のふ化飼育を行ったところ、2年間

にわたり14事例のすべてで汚染水では発病し、非汚染水では発病がなかった。

3. 稚魚期にIHNを耐過したニジマス0、1、2年魚および親魚についてウイルス保有状況を調査したところ、ウイルスが分離されたのは発病中の稚魚を除くと産卵期親魚のみで、その他の生存魚からは分離できなかった。産卵期親魚については、雌の体腔液から3~10%の割合で検出されたが、雄の精液からの検出率は低く、検査対象として雌の体腔液が適当であった。
4. ニジマス親魚の体腔液、精液からIHNウイルスが分離された個体であっても、それらから得られた未受精卵、受精卵、発眼卵およびふ化仔魚にウイルスは検出されず、ふ化後3ヶ月間の飼育期間中にIHNの発病はなかった。

## 第四章 IHNの防疫技術に関する研究

IHNの初発後数年間で、十分な防疫対策が整備される前に長野県下の養鱒場のある主たる水系のほぼ全域がIHNウイルス汚染水域となった。養魚者の中には種苗生産を中止し、稚魚はすべて購入に切り替え、IHNウイルス非汚染水を求めて地下水の湧水や山間地の未利用水源を確保し、新しいふ化場を設置するなどの対策をとるようになった。しかし、一方では種苗が必要な時期に安定的に供給される保証はなく、新しい施設建設は養魚経営にとって負担の大きいことから、従来の施設を使用して種苗生産を再開したいという希望も多く、このための技術開発が必要になった。

前章までに感染源として病魚および感染耐過した産卵期親魚の排出するウイルスが重要であること、IHNウイルスに汚染された用水や発眼卵の導入によってIHNが伝染することが明らかになった。そしてIHNウイルスに汚染された卵であっても消毒によってIHNウイルスが検出されなくなるなど防疫対策を考えるうえで必要なことが明らかになった。

本章では、ウイルスの物理的、化学的性状を明らかにすることで、養殖現場で実際に利用できる消毒方法などの防疫技術の確立を目的とし、以下の実験を実施した。第一節では、消毒剤の選択や消毒方法の検討に必要な環境条件下でのIHNウイルスの生存性について検討した。第二節では、汎用性のある消毒薬のIHNウイルス不活化効果と使用条件による効力低下など実用性を考慮した適正な使用方法について検討した。第三節は、発眼卵の消毒薬として効果の認められているポリビニルピロリドンヨード剤(PVP-ヨード剤)の適正な使用方法を求め、卵の発生段階の中で有効な消毒時期やヨード剤の濃度、時間について検討した。第四節は、外照式紫外線照射装置によるIHNウイルス不活化効果と実際に紫外線照射した用水でニジマス稚魚を飼育し、必要な照射量と具体的な装置の検討を行った。

### 第一節 各種環境条件下におけるIHNウイルスの生存性

#### 目 的

IHNウイルスの環境中における生存性を知ることは、

防疫対策を実施するうえで最も基本的なことがらの一つである。本節では、高圧滅菌した飼育用水中、乾燥条件下、太陽光および熱に対する生存性を検討した。

#### 材料と方法

##### 1. 飼育用水中での生存性

供試ウイルス：

長野県水産試験場のニジマス病稚魚から分離したIHNウイルス(HV7405株)をRTG-2細胞で継代したものである。RTG-2細胞にウイルスを接種し、5~7日後にCPEが発現した培養液上澄を取り出し、細胞片を除くため、0.45μmメンブランフィルターで濾過した。ウイルス感染価は $10^{7.5} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$ であった。

供試飼育用水：

長野水産試験場の飼育用水を3,000rpm、15分間遠心分離し、上澄を121、15分間高圧滅菌したものを試料とした。

IHNウイルスの飼育用水中での生存性：

滅菌飼育用水9容にウイルス液1容を加えてウイルス懸濁液を調整し、15のインキュベーター内に静置した。ウイルス検査は、ウイルスを懸濁直後およびその後1週間ごとに、よく振とうしたウイルス懸濁液の一部を採取して0.45μmで濾過し、2本のスクリーキャップ付きのガラス試験管(16×125mm)のRTG-2細胞に0.1mlずつ接種した。CPEの観察は14日間とした。

供試培養細胞：

第一章第二節に用いたものと同様である。

細胞培養条件：

第一章第二節に用いたものと同様の条件である。

##### 2. 乾燥条件下での生存性

供試ウイルス：

1と同じウイルスを用いた。

乾燥条件下での生存性：

書式変更：箇条書きと段落番号

直径9 cmの滅菌ガラスシャーレ20枚にウイルス液各1.0mlを分注し、15℃の恒温槽内で乾燥させ、そのまま静置した。乾燥直後および1週間毎に1枚のシャーレを取り出し、1mlのHanks' BSSを加え、乾燥状態に置かれたウイルスをよく洗い流し細胞接種液とした。ウイルス検査方法は上記1に準じた。

供試培養細胞および細胞培養条件：

第一章第二節に用いたと同様の条件である。

### 3. 太陽光下での生存性

供試ウイルス：

上記1と同じウイルスを用いた。

太陽光下の生存性：

直径4 cmの滅菌磁器製小皿8枚にウイルス液1mlを入れ、15℃の恒温槽内で乾燥させた。これを晴天、無風状態の直射日光下に置き、経時的に磁器製小皿1枚を取り出し、細胞への接種材料とした。乾燥状態のウイルスは実験2と同様に処理し、RTG-2細胞に接種した。対照として恒温槽内に置かれた両ウイルスを120分後に検査した。実験は1975年3月7および22日の11時から13時にかけて長野県水産試験場構内で行った。

供試培養細胞および細胞培養条件：

第一章第二節に用いたと同様の条件である。

### 4. 加熱下の生存性

供試ウイルス：

上記1と同じウイルスを用いた。

加熱下の生存性：

Hanks' BSSで2倍希釈したウイルス液1mlを入れたガラス小試験管15本にゴム栓をし、50および60℃の温水槽中に浸漬した。浸漬時間は1~60分とした。所定時間経過毎に1本の試験管を取り出し、ただちに流水中で冷却してウイルス検査に供した。ウイルス検査は実験1と同様である。対照区は熱処理をせず室温に60分間放置した。

供試培養細胞および細胞培養条件：

第一章第二節に用いたと同様の条件である。

結 果

### 1. 飼育用水中での生存性

高圧滅菌飼育水中のIHNVウイルス活性を表32に示した。ウイルスは飼育水中で8週までは2本のRTG-2細胞にCPEが発現したが、9週以降ではCPEの発現までに10日以上要するとともに一方の細胞にのみ現れるようになった。ウイルス活性は15週間後にも保たれた。

表32 IHNVウイルスの高圧滅菌養魚用水中での生存15日の恒温器内に保存：+は生存、-は失活

期間(週)	CPEの発現
1	++
2	++
3	++
4	++
5	++
6	++
7	++
8	++
9	+-
10	+-
11	--
12	+-
13	--
14	(実施せず)
15	+-

### 2. 乾燥条件下での生存性

シャーレ上で乾燥状態にしたIHNVウイルスを15日の恒温槽内に置いた場合のウイルスの生存状況を表33に示した。6週間後までCPEの発現があり、ウイルス活性を保っていることが確かめられた。

表33 IHNVウイルスの乾燥条件下での生存15日の恒温器内に保存：+は生存、-は失活

期間(週)	CPEの発現
1	++
2	++
3	++
4	++
5	--
6	++
7	--

### 3. 太陽光下での生存性

太陽光下に置かれたIHNVウイルスの生存性について表34に示した。3月の晴天の太陽光下で乾燥状態のウイルスは40分間で失活した。

表 34 IHNウイルス(乾燥状態)の太陽光下での生存  
+は生存、-は失活

期間(分)	CPEの発現	対照区
5	++	
10	++	
20	++	
30	++	
40	--	
60	--	
90	--	
120	--	++

#### 4. 加熱下の生存性

加熱下のIHNウイルスの生存について表 35 に示した。IHNウイルスは50では10分、60では1分で失活した。

表 35 IHNウイルスの加熱下での生存

期間(分)	+は生存、-は失活		対照区
	50	60	
1	++	--	
3	++	--	
5	++	--	
10	--	--	
20	--	--	
30	--	--	
60	--	--	++

#### 考 察

IHNウイルスの養魚場の環境条件下あるいは養魚者が防疫対策として実施可能な条件下での生存性について検討した。

高圧滅菌した飼育水中でのIHNウイルスは15週間後にも活性がみられた。淡水中のIHNウイルス活性について McAllister *et al.* (1974)は、12.2では5日後に90%、20.6では24時間以内に90%が失われるとし、吉水ら(1986a)も飼育用水を濾過除菌、高圧滅菌した場合は安定であったが、無処理の場合は感染価の減少が観察され、3日後には検出されず、この傾向は温度が高くなるにつれ速やかであったと述べている。飼育水中のIHNウイルスの生存性については、本実験で示したように滅菌水中では長期間安定で、無処理水中では感染価の減少が見られるものの、低水温時には生存期間が数日間に及ぶものと考えられる。このことは長野県のマス類養魚場の多くが12~13の比較的低温であり、一水系に隣接して養魚場が設置され、用水をくり返し利用している状況では、上流養魚場で排出されたIHNウイルスが下

流養魚場への感染源として強い影響があるものと推測される。

乾燥状態でのIHNウイルスの生存性について検討したところ、6週間後にも活性が認められた。IHNウイルスが養魚場間を移動する人、車、物に付着したまま移動し、着地を汚染する可能性があることから、これらに対し消毒などの清浄化対策を実施し、伝播防止を考える必要がある。

太陽光下で乾燥状態のIHNウイルスの不活化効果を検討した。養殖現場では、天日消毒と称し、使用後の池や引き網などの器具類を太陽光に晒すことが多いが、乾燥状態のIHNウイルスは3月の晴天の太陽光に40分間晒すことにより不活化された。不活化は紫外線の作用によるものと考えられるが、養魚場では堆積物など汚れをよく洗い流し、乾燥状態で太陽光にあてることはウイルスの不活化に有効である。ただし、対象物に陰影部がある場合ウイルスは不活化され難いことから消毒剤との併用が必要になる。

加熱によるIHNウイルスの不活化効果を検討した。50で5分間、60で1分間の加熱により不活化されることが明らかになった。加熱操作は養魚場で使用する場合消毒剤のように使用後の中和処理などは不要で利用価値のある手法と考えられる。大型器具類には湯の噴射装置などの利用も可能である。また、病死魚の加熱処理法としても有効と考えられる。

以上のように種々の条件下におけるIHNウイルスの生存性について検討したところ、養魚用水中、乾燥状態では長時間にわたって生存すること、太陽光下、高温状態では比較的短時間で失活することが示された。養殖現場では、病原体の性質を知ることにより消毒剤の選択や消毒方法を適切に実施し、感染経路対策を進め易くできるものとする。

## 第二節 各種消毒薬によるIHNウイルスの不活化効果

### 目 的

養魚場では伝染病の感染源、感染経路対策として、日常実施する管理者の手足、使用する器具、器材の殺菌、消毒などが重要である。本節では、汎用性のあるハロゲン化合物、界面活性剤、フェノール類のIHNウイルス不活化効果を検討した。

### 材料と方法

供試ウイルス：

長野県水産試験場のニジマス病稚魚から分離したIHNVウイルス（HV7405）である。ウイルス液はウシ胎児血清10%を含むMEM（MEM-10）およびそれを含まないMEM（MEM-0）を培地とするRTG-2細胞にウイルスを接種し、15で1週間培養した後CPEが発現した細胞と培養液を取り出し、細胞片を除くため0.45μmメンブランフィルターで濾過した。ウイルス力価は10<sup>5</sup>～10<sup>6</sup>TCID<sub>50</sub>/mであった。

供試消毒薬：

消毒薬は表36に示した4薬剤、すなわち界面活性剤として塩化ベンザルコニウム（商品名；オスバン）、フェノール類としてクレゾール石けん液（クレゾール石けん液）およびハロゲン化合物としてポリビニルピロリドンヨード剤（PVP-ヨード剤；イソジン液）、次亜塩素酸ソーダ（オーヤラックス）を供試した。各消毒薬は、再蒸留水で希釈（V/V）して用いた。塩化ベンザルコニウムは200および400倍、クレゾール石けん液は200倍、PVP-ヨード剤は200倍、次亜塩素酸ナトリウム1,000倍を

供試した。なお、PVP-ヨード剤は、公称有効ヨード換算、他の消毒薬は公称有効物換算で濃度を示した。

ウイルスと消毒薬との感作：

消毒薬は再蒸留水で所定の濃度に希釈し、消毒液とウイルス液を0.5mずつ試験管内で速やかに混合した。作用時間は30秒、1分および5分とした。経過時間毎に0.1mを取り、直ちにMEMで100倍希釈を行い、消毒薬の細胞毒性を軽減し、その0.1mを2本のRTG-2細胞に接種した。接種後10日間CPEの出現を観察した。CPEの出現したものは消毒効果無しと判定した。実験は薬剤により1～3回実施した。対照区は消毒薬の代わりにHanks' BSSを用いた。実験操作は約15の室温下で行った。

供試培養細胞：

第一章第二節に用いたものと同様である。

細胞培養条件：

第一章第二節に用いたものと同様の条件である。

表36 IHNVウイルス不活化試験に供試した消毒薬

分類	消毒薬	商品名	有効成分濃度（%）
界面活性剤	塩化ベンザルコニウム	オスバン	10
フェノール類	クレゾール石けん液	クレゾール石けん液	42～52
ハロゲン化合物	次亜塩素酸ナトリウム	オーヤラックス	5
	PVP-ヨード	イソジン液	1.0

## 結 果

各消毒薬のIHNVウイルス不活化効果を表37～41に示した。塩化ベンザルコニウムは細胞培養液に血清を含まない場合、200倍（500ppm）および400倍（250ppm）希釈液では0.5分でIHNVウイルスを不活化したが、10%の血清を含む場合は、不活化にそれぞれ1、5分を要した。クレゾール石けん400倍（250ppm）液は、血清を含まない場合IHNVウイルスを0.5分で不活化したが、血清を含むと5分を要した。PVP-ヨード剤200倍（50ppm）液は血清の有無にかかわらず0.5分で不活化した。次亜塩素酸ソーダ1,000倍（50ppm）液は血清を含まない場合は1分を要し、血清を含むと5分間の感作でも不活化できなかった。

## 考 察

養魚場で日常用いられる消毒薬についてIHNVウイルスの不活化効果について検討した。養殖現場では使用過程で消毒液に有機物が混入し、効果を阻害することが予想されるため、細胞培養培地に血清を10%加えた場合と無添加の場合を比較した。

血清を含まない培地を使用した場合、0.5分の作用によりIHNVウイルス不活化効果を示した薬剤は、塩化ベンザルコニウム200倍、400倍液、クレゾール石けん200倍液およびPVP-ヨード200倍液であった。また、次亜塩素酸ソーダ1,000倍液は1分間の作用でIHNVウイルスを不活化した。血清を10%加えた培地を使用した場合、塩化ベンザルコニウム、クレゾール石けん液および次亜塩素酸ソーダはIHNVウイルス不活化効果の低下がみら

れた。塩化ベンザルコニウム 400 倍液およびクレゾール石けん 400 倍液では、血清を含まない場合の 0.5 分であったものが、血清を含む場合は 5 分を要するまで低下した。

本実験では、PVP-ヨード剤は血清の有無による不活化効果に差がみられなかったが、有機物の存在下で消毒効果の低下することは知られており、木村・吉水(1990)は各種消毒薬のIPN、IHNVウイルスに対する不活化効果を検討し、有機物の存在下ではPVP-ヨード剤、次亜塩素酸ソーダは効果の低下があることを報告した。また、井上ら(1990)は消毒剤の殺ウイルス効果の中で、ハ

ロゲン系消毒剤の有機物による活性阻害は大きく、実験条件、特にウイルス液の調製法に起因すると述べている。本章第三節でPVP-ヨード剤の卵消毒について実験したところ、有機物の存在下でヨード剤の濃度低下が明らかにされていることから、本節のPVP-ヨード剤の結果は井上ら(1990)の指摘するウイルス液の調製に問題があった可能性を否定できない。

養殖場では、消毒薬の使用にあたって有機物混入による濃度低下の起こることが予想されることから使用時の条件や方法に注意が必要である。

表 37 塩化ベンザルコニウム 200 倍液 (500ppm) の IHNV ウイルス不活化効果

+ は効果有り、- は効果なし

時間 (分)	血清添加の有無	不 活 化 効 果		
		(第 1 回)	(第 2 回)	(第 3 回)
0.5	MEM-10	++	- +	- +
	MEM- 0	++	++	++
1.0	MEM-10	++	++	++
	MEM- 0	++	++	++
5.0	MEM-10	++	++	++
	MEM- 0	++	++	++

培地にウシ胎児血清を 10% 添加 (MEM-10)、無添加 (MEM-0)

表 38 塩化ベンザルコニウム 400 倍液 (250ppm) の IHNV ウイルス不活化効果

+ は効果有り、- は効果なし

時間 (分)	血清添加の有無	不 活 化 効 果
0.5	MEM-10	--
	MEM- 0	++
1.0	MEM-10	- +
	MEM- 0	++
5.0	MEM-10	++
	MEM- 0	++

培地にウシ胎児血清を 10% 添加 (MEM-10)、無添加 (MEM-0)

表 39 クレゾール石けん液 400 倍 (2,500ppm) の IHNV ウイルス不活化効果

+ は効果有り、- は効果なし

時間 (分)	血清添加の有無	不 活 化 効 果
0.5	MEM-10	--
	MEM- 0	++
1.0	MEM-10	- +
	MEM- 0	++
5.0	MEM-10	++
	MEM- 0	++

培地にウシ胎児血清を 10% 添加 (MEM-10)、無添加 (MEM-0)



表 40 PVPヨード剤 200 倍 (50ppm) の IHN ウイルス不活化効果

+ は効果有り、- は効果なし

時間 (分)	血清添加の有無	不 活 化 効 果	
		(第 1 回)	(第 2 回)
0.5	MEM-10	++	++
	MEM- 0	++	++
1.0	MEM-10	++	++
	MEM- 0	++	++
5.0	MEM-10	++	++
	MEM- 0	++	++

培地にウシ胎児血清を 10% 添加 (MEM-10)、無添加 (MEM-0)

表 41 次亜塩素酸ソーダ 1,000 倍 (50ppm) の IHN ウイルス不活化効果

+ は効果有り、- は効果なし

時間 (分)	血清添加の有無	不 活 化 効 果	
		(第 1 回)	(第 2 回)
0.5	MEM-10	--	--
	MEM- 0	--	-+
1.0	MEM-10	--	--
	MEM- 0	++	++
5.0	MEM-10	--	--
	MEM- 0	++	++

培地にウシ胎児血清を 10% 添加 (MEM-10)、無添加 (MEM-0)

### 第三節 ポリビニールピロリドン(PVP)ヨード剤による消毒効果

#### 目 的

前節で PVP-ヨード剤は、有効ヨード濃度 50ppm、0.5 分間で IHN ウイルスを不活化することを報告した。PVP-ヨード剤については、実験的に IHN ウイルスは有効濃度 25ppm で 15 秒、12ppm で 30 秒で失活する (Amend, 1970) ことなどが知られている。本節では各発生段階のニジマス卵に対する PVP-ヨード剤消毒の影響、人為的にウイルス汚染した卵の消毒効果および水の汚れや時間経過に伴うヨード剤の濃度変化について検討し、養殖現場で使用できる消毒方法の確立を目的とした。

#### 材料と方法

##### 1. PVP-ヨード剤のニジマス卵に対する影響

供試卵：

長野県水産試験場飼育親魚から得た採卵直後の未受精卵、受精後吸水前の卵、受精後吸水卵および発眼卵を用いた。

供試 PVP-ヨード剤：

イソジン液 (有効ヨード 1%) を用いた。

卵への PVP-ヨード剤の影響：

イソジン液は有効ヨード濃度 100 および 50ppm (100 倍および 200 倍希釈) とし、供試卵各 500 粒を 200ml の消毒液に 15 および 30 分浸漬した。なお、受精後吸水卵については 5 分から 120 分間の浸漬を行い、発眼卵については 50ppm 15 分間消毒を 2 日間隔で 2 回消毒した場合についても影響を調べた。イソジン液の希釈は、未受精卵および受精後吸水前の卵用には等調液を、吸水後卵および発眼卵用は地下水を用いた。未受精卵は等調液で洗卵後、所定時間消毒を行い、再び等調液で卵に付着した消毒液を洗い流して通常の受精を行った。受精後吸水前の卵は、受精後等調液で卵に付着した精液を洗い流してから消毒し、受精後吸水卵は、受精後等調液で付着した

精液を洗い流し、地下水で30分吸水させてから消毒した。以上の卵は発眼期まで飼育し、発眼率に及ぼす影響を調べた。発眼卵は消毒後ふ化期まで飼育し、ふ化率を調べた。

## 2. PVP-ヨード剤の卵消毒効果

供試卵・精液：

長野県水産試験場で飼育中のニジマス親魚から得た未受精卵、精液、これらを通常受精して得た発眼卵およびIHNVウイルス保有親魚から得た卵を用いた。

供試ウイルス：

第1回実験には培養ウイルス液を、第2回実験には第三章第四節の試験区1で使用したウイルス液(病魚の磨砕液の遠心上澄に培養ウイルス液を加えた)を用いた。

卵へのIHNVウイルス感染操作：

試験区は4区設けた。未受精卵は卵20粒に培養ウイルス液1mlを加えよく混合し、ふた付きガラスシャーレ中に室温で15分間静置した。ウイルス液加精液による受精卵はウイルス液と精液を1:1で混合し、その0.5mlで20粒を受精した。発眼卵は20粒にウイルス液を1ml加えよく混合し、ふた付きガラスシャーレ中に30および60分間静置した。IHNVウイルス保有親魚から得た卵はそのまま用いた。なお、親魚のウイルス保有の確認は、体腔液のウイルス検査(第三章第二節と同じ方法)によったが、あらかじめ雌親魚30尾の卵を個別に供試しておき、ウイルス検査の結果、陽性の2個体を採用した。このウイルス保有親魚から得られた卵については第1回実験のみ実施した。

PVP-ヨード消毒：

イソジン液を用いた。卵の消毒は、イソジン液を200倍希釈し(有効ヨード濃度50ppm)、15分間浸漬した。イソジン液の希釈には未受精卵および受精卵用として等調液、発眼卵用として地下水を用いた。受精卵は受精時に卵に付着した精液を等調液で洗い流してから消毒を実施した。

ウイルス検査：

消毒前後の卵のウイルス検査を行い消毒効果を判定した。対照区はそれぞれ消毒しない区を設け、消毒前およびそのまま15分間放置後にウイルス検査に供した。ウイルス分離は第三章第三節と同様に行った。

3. 水の汚れおよび時間経過によるPVP-ヨード剤の濃度低下

1) 水の汚れとヨード剤の濃度低下

供試卵：

長野県水産試験場飼育親魚から得た検卵済みの発眼卵2万粒を用いた。

ヨード剤の調整：

PVP-ヨード剤(イソジン液)の調整に用いた希釈水は次により作製した。地下水各5mlを入れたポリバケツを5個用意し、初めのバケツに1万粒の発眼卵を入れ、水を数回攪拌することにより卵表面の汚れを洗った。その後、卵を取り出し次のバケツに入れ同様の操作を行い、順次汚れの程度が異なる5段階の卵洗い水をつくり希釈水とした。この洗い水でそれぞれPVP-ヨード剤200倍液(有効ヨード濃度50ppm)をつくり、15分経過後に分光光度計(日立101:日立製作所)を用いて呈色濃度を測定した。同時にJISに基づき各洗い水のCODを測定した。対照として地下水でつくったPVP-ヨード剤200倍液およびこの200倍液2で発眼卵1万粒を15分間消毒した液を用いた。

2) 時間の経過とヨード剤の濃度低下

PVP-ヨード剤(イソジン)の呈色濃度の経時的変化を求めため、蒸留水を用いて、125、250および500倍希釈したヨード液(有効ヨード濃度80、40および20ppm)を気温10~20℃の実験室内に置き、24および48時間後に呈色濃度を分光光度計で測定した。

## 結 果

1. PVP-ヨード剤のニジマス卵に対する影響：

PVP-ヨード剤の各発生段階のニジマス卵に及ぼす影響を表42に示した。PVP-ヨード剤の有効ヨード100ppmおよび50ppmで各供試卵を15および30分間消毒(受精後吸水卵は5~120分)を行ったところ、発眼率は対照区に比べ、未受精卵では6~9%、受精後吸水前卵では2~4%低下した。受精後吸水30分経過した卵では100ppm、30分消毒でも発眼率は83.1%であり、対照区と同等であったが、消毒時間が60分以上になると発眼率の明らかな低下がみられた。発眼卵の消毒では、100ppm30分間消毒および50ppm15分間2回消毒でもふ化率への影響は認められなかった。

2. PVP-ヨード剤の卵消毒効果：

表 42 PVP-ヨード剤のニジマス卵に及ぼす影響

卵の区分	希釈倍率 (倍)	有効ヨード濃度 (ppm)	消毒時間 (分)	発眼率 ふ化率 (%)
				(発眼率)
未受精卵	100	100	15	75.7
	100	100	30	73.6
	200	50	15	77.2
	200	50	30	75.9
受精後吸水前卵	100	100	15	81.1
	100	100	30	79.6
	200	50	15	78.6
	200	50	30	79.1
受精後吸水卵	100	100	5	71.4
	100	100	15	75.5
	100	100	30	83.1
	100	100	60	42.7
	100	100	120	22.0
	200	50	5	63.4
	200	50	15	74.2
	200	50	30	79.1
	200	50	60	58.1
	200	50	120	39.6
対 照				82.9
				(ふ化率)
発眼卵	100	100	15	96.5
	100	100	30	92.3
	200	50	15	93.0~95.3
	200	50	30	94.8
	200	50	15	91.7~97.0
対 照				94.7

2日後再消毒

IHNウイルスを加えた未受精卵・発眼卵、ウイルスを加えた精液での受精卵およびIHNウイルス保有魚から得られた未受精卵について有効ヨード濃度50ppmのPVP-ヨード剤15分消毒前後のウイルス検査結果を表43に示した。実験は2回行い、ウイルス源として培養ウイルス液を用いた場合と病魚磨砕遠心上澄液に培養ウイルス液を加えた場合いずれも同じ結果を得た。すなわち、有効PVP-ヨード濃度50ppm、15分間消毒によりいずれの卵からもIHNウイルスは分離されず、供試した未受精卵、受精卵、発眼卵のIHNウイルスに対する消毒は有効であった。また、ウイルス保有親魚から得られた未受精卵も同様に、消毒前にはウイルスが分離されたが、消毒後には分離されなかった。各対照区では15分経過後にいずれの卵からもウイルスは分離された。

### 3. 水の汚れおよび時間経過によるPVP-ヨード剤の濃度低下

汚れの程度の異なる卵洗いでPVP-ヨード200倍液を作り、15分経過後のPVP-ヨード濃度およびCOD測定値を表44に示した。

1回目の洗い水で作成したPVP-ヨード剤の呈色濃度は265倍に相当し、このときのCODは13.9ppmであった。2、3回目の洗い水では呈色濃度は217倍相当、209倍相当(CODは3.6、2.7ppm)となり、順次水の汚れは減少し、4、5回目の洗い水では呈色濃度が201倍相当とほぼ汚染のない水と同様となった。なお、対照区の1万粒の発眼卵を15分間消毒した時のヨード剤は呈色濃度296倍(有効ヨード濃度33.8ppm)相当まで低下した。

125、250および500倍に希釈したPVP-ヨード剤の経時的な濃度変化を図25に示した。低希釈倍率ほど濃度の低下は少ないが、室内に置かれた場合にも濃度低下があり、250倍(40ppm)希釈液は24時間後に286倍(35ppm)相当、48時間後には370倍(27ppm)相当の濃度となった。

表 43 ニジマス卵に対する PVP-ヨード剤の消毒効果

卵の区分	消毒前		消毒後	
	実験 1	実験 2	実験 1	実験 2
ウイルス液を加えた未受精卵	+	+	-	-
" 発眼卵	+	+	-	-
ウイルス加精液での受精卵	+	+	-	-
保菌親魚から採卵した未受精卵	+	NT	-	NT
対 照	+	+	+	+

表 44 水の汚れ及び卵消毒による PVP-ヨード剤の濃度変化

稀 釈 水	PVP-ヨード剤濃度 (倍)	希釈水のCOD (ppm)
1 回目の卵の洗い水	265	13.9
2 "	217	3.6
3 "	209	2.7
4 "	201	0.9
5 "	201	1.2
対照区 1	200	0.1
" 2	296	0.1

希釈水で 200 倍液をつくったときの呈色濃度を稀釈倍で示した  
発眼卵 1 万粒を 15 分間消毒後に測定

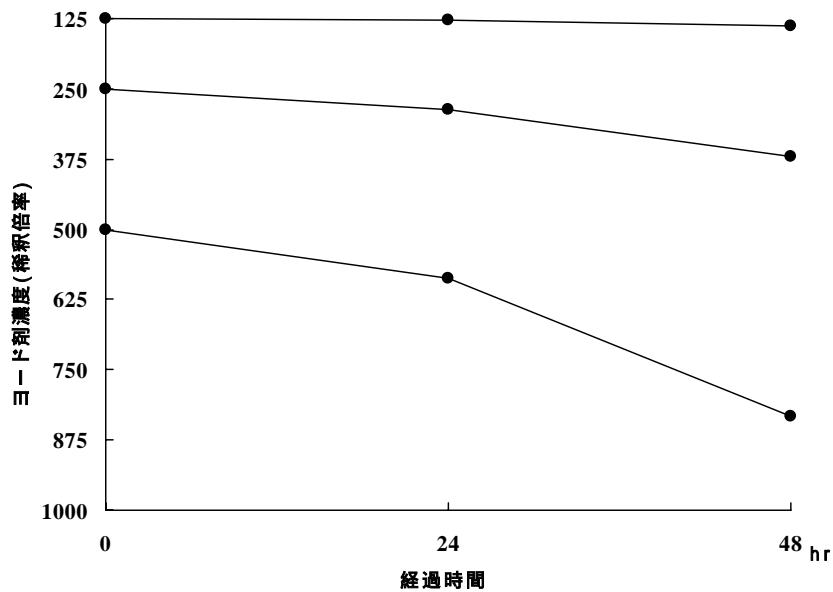


図 25 ヨード剤稀釈液の経時的濃度変化

## 考 察

PVP-ヨード剤の適正な使用方法を知るため、消毒剤濃度と浸漬時間を変えた場合のニジマス卵への影響、卵を用いたIHNVウイルスの不活化効果および水の汚れとヨード剤の濃度低下について検討した。

PVP-ヨード剤の安全性については、有効ヨード濃度100および50ppmで15および30分間の浸漬消毒により未受精卵は発眼率の低下がみられた。一方、受精卵では吸水前、吸水後のいずれも対照区と同等の発眼率が得られた。また、同じ濃度・時間で発眼卵はふ化率に影響はみられず、有効ヨード濃度50ppm15分間の反復消毒についても問題はなかった(表42)。また、消毒効果については表43に示したように、50ppm、15分間消毒で未受精卵、受精卵、発眼卵のいずれの場合も消毒後にはウイルスが検出されず消毒効果が認められた。

従来、マス類の卵消毒は、せつそう病の防疫対策として発眼卵の出荷時にアクリノール2,000倍液に20分間浸漬が取り入れられている(山崎・原,1976)。ウイルス病の伝播防止を考える際にも消毒の時期として、一般に流通する発眼卵期が適当と考えられる。Amend(1975)は、人為的にIHNVウイルスに汚染させたニジマス卵はPVP-ヨード濃度50ppm、6分間処理でウイルスが分離されなくなったことを報告しており、養殖現場で使用する場合には、安全性や有効性から50ppm、15分間消毒が適当と考えられた。一方、発眼卵を生産する場合には、ウイルス保有親魚から得られたウイルス汚染卵によるふ化場および用水のウイルス汚染防止のため、未受精卵あるいは受精卵のPVP-ヨード剤消毒も想定する必要がある。未受精卵の消毒はウイルスフリーの卵を得る場合に必要になるが、養殖場では未受精卵を受精前に消毒しても、精液がIHNVウイルスに汚染されている可能性のある場合は消毒の意味がなくなることから受精後の消毒が適当である。また消毒の時期として受精後吸水前と吸水後が考えられるが、吸水後の場合は、吸水時間として約50分が必要であり、吸水中のハンドリングは卵を死に至らしめることが知られており、作業能率を考慮すると吸水前の卵が適当と考えられる。この場合、卵に与える影響や消毒効果から等調液でPVP-ヨード剤を調整し、有効ヨード濃度50ppm、15分間消毒で問題はない。実験では、吸水後卵を5分および15分間消毒した卵では有効ヨード濃度100ppm、50ppmとも発眼率の低下がみられたが、これは吸水時間を30分に設定したことから、吸水中に操作が行われた可能性が有りこの影響があったものと考えられた。

消毒時の注意として実験3で示したように、ヨード剤調整用の用水の汚れによりヨード濃度の低下があることから、事前に死卵を取り除くとともに卵はよく水洗し、有機物の汚れを除去しておくことが必要である。また、一回消毒することにより200倍(有効ヨード濃度50ppm)が296倍(同33.8ppm)に低下しており、死卵やふ化仔魚の混入などによって濃度はさらに低下することもあるため消毒液は1回使用が適当である。また、希釈した消毒液は室内に置かれたものであっても、濃度低下があるので使用の都度作成する必要がある。

現在、一般に流通する発眼卵の消毒は卵生産者が出荷直前に消毒し、さらに荷受者は卵をふ化槽に収容する前に卵に添付されたヨード剤で再度消毒する方法がとられており、梱包材の消毒も実施されていることから卵の輸送に伴うIHNVウイルスの伝播はほとんどなくなっている。

## 第四節 紫外線殺菌灯によるIHNVウイルス不活化効果

### 目 的

第一章第一・三節および第二章第二節で明らかになったように、長野県内で養鱒場のある水系の多くはIHNVウイルスに汚染されており、IHNVの発病防止には発眼卵から稚魚期にかけての飼育をIHNVウイルスフリー用水で行うことが必要となった。このためウイルス汚染の恐れのない山間地の河川水や深井戸を利用してふ化施設を設置する事例がみられている。しかし、経費や管理者の確保などの問題から汚染地域にある従来施設の利用が望まれている。そこで、IHNVウイルス汚染水をふ化用水として利用するための一方法として、紫外線によるIHNVウイルス不活化効果を検討した。紫外線照射装置は廉価で汎用性のある外照式紫外線殺菌灯を用いた。実験1として紫外線のウイルス液および乾燥状態のウイルスに対する不活化効果、実験2としてIHNV発病魚の飼育排水への紫外線照射によるウイルスの不活化効果、実験3として養鱒用水への紫外線照射によるIHNV抑制効果について実験を行った。

### 材料と方法

1. IHNVウイルスの紫外線(UV)殺菌灯下での生存性供試ウイルス:

本章第一節実験1で用いたものと同様である。

紫外線照射下での生存性：

直径9cmの滅菌ガラスシャーレに培養ウイルス液を4ml入れたものと直径4cmの滅菌磁器製容器に培養ウイルス液を1mlを入れ15の恒温槽内で乾燥状態にしたものを、無菌室の15W UV殺菌灯(東芝15GL)下52cmに置き、全面にUVが当たるようにした。照射時間は、10、20、40、60、80、100および120秒間とし、経過時間毎にウイルス液の一部および磁器製容器1個を取り出し細胞への接種材料とした。ウイルス液、乾燥状態のウイルスはそれぞれ本章第一節実験1および実験2と同様にRTG-2細胞に接種した。なお、UV照射量の計測ができないため、比較のため*A. salmonicida*を生食塩水に浮遊( $4.1 \times 10^4$  cells/ml)させウイルス液と同様にガラスシャーレ中でUV照射した。

2. IHNに人為感染させたニジマス飼育排水へのUV照射によるウイルスの不活化

供試魚：

IHNフリー用水で飼育した平均体重0.15gのニジマスを各区500尾ずつ用いた。

UV照射装置：

15WのUV殺菌灯(東芝GL15)2灯を吊下げ用器具(松下電工)に取り付け、長さ160cm×幅14cm×高さ14cmの塩ビ製流水路上に水路底から殺菌灯中心まで14cmになるように設置した。

実験方法：

実験装置の概要を図26に示した。IHN人為感染魚(500尾)を収容した65容塩ビ水槽にIHNフリー用水を毎秒200ml注水し、その排水を100mlずつに分け、一方は紫外線殺菌装置を水深1cmで通過させ、他方はそのままそれぞれ試験水槽に注水した。試験水槽は65容塩ビ水槽で供試魚を500尾ずつ収容した。人為感染魚はウイルス感染価 $10^{3.5}$ TCID<sub>50</sub>/mlに調整したIHNウイルス液5に1時間浸漬した。実験期間は45日間とし、期間中の死亡尾数および死亡原因を調査した。飼育水温は9.4~12.5であった。

死亡魚の検査：

死亡魚は体表と鰓の寄生虫検査のほか第一章第二節と同様にウイルス検査を実施した。

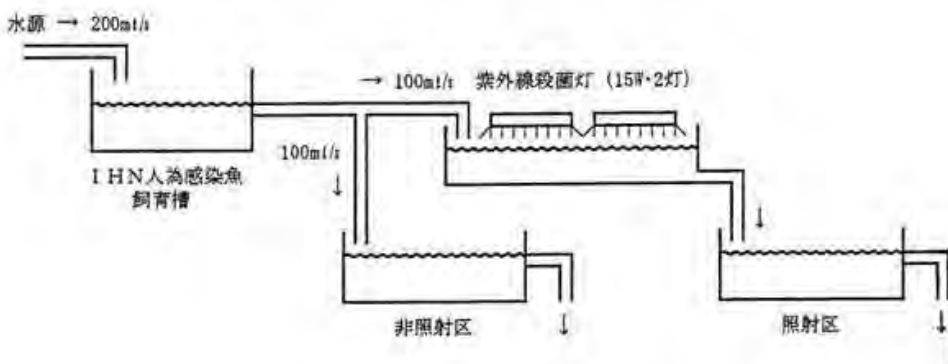


図26 IHNに人為感染させたニジマス飼育排水による飼育実験装置概要

3. 一般飼育用水への紫外線照射とIHNの抑制

紫外線照射装置：

装置の概要を図27に示した。殺菌灯および吊下げ用器具は実験2と同様で、長さ180cm巾40cmの塩ビ製流水路上に水の流れに対し直角に5本の紫外線殺菌灯を設置した。水路底から殺菌灯中心までの距離を10cmとし、水深は7cmとした。注水部には堰板と波よけ板を取り付け、注水によって生じる気泡や波立ちを抑えた。

飼育用水：

飼育用水は長野県水産試験場の飼育用水で、上流にあるニジマス養魚場5ヶ所の排水がすべて流入していることから、IHNの他、各種魚病病原体に汚染されている可能性が大きい。注水量は毎秒5とした。飼育水温は5.2~12.8であった。

供試魚および実験区：

供試魚はニジマス発眼卵 2 万粒で、1 万粒を紫外線照射用水、他の 1 万粒を非照射用水で 97 日間飼育した。供試卵は実験開始後 15 日目にふ化を、40 日目に浮上を開始した。発眼卵のふ化はたて型ふ化槽で、浮上後は 210 容の塩ビ水槽で飼育した。給餌は浮上後から 1 日 3 ~ 4

回、市販クランブルを与えた。

死亡魚の検査：

実験 2 と同様に行った。

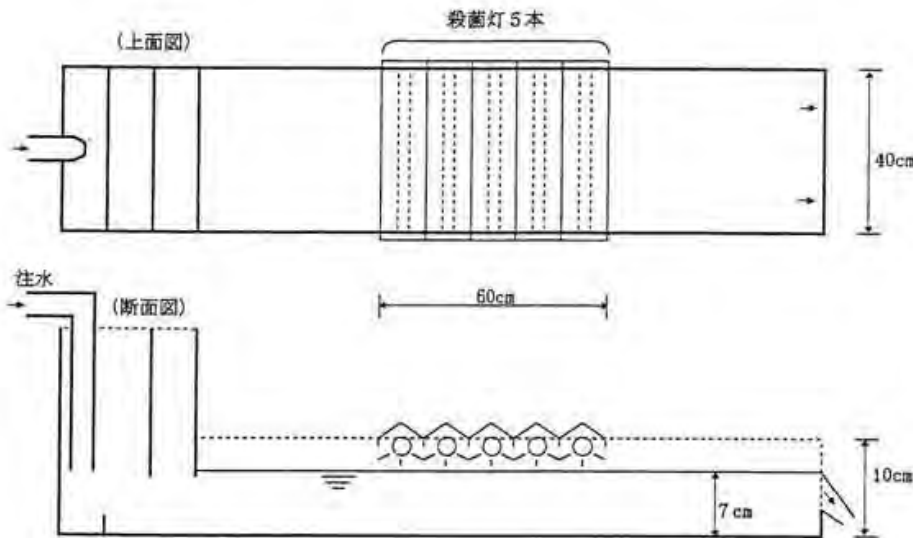


図 27 紫外線殺菌灯照射装置

## 結 果

### 1. IHN ウイルスの紫外線 (UV) 殺菌灯下での生存性

IHN ウイルスの UV 照射下での生存性について表 45 に示した。気温 15 °C で 15W の UV 殺菌灯下 52cm に置かれた IHNV ウイルスは、培養液中のウイルスは 100 秒で、乾燥状態のウイルスは 80 秒で不活化された。比較のため実施した *A. salmonicida* は 110 秒の照射で不活化された。

### 2. IHNV に人為感染させたニジマス飼育排水への UV 照射によるウイルスの不活化

期間中の累積死亡率を図 28 に示した。人為感染させたニジマスは感染後 6 日目から死亡が始まり、発病後 2 週間で死亡率は 90% を越え、45 日後には 97.6% となった。死亡魚はいずれも筋肉の線状出血、鰓の貧血、腹部膨満など典型的な IHNV の症状を示し、IHNV ウイルスが分離された。試験区の紫外線非照射区は 8 日目から死亡魚がみられ、10 日から 20 日にかけて死亡率が高く、終了

時まで 100% 死亡した。死亡魚は人為感染死亡魚と同様 IHNV の症状を示し、IHNV ウイルスが分離された。紫外線照射区は IHNV の発生がなく死亡率は 1.2% であった。死亡魚はやせて餌付き不良と考えられるもので IHNV の症状はなく、IHNV ウイルスは分離されなかった。

### 3. 一般飼育用水への紫外線照射と IHNV の抑制

実験期間中の累積死亡率を図 29 に示した。両区ともふ化前後に死亡した個体は数尾みられたが、ほぼ正常にふ化し、ふ化率は 99.9% 以上であった。紫外線照射区は浮上後 1 ヶ月経過頃まで、餌付き不良と考えられるやせた死魚が約 3% 出現したが、その後、体表、鰓のキロドネラ症およびトリコディナ症の発生があり、累積死亡率は 16.7% となった。餌付き不良、寄生虫寄生による死亡魚いずれからも IHNV ウイルスは検出されなかった。非照射区では浮上前のふ化仔魚に死亡魚が現れ、浮上後 10 日経過頃から死亡率が高くなり、累積死亡率は 94% に達した。死亡魚は浮上前の仔魚では、さい嚢や尾柄に出血がみられ、浮上後の稚魚には部筋肉出血、極度の鰓貧血、

腹部膨満、腎臓の退色などIHN特有の症状がみられた。ウイルス検査によりIHNウイルスが分離された。また、死亡魚には明らかな餌付け不良魚はみられず、一部の死亡魚に寄生虫が検出されたが、寄生数はごくわずかで、

死亡原因はIHNと考えられた。寄生虫が確認された両区は、1/6,000ホルマリン1時間浴、並びに1.5%食塩水1時間浴を適宜行った。

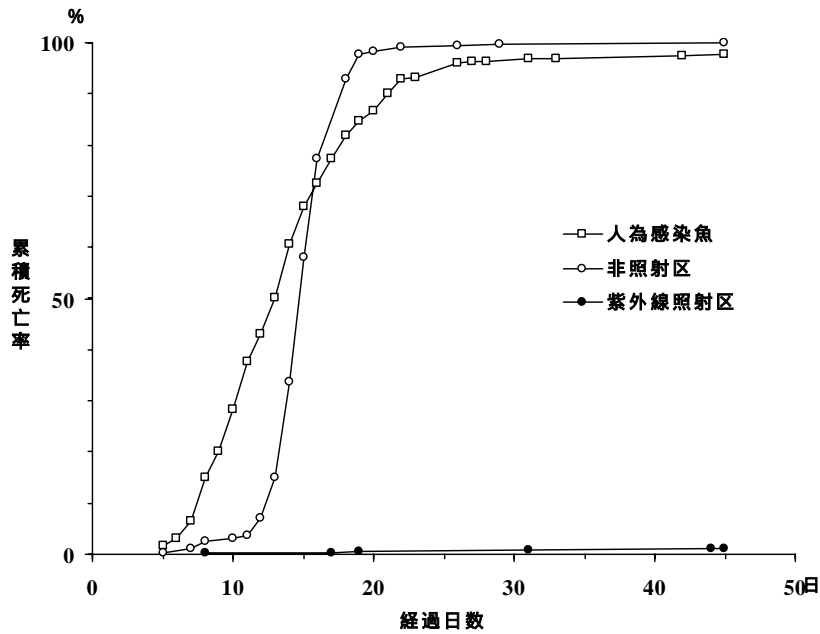


図 28 IHN汚染用水及び紫外線殺菌灯照射用水で飼育したニジマス稚魚の累積死亡率

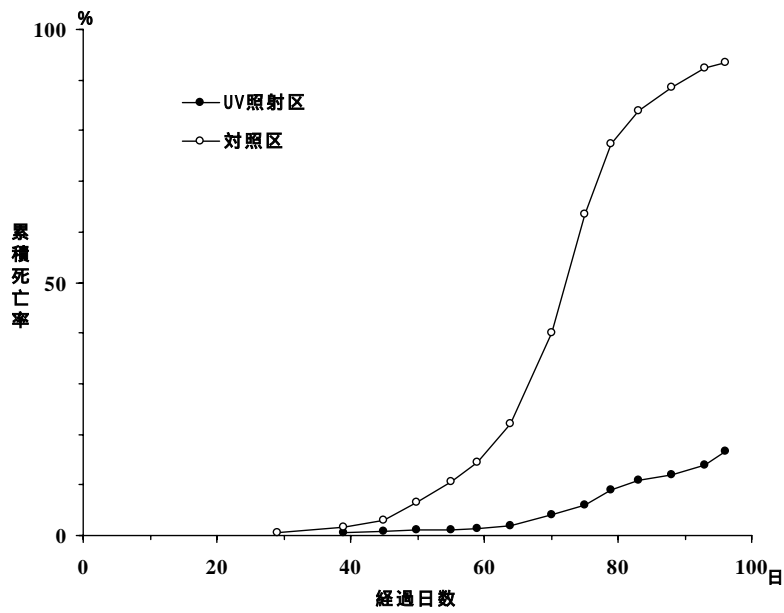


図 29 紫外線照射及び非照射用水で飼育したニジマス稚魚の累積死亡率変化



## 考 察

外照式紫外線殺菌灯を用いて、紫外線による IHN ウイルスの不活化効果を検討した。実験 1 では、培養液中の IHN ウイルスは *A. salmonicida* とほぼ同じ照射量で不活化され、乾燥状態ではそれより少ない照射量で不活化された。実験 2 では IHN に人為感染させたニジマス飼育排水に紫外線照射することにより、ニジマス稚魚に発病を起こさせない程度に IHN ウイルスを不活化できた。実験 3 では IHN ウイルス汚染のある一般養魚用水に紫外線を照射することで、ニジマス稚魚に IHN を発病させることなく飼育できた。

魚類病原体の紫外線に対する感受性について、原虫類のトリコディナ、キロドネラは照射量  $2.2 \times 10^5$  および  $1.0 \times 10^6 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$  で不活化され (Vlasenko, 1969)、*Aeromonas* 属、*Vibrio* sp. などの細菌を 99.9% 殺菌するには  $4.0 \sim 5.0 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$  (木村ら, 1976) が、*Saprolegnia* sp. などのミズカビ類の菌糸の伸長を阻止するには  $1.5 \sim 2.0 \times 10^5 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$  (木村ら, 1980) が必要であることが報告されている。また、吉水ら (1986a) はウイルス感染価を 99% 減少させるに必要な紫外線照射量は、OMV で  $3.0 \times 10^3$ 、IHN ウイルスで  $6.0 \times 10^3$ 、IPN ウイルスで  $5.4 \sim 10 \times 10^5 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$  と報告している。IHN ウイルスは *A. salmonicida* と同様に  $10^3 \mu$

$\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$  の照射量で不活化され、今回の実験でも  $10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$  以上の照射量があったものと考えられた。後に紫外線照度計 (TOPCON UVR 254 型) を用いて実験と同様の条件で紫外線照射密度を測定し、透過率、照射時間から照射量を推定すると、実験 1 の 52cm 距離から 100 秒間照射すると  $1.99 \times 10^4 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ 、実験 2 では  $1.766 \times 10^4 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ 、実験 3 では  $8.93 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$  と計算された。実験 3 では、紫外線照射区でも原虫類の寄生があり、死亡率は 16.7% に達した。推定 UV 照射量から IHN ウイルスは不活化されるが、原虫類は生存できる照射量であった。Bullock and Stucky (1977) は、細菌を用いた実験で濾過により殺菌効果が向上することを報告しているが、養魚用水を紫外線殺菌する場合、水中の懸濁物が多く、病原体がこれらの影の部分を通りおそれがあり、殺菌効率を高めるには前処理として懸濁物の沈澱や濾過が必要と考えられる。

本実験では外照式の紫外線ランプを使用した。流水式で水の表面が波立つ場合は紫外線が乱反射し、透過率が低下することから表面水がスムーズに流れるように操作する必要があると考えられる。

これらの結果から、外照式の UV 殺菌灯を使用して用水殺菌の実用化への見通しが得られ、実験 3 で用いた照射装置によって 15W の UV 殺菌灯 1 灯で毎秒 1 の用水の IHN ウイルス処理は可能と考えられた。

## 小 活

養殖現場で防疫対策を実施する際に必要なIHNウイルスの性質や消毒薬の使用方法に関する検討を行い次の結果を得た。

1. 各種環境条件下におけるIHNウイルスの生存性について調べ、高圧蒸気滅菌水中では15週間、乾燥状態では6週間後まで活性を保った。また、晴天の太陽光下に置かれた乾燥状態のウイルスは40分間で、加熱条件下では、50℃で10分、60℃で1分で失活した。
2. 養魚場で日常の消毒に用いる消毒薬のIHNウイルス不活化効果を検討し、塩化ベンザルコニウム、クレゾール石けん液、PVP-ヨード剤、次亜塩素酸ソーダは有効であったが、有機物の存在下では消毒効果が低下することから現場での使用にあたって注意が必要である。
3. PVP-ヨード剤のニジマス卵消毒薬としての利用を

図るため、未受精卵、受精卵および発眼卵に対する影響を調べた。発眼卵は有効ヨード濃度100ppm30分、50ppm15分2回反復消毒でふ化率への影響はなかったが、未受精卵では50ppm15分間消毒で発眼率がやや低下した。また、人為的にIHNウイルスに汚染させたこれらの卵について50ppm15分間消毒により、ウイルスは検出されなくなり消毒効果は認められた。また、PVP-ヨード剤は、有機物の存在下で濃度が低下した。

4. IHNウイルスの不活化に必要なUV照射量は、*Aeromonas salmonicida*と同程度の $10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ であった。外照式UV照射装置を用いて、IHNが発病中の飼育排水に照射したところ、その用水で飼育したニジマス稚魚にはIHNの発生はなかった。外照式15W UV殺菌等1灯で毎秒1ℓの用水中のウイルスは不活化された。

## 第五章 養殖現場へのIHN防疫技術の導入と今後のリスク評価

前章までの調査および実験から、IHNウイルス汚染卵であってもPVP-ヨード剤消毒によってウイルスフリーの卵が得られること、これらの卵をIHNウイルス非汚染水で飼育することでIHNの発病を防止できることが明らかになった。また、養殖現場では日常の管理時に外部からの人、器具類および動物等が媒体となりIHNウイルスの持ちこみが懸念されるが、IHNウイルスの物理的、化学的性質を知り必要な消毒等の対策を実施することでウイルス侵入の可能性を低減できるものと考えられた。

本章では、これらの結果を事業規模に応用し成果をあげている事例を詳述し、次いで、将来において発生する可能性のある新種の伝染病の被害を予測して、有効な防疫対策を検討するためにIHNを用いた感染実験データから定量的に状況を解析し、数理モデルの妥当性を検討した。まず、第一節では、外照式紫外線殺菌灯を使用し、毎秒30の飼育用水を供給している長野県水産試験場に設置した用水殺菌装置について施設の概要と使用効果について示した。第二節では、長野県水産試験場が防疫対策のモデルとして建設した隔離飼育施設の概要とIHNの防除効果について、第三節では、民間養魚場を対象に、管理者の日常の消毒を励行するほか部外者の立入り、他養魚場との交流を制限するなど防疫対策を実施することでIHNの発生を防止あるいは被害の軽減に成功した事例について、施設の概要および防疫対策の実際と成果について述べた。第四節では、養殖場内での伝染病のリスク評価の基礎資料として、日本における養殖の実態に即した感染実験と観察データの定量化および数理モデルの妥当性を検討した。

### 第一節 外照式紫外線殺菌灯による養魚用水の殺菌とIHN予防効果

#### 目 的

UVによるIHNウイルス不活化効果について第四章第四節で述べたように、外照式UV殺菌灯15W1灯の照射で毎秒1のIHNウイルス汚染養魚用水を処理できることが示された。この結果に基づき、長野県水産試験場内に用水のUV殺菌装置を設置し、用水殺菌装置の実用化を図った。

本節では、この施設の概要、用水の水質、水中の病原ウイルスの検出、ニジマス稚魚の飼育実験および実際に業務として使用した場合の効果について検討した。

#### 1. 施設設置の目的

長野県水産試験場で使用している飼育用水は、上流1kmにあるワサビ畑に湧出する毎秒700~900の湧水であるが、当場に至る間に5経営体が、稚魚から親魚まで常時約85トンのニジマスを飼育しており、最下流に位置する水産試験場は、2~3回くり返し使用された用水を利用している。この水系では1974年1月以来毎年IHNが

書式変更：箇条書きと段落番号

#### 2. 施設の構造と保守

施設の概要について図30に示した。本施設は、用水中の浮遊懸濁物質(SS)を除去した後に用水をUV殺菌する施設で、大きさは縦18.15m×横4.15m×高さ2.1mである。構造は大きく4部分に分けられ、大きなSSを沈殿除去する沈殿槽と細かいSSを除去する濾過槽の前処理部分と紫外線照射装置および殺菌後の水に酸素補給するための曝気槽で構成されている。この構造は独立した2系列となっており、本施設の用水処理量は毎秒30Lである。なお、殺菌処理した水は併設した飼育施設へ給水され、当場で飼育しているサケ科魚類のふ化および飼育用水として使用されている。

以下に各構造(1系列、毎秒15処理)について説明する。

沈殿槽：

SSの沈殿処理方法は傾斜板沈殿方式(佐野,1979)を用いた。槽内には90cm×120cmの塩化ビニール製波板3枚1列とし、60度の傾斜をつけ4cm間隔で90列、計270枚を設置した。傾斜板沈殿処理部分の容積は7.15m<sup>3</sup>である。揚水ポンプにより注水路に導入された用水は、沈殿槽の底部から傾斜板の間隙を通過して表層へ流れ、この間

にSSは傾斜板上に沈殿する。沈殿物はやがて傾斜板上を落下し、底部に堆積する。槽底は注水部に向かって下り勾配になっており、最深部から槽外へ口径30cmの沈殿物排出口が設置されている。

**濾過槽：**

濾材には、容量約65mの変形円筒プラスチック容器（乳酸飲料(ヤクルト)容器の底部を除去したもの）を14万個を用いた。容器は1,000個ずつ網袋に入れ、槽内に間隙なく設置した。濾材の収容部容積は約10.15m<sup>3</sup>である。沈殿処理された水は濾過槽内を底部から表層へ流れる間に濾過処理されて中央壁側にある越流三角堰から水路に入りUV殺菌装置へ向かう。槽底は注水部に向かって下り勾配になっており、最深部から槽外へ口径30cmの沈殿物排出口が設置されている。

**外照式UV照射装置：**

濾過処理された水はいったん下層に潜った後、上層にある巾195cm、長さ150cmのステンレス製のUV照射用水路を流れる。図31に示したように、水路には吊下げ型15W UV殺菌灯を水路に対して平行に20cm間隔で10灯を2列、計20灯設置した。水路底からランプ中心

まで10cmにするとともに、UVの乱反射を起こす水面の波立ちを抑えるために水路末端にL型鋼(3×3cm)を敷設した。水路を流れる水の水深は4.5cmに保たれており、水深4.5cmのUV照射度は1.2~2.0×10<sup>3</sup>μW/cm<sup>2</sup>である。水路内の流速は17.1cm/secであり、UV照射時間は5秒間と推定されることからUV照射量は6~10×10<sup>3</sup>μW·sec/cm<sup>2</sup>と計算される。

**曝気槽：**

濾過槽ではSSが除去されるだけでなく、生物学的処理も行われ、水中の溶存酸素量(DO)が低下するため、UV照射後飼育水槽に給水する前に曝気し、DOを回復させている。通気量は2.5m<sup>3</sup>/min.である。

**施設の保守管理：**

本施設は常時2系列を使用し、清掃や点検時には1系列で対応する。沈殿槽、濾過槽の清掃は年1回定期的に行い、UV殺菌灯は年2回交換している。なお、1系列の流量15/secに対し、用水中のIHNウイルスはUV殺菌灯15灯で不活化可能であるが、ランプ、安定器などの不調に備え20灯を設置した。

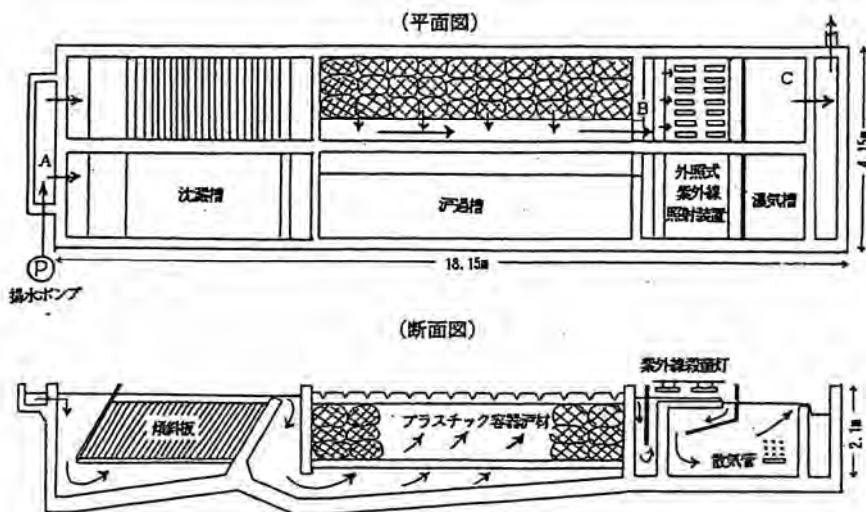


図30 外照式紫外線殺菌装置の概要

：水の流れ  
A . B . C . : 水質調査等における採水地点  
(A . 原水 B . 沈殿濾過水 C . 紫外線殺菌水)

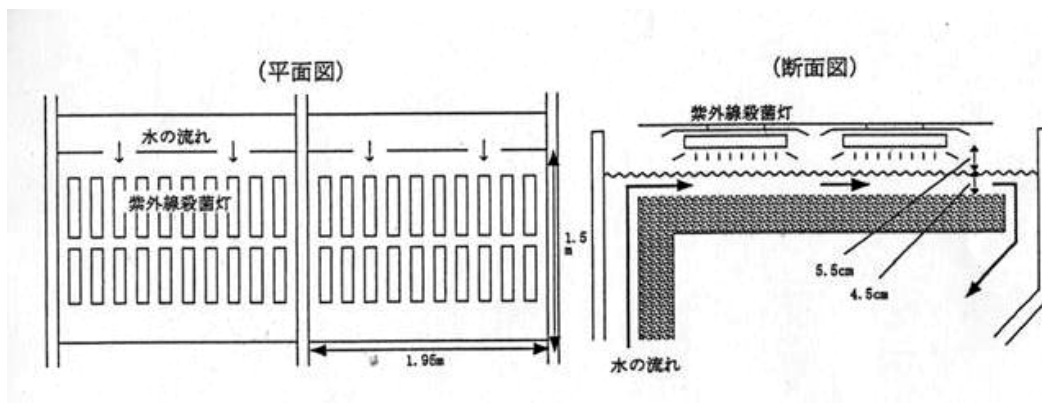


図 31 外照式紫外線照射装置の構造  
 紫外線殺菌灯：吊下式（15W）40 本使用  
 照射水路：ステンレス製

材料および方法

処理水の水質調査：

本施設は、UVの殺菌効果を高めるために、阻害要因となるSSを除去する沈殿槽および濾過槽を備えている。この前処理の効果および処理に伴う水質の変化を、水温、pH、DO、SS、NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、COD、BODおよび水中の一般細菌数について調査した。調査は1986年6月から1987年3月まで毎月一回実施した。調査に用いた検水は図30に示したA（原水）B（沈殿濾過水）およびC（UV殺菌水）地点から採取した。水質調査項目の分析方法は表46に示した。

表 46 水質調査項目と分析方法

調査項目	分析 方法
水温	サーミスター温度計
pH	比色法
DO	ウインクラー・アジ化ナトリウム変法 (JIS K0101-1979)
SS	GFP法 (JIS K0101-1979)
NH <sub>4</sub> -N	ネスラー法 (JIS K0102-1974)
NO <sub>3</sub> -N	GRIEISS-ROMITN試薬法
COD	過マンガン酸カリウム酸性法 (JIS K0101-1979)
BOD	JIS K0101-1979
一般細菌	普通寒天培地に接種し、20 48 時間培養後、集落数計数

水中の病原ウイルスの検出：

本施設の病原ウイルス不活化効果を明らかにするため、水中からのウイルス検出を試みた。水質調査と同様にA、BおよびC地点から検水 10 を採取し、ガラス繊維濾紙

(0.80 μm, 1% FBS 処理) で濾過した後、限外濾過(分子量 300,000) を行い、10m (1,000 倍) まで濃縮した。その後 1% FBS で前処理した 0.45 μm メンブレンフィルターで除菌し、RTG-2、EPC 細胞を用いたマイクロプレート法によりウイルス感染価を測定した。

ニジマス稚魚の飼育実験：

A、BおよびC地点からビニールホースを用いて、各用水を毎秒 15~20m を導水し、平均体重 0.11g のニジマス稚魚 1,000 尾を 45 容の塩ビ水槽で飼育した。飼育期間は 25 日間とし、魚病発生状況と死亡率を調査した。死亡魚については、症状を観察するとともに第二章第二節と同様にウイルス分離を行った。実験は 1987 年 3 月 4~28 日に行った。期間中の水温は 7.3~15.4 であった。

生産業務における魚病発生状況：

施設を使用開始した 1984 年から 1988 年までの 5 年間について、UV 殺菌した用水を使用している飼育棟および未処理の用水を使用している飼育池で行った生産業務における魚病発生状況を観察し、用水の UV 殺菌効果を評価した。

結 果

処理水の水質調査：

施設で処理された用水の水質調査結果について測定値の範囲と各測定時における原水の値を 100 としたときの沈殿濾過および UV 殺菌水の割合 (以下指数値という) を表 47 に示した。

表 47 濾過殺菌施設で処理した水の水質調査

調査項目	原水	沈殿濾過水		紫外線殺菌水	
	測定値*1	測定値*1	指数値*2	測定値*1	指数値*2
pH	7.2-7.6	7.0-7.3	-	7.0-7.5	-
D O (mg/ )	8.88-11.05	7.85-9.22	83-93( 88)	8.15-9.85	88-109( 96)
S S (mg/ )	0.6-4.2	0.0-3.7	0-206( 64)	0.0-4.4	0-107( 42)
N H <sub>4</sub> -N (mg/ )	0.06-0.67	0.07-0.63	57-100( 84)	0.04-0.64	53-100( 79)
N O <sub>3</sub> -N (mg/ )	0.015-0.031	0.025-0.037	112-158(133)	0.026-0.041	119-188(153)
C O D (mg/ )	1.31-2.12	0.80-1.29	51- 79( 65)	0.82-1.65	47- 85( 63)
B O D (mg/ )	1.23-3.04	0.84-1.90	48- 67( 60)	0.55-1.88	35- 62( 46)
一般細菌数(cfu/m )	1.2-7.3×10 <sup>3</sup>	0.5-2.2×10 <sup>3</sup>	36- 72(52)	0.003-1.8×10 <sup>3</sup>	0.4- 46( 10)

\* 1 調査期間中の測定値の範囲を示す。

\* 2 各月の測定値の原水値に対する割合{(測定値 / 原水値) × 100}を示し、( )内の数字は調査期間中の平均値を示す。

調査期間：1986年6月～1987年3月

水温：9.7～19.2

S Sは、原水で0.6～4.2mg/ あったものが、沈殿濾過後は0.0～3.7mg/ になり、原水に対する指数値で平均64%程度にまで減少した。NH<sub>4</sub>-Nは、原水で0.06～0.67mg/ であったものが同様に88%まで減少した。一方、NO<sub>3</sub>-Nは、原水は0.015～0.031mg/ であったものが平均133%に増加した。またD Oは、原水で8.9～11.1mg/ あったものが沈殿濾過後は88%に減少し、瀑気槽でエアレーションされて96%まで回復した。

水中の病原ウイルスの検出：

限外濾過により濃縮した用水からI H NおよびI P Nウイルスが分離された。検水のウイルス感染価を表48に示した。

I H Nウイルスは原水中の感染価が0.56TCID<sub>50</sub>/ であったのに対し、沈殿処理水およびUV殺菌水ではいずれも検出限界(0.32TCID<sub>50</sub>/ )以下であった。I P Nウイルスの感染価は、原水、沈殿濾過水、UV殺菌水の順に10、1.8、1.0TCID<sub>50</sub>/ で、処理されるに従い感染価が減少した。

表 48 濾過消毒施設で処理した水のウイルス検出

処理水の種類	ウイルス感染価 (TCID <sub>50</sub> / )	
	I H N V	I P N V
原水	0.56	10
沈殿濾過水	-	1.8
紫外線殺菌水	-	1.0

\* 検出限界(0.32 TCID<sub>50</sub>/ )以下

ニジマス稚魚の飼育試験：

原水、沈殿濾過水およびUV殺菌水を用いて飼育したニジマス稚魚の累積死亡率の変化を図32に示した。原水区および沈殿濾過水区では飼育開始後13～14日から死亡魚が急激に増加し、25日間の累積死亡率は原水区で99.7%、沈殿濾過水区で100%に達した。両区の死亡魚には鰓の貧血と線状出血、筋肉出血、腹部膨満、腎臓の貧血と出血などI H Nの症状が見られ、I H Nウイルスが分離された。一方、UV照射区の累積死亡率は3.9%であった。死亡魚にI H Nの症状はなく、I H Nウイルスは分離されなかった。

生産業務における魚病発生状況：

本施設でUV殺菌された用水を使用している飼育棟と、未処理水を使用している飼育池で発生した疾病を表49に示した。未処理の用水を使用した飼育池では、稚魚にI H N、細菌性鰓病および原虫症(キロドネラ、トリコディナ)が、稚魚および成魚にピブリオ病、せっそう病、イクチオホヌス症、水カビ病、白点病の発生が観察された。また、UV殺菌水を用いた飼育棟では、稚魚にI P N、細菌性鰓病、内臓真菌症および原虫症(トリコディナ、キロドネラ、コスティア)が、稚魚および成魚にイクチオホヌス症、水カビ病が観察された。しかしI H N、ピブリオ病、せっそう病の発生は全く見られなかった。

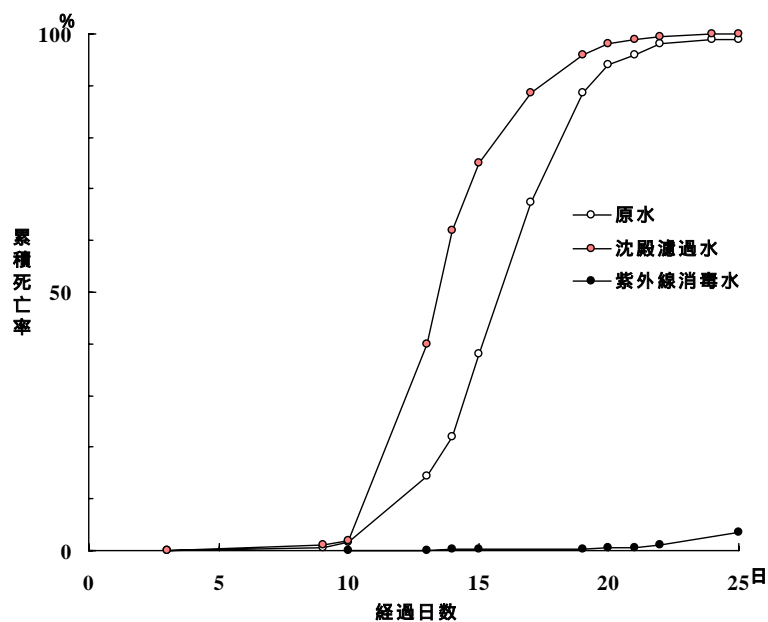


図 32 原水、沈殿濾過水及び紫外線消毒水で飼育したニジマス稚魚の累積死亡率の変化

表 49 通常の飼育用水及び濾過紫外線殺菌水で飼育したサケ科魚類に発生した疾病の比較

用水の種類	通常の飼育用水	濾過紫外線消毒水
飼育した魚種	ニジマス	ニジマス
	ヤマメ	ヤマメ
	カワマス	カワマス
	ブラウントラウト	ブラウントラウト
疾 病 名	I H N、I P N	I P N
	ピブリオ病、せっそう病	
	細菌性鰓病	細菌性鰓病
	水カビ病	水カビ病、内臓真菌症
	イクチオホヌス症	イクチオホヌス症
	トリコジナ症	トリコジナ症
	キロドネラ症	キロドネラ症
	白点病	コスチア症

調査期間：1984年～1988年

#### 考 察

外照式UV照射装置は、市販のUV殺菌灯を用いて比較的安価に設置できることから、養殖現場への普及が期待される。本施設は、毎秒30の用水を殺菌処理でき実用的な規模ということができる。

本施設で殺菌処理した水中からIHNウイルスは検出されず、ニジマス稚魚の飼育実験でもIHNの発生はなく、IHNウイルスの不活化には十分機能していることが確認された。また、この用水を使用して実際に発眼卵のふ化および稚魚の飼育を行い、IHNのほかピブリオ病、せっそう病の予防効果を確認できたことから、これらの疾病に対し、外照式UV照射装置による用水の殺菌

方法が養殖現場で利用できることが実証された。一方、発病があった I P N、細菌性鰓病、水カビ病、内臓真菌症、イクチオハヌス症およびトリコディナ、キロドネラなど原虫症に対しては予防効果のないことも明らかになった。I H N ウイルスの感染価を 99% 以上低下させるのに要する U V 照射量は  $1.0\text{--}3.0 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$  であるのに対し、I P N ウイルスは  $5.4\text{--}10 \times 10^5 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$  (吉水ら, 1986a)、水カビ類の菌糸の伸長を阻止するには  $1.5\text{--}2.0 \times 10^5 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$  (木村ら, 1980) の照射量が必要であり、当施設の照射量が  $6\text{--}10 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$  であることからこれらの結果と合致した。

水の U V 殺菌では、水中の懸濁物質による透過率阻害が問題になる。本施設の沈殿濾過水中の懸濁物質は原水の 64% に減少し、I H N 予防に影響はなかったが、U V 照射前の懸濁物質の除去対策と殺菌効果に及ぼす影響を検討しておく必要がある。また、水中の病原ウイルス検出について、原水中から I H N ウイルスが検出されたが、沈殿濾過水では検出できなかったこと、I P N ウイルスの感染価が減少していることから、沈殿濾過処理がこれら病原体の除去に関与したものと考えられる。

## 第二節 隔離飼育施設と I H N の予防効果

### 目 的

I H N 防御の基本的な対策として、発眼卵の P V P - ヨード剤消毒およびふ化用水として I H N ウイルス非汚染水を使用することが明らかになったことから、その後の I H N ウイルス侵入防止を図ることによって発病抑止が可能であると考えられた。長野県水産試験場では魚病対策を施した施設で事業規模の種苗生産を行うために、隔離飼育施設（押野試験池）を建設した。この施設は防疫対策モデルとして位置付け、I H N の予防効果を検討した。

#### 1. 施設の概要

当隔離飼育施設の概要を表 50 および図 33 に示した。当施設はニジマスを中心としたサケ科魚類の種苗生産施設として 1980 年に建設された。敷地面積は  $3,073.3 \text{ m}^2$ 、飼育池は 52 面  $450 \text{ m}^2$ 、出荷池 1 面  $10 \text{ m}^2$  である。飼育用水は地下水をポンプ揚水し、高架水槽から各池に配水される。揚水量は最大  $60 / \text{sec.}$ 、水温は年間を通して  $12 \pm 1$  である。建物の面積は合計  $315 \text{ m}^2$  で管理棟  $82 \text{ m}^2$ 、ふ化場  $83 \text{ m}^2$  (A 室  $55.7 \text{ m}^2$ 、B 室  $27.3 \text{ m}^2$ )、稚魚飼育棟  $127 \text{ m}^2$  およびポンプ棟  $23 \text{ m}^2$  である。機械設備として揚水

ポンプは  $7.5 \text{ kW}$  1 台、 $3.75 \text{ kW}$  2 台の計 3 台、自家発電機は  $17 \text{ kVA}$  1 台である。受精卵から発眼卵までの期間に使用するふ化場 B 室および出荷池を除いた他の施設は、すべて高さ  $1.26 \text{ m}$  の金網製フェンスで囲み外部と隔離した。飼育管理者等は管理棟を通過して施設内にはいるが、その際踏込み式消毒槽を備えた玄関を通り、手の消毒をして履物を脱ぎ、更衣室で専用の作業着に着替えてから内に入ることができる。手荷物は  $15 \text{ W}$  紫外線殺菌灯を上下 2 本ずつ設置したバスルームを通過させている。飼料は  $10 \text{ kg}$  又は  $20 \text{ kg}$  入りの包装されたものを殺菌灯照射室を通して施設内に入れるようにした。照射室には柵の上下左右に  $15 \text{ W}$  の紫外線殺菌灯を 12 本設置し、飼料の包装紙を殺菌後搬入できるように設計されている。また、作業用具はすべて専用とし、外部からの持ち込みはない。この施設にはヨード剤で消毒した発眼卵のみ導入し、 $2\text{--}4 \text{ g}$  までの稚魚の飼育を原則としている。

表 50 隔離飼育施設の概要

施設の名称	長野県水産試験場押野試験池		
場所	長野県東筑摩郡明科町		
建設年	1980 年		
敷地面積	$3,073.3 \text{ m}^2$		
飼育施設	養魚池	52 面	$450 \text{ m}^2$
			$3 \text{ m}^2$ 20 面
			$6 \text{ m}^2$ 10 面
			$10 \text{ m}^2$ 12 面
			$20 \text{ m}^2$ 10 面
	出荷池	1 面	$10 \text{ m}^2$
建 物	4 棟	$315 \text{ m}^2$	
	管理棟	$82 \text{ m}^2$	
	ふ化場	A 室	$51 \text{ m}^2$
		B 室	$28 \text{ m}^2$
	稚魚棟	$127 \text{ m}^2$	
ポンプ棟	$27 \text{ m}^2$		
用水	地下水のポンプ揚水		
		最大	$60 / \text{sec.}$
水温	$12.0 \pm 1$		
機械設備	揚水ポンプ	$7.5 \text{ kW}$	1 台
		$3.75 \text{ kW}$	2 台
	自家発電機	$17 \text{ kVA}$	1 台

書式変更：箇条書きと段落番号

### 材料と方法

調査期間と対象魚種：

1980 年から 1993 年の採卵群について調査した。ニジマスでは通常 10 月から翌年 1 月の産卵期に生産された発眼卵は同一採卵群として扱われており、1 月に生産された発眼卵は前年分とした。当施設には、ニジマスの他サケ、サクラマス、カワマス、ヤマメ、木崎マスの発眼



卵を収容したが、毎年継続的に全体の70%以上をニジマス卵が占めることから調査対象をニジマスとした。

荷あるいは水産試験場の一般飼育池に移動したが、飼育成績は発眼卵からこの時点までの生残率を調査した。

飼育成績：

ニジマスおよびその他の魚種の発眼卵はPVP-ヨード剤50ppm、15分間消毒を行い、ふ化場へ収容した。施設内で2～4gまで飼育したニジマス稚魚は養魚者へ出

疾病の発生状況：

飼育期間中にニジマスに発生した疾病について調査した。検査方法はウイルス、細菌および寄生虫について第一章第一節と同様の方法である。

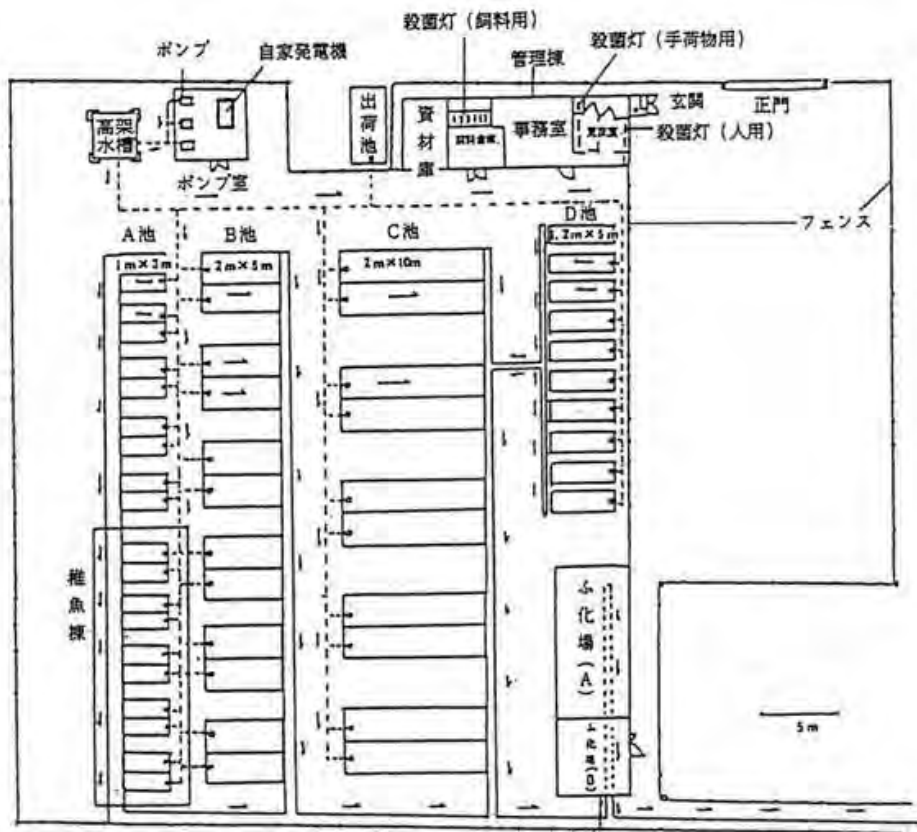


図33 長野県水産試験場に建設した隔離飼育施設の概要

結果

1980年から1993年間の隔離飼育地における飼育成績と疾病の発生状況は表51に示したとおりである。

ニジマスの発眼卵を年間77～134万粒ふ化し、2～4gの稚魚を34～95万尾生産した。発眼卵から稚魚までの生残率は29.6～77.5%、平均62.7%であった。疾病の発

生状況についてみると、IHNは1987年に7件、1988年に3件、1990年に1件、1993年に2件(内1件は冷水病との混合感染)であった。IHN以外の疾病ではIPNが1985、86および92年にそれぞれ1、2および1件発生した。また、稚魚が成長し飼育密度が高くなったり、用水量が不足した時期に細菌性鰓病、カラムナリス病が発生した。1990および1993年に発生したガス病は地下水に含まれる窒素ガスによるものであった。ニジマス以

外の魚種では、サケ、サクラマスに細菌性鰓病が発生した。また、1989、1990年に外部から導入したサクラマス発眼卵を飼育したところ、稚魚期に細菌性腎臓病が発生し、以降の飼育を中止した。

IHN発病群は即時に殺処分し、隣接池への伝染を防いだ。一部は一般飼育池へ移して経過を観察したところ死亡率は38～86%であった。

表 51 長野県水産試験場が建設した隔離飼育施設におけるニジマスの飼育成績及び疾病の発生状況

採卵年	飼 育 成 績			疾 病 の 発 生 状 況				
	A 収容発眼卵	B 稚魚生産数	B / A	I H N	I P N	細菌性鰓病	カラムナリス病	ガス病
	万尾	万粒	%					
1980	109.5	50.0	45.7					
1981	102.1	71.0	69.5					
1982	134.0	77.0	57.5					
1983	87.0	58.0	66.7					
1984	117.8	64.0	54.3					
1985	77.0	48.0	62.3					
1986	118.0	89.0	75.4					
1987	115.0	34.0	29.6					
1988	123.0	95.0	77.2					
1989	99.0	76.0	76.8					
1990	102.0	79.0	77.5					
1991	105.0	65.0	61.9					
1992	123.0	82.0	66.7					
1993	92.0	55.0	59.8					
計	1,504.4	943.0	62.7					

考 察

現在、ウイルス病に対して一部のヘルペスウイルスを除き、化学療法による治療はなく、対策としてワクチン投与あるいはウイルスフリー系統の選抜飼育が考えられている。しかし、既汚染地域内の養魚場では感染源となる病魚、ウイルス保有親魚等から隔離し、作業用具類の消毒をするなど衛生面からの予防対策を考えることが現実的である。このような観点から当施設は周囲の汚染池等からの病原体の侵入を防ぐと同時に、施設内で発病した場合にも病原体を外部に持ち出さず、施設内の隣接池にも伝染する危険を少なくするための対策を実施した。すなわち、用水のくり返し使用はせず、各池の排水スクリーン掃除用ブラシおよび死魚すくい用夕毛網は専用とし、引き網等の用具は一池毎に塩素消毒を行い、さらに敷地はコンクリート舗装とし池壁は地面より30cm高くしたことから地表の雨水や作業中にこぼれた池水が池に流入することを防いでいる。

わが国の養殖サケ・マス類に被害を与えた最初のウイルス病であるIPNでは、水温や魚の大きさとウイルスの感受性に関連があると考えられており、これに関した対策が実施されている。Wolf(1960)は、人為感染した13

週令ニジマスはほとんど死亡しないことを報告し、さらにWolf(1988)は、一部の養魚場でIPNウイルスフリーの環境で稚魚を飼育し、感受性がなくなる魚令に達した段階で一般飼育池に移す方法を推奨している。一方、山崎(1990)は多くの発病事例を調査し、水温10以下では餌付け後6週以上経過した場合に発病が多く、15以上では2週までに発病の多いことを報告するとともに、一般に低水温で飼育することによって死亡率を下げることができるため、ニジマス養殖ではふ化稚魚を10前後で飼育することが多いと述べている。

IHNについて前章までの事例調査や実験で、水温による発病や死亡率への影響は認められないが、稚魚の成長に伴って死亡率が低下することが明らかになり、押野試験池はニジマスのIHN感受性が低くなる2g以上の稚魚生産を目指して建設されたものである。建設された1980年から14年間の発眼卵から稚魚までの生残率の平均は62.7%となり、IHNの初発生から隔離施設の完成までの7年間、長野県水産試験場のニジマス稚魚生産状況は、1973、1974年はそれぞれ200、1,026万粒の発眼卵をふ化させたが、稚魚は得られず、1975年は169万粒から15万尾(8.9%)の稚魚を得たのみで、1976年以降は事業的な稚魚生産は中止せざるを得なかった。このことから隔離施設は、事業規模での種苗生産に支障はなく

有効な対策であることが示された。

調査期間中 IHN は 4 年間にわたり発病し、完全に IHN を抑えることはできなかったが、施設全体への蔓延を防ぎ、発病池のニジマスなどの殺処分などにより、全体としての生残率低下を防ぐことができた。

この考え方は養殖業界にも理解され、広く普及している技術である。

### 第三節 防除対策を施した飼育施設

#### 目 的

第二節では、長野県水産試験場の隔離飼育施設が、事業規模の種苗生産施設として有効に機能することが明らかになった。本節では、防疫施設の普及版ともいえる民間の施設について実施した対策と IHN の防除効果を検討した。調査対象としたのは、アマゴの種苗生産施設(成魚も飼育)とニジマスの種苗生産施設である。防疫対策のための設備、実施方法は経営規模や生産形態によって変わり得るが、基本的な防疫の概念は PVP オード剤による卵消毒とウイルス汚染のない用水の利用および日常の作業における衛生管理の徹底である。

#### 1. 施設の概要

(1) アマゴ種苗生産施設(長野県泰阜村: 柗城養殖漁業生産組合)

1974 年に柗城養魚組合として発足した本施設は、天竜川支流土中川上流域でアマゴの種苗生産および成魚の育成を始めた。1986 年に第 2 養魚場として養成池および加工施設を、1990 年には第 3 養魚場としてふ化場および稚魚飼育施設を建設し、現有施設が整備された。他の養魚場から地理的に隔離されているうえ、部外者の立入り制限、日常作業時の手、ビニール手袋、長靴および器具類の消毒の徹底をはかっていることから、外部からの魚病の侵入はほぼ完全に防止されている。生産規模は養成親魚から 900 万粒の発眼卵生産を行い、県内外に出荷するほか 110 万尾の稚魚を生産し、このうち 60 万尾を養成および親魚用として飼育している。

飼育施設の概要を表 52 および図 34 に示した。3 養魚場合計の敷地面積は 5,530 m<sup>2</sup>、養魚地は 27 面、1,032 m<sup>2</sup> である。建物は 8 棟あり、ふ化場、倉庫、加工工場、事務所および管理舎計 612.4 m<sup>2</sup> である。

用水は 3 養魚場とも河川水を用い、季節により変動はあるが、合計 106 / 秒、水温は 1 ~ 19 の範囲にある。飼育管理は通常 4 名が行っている。

表 52 柗城養殖漁業生産組合の養殖の概要

	第 1	第 2	第 3	計
敷地面積	1,980 m <sup>2</sup>	1,650 m <sup>2</sup>	1,900 m <sup>2</sup>	5,530 m <sup>2</sup>
飼育池	10 面 340 m <sup>2</sup>	8 面 312 m <sup>2</sup>	9 面 380 m <sup>2</sup>	27 面 1,032 m <sup>2</sup>
用水の種類	河川水	河川水	河川水	
用水量	28 / 秒	50 / 秒	28 / 秒	106 / 秒
水温	1 - 18	1 - 19	1 - 19	
建物	2 棟(延 188.3 m <sup>2</sup> ) ふ化場 79.4 m <sup>2</sup> 事務所 2F 59.4 m <sup>2</sup> 倉庫 1F 49.5 m <sup>2</sup>	2 棟(延 118.9 m <sup>2</sup> ) 管理棟 29.7 m <sup>2</sup> 加工場 2F 44.6 m <sup>2</sup> 倉庫 1F 44.6 m <sup>2</sup>	4 棟(延 305.2 m <sup>2</sup> ) ふ化場 198.0 m <sup>2</sup> 倉庫 2F 46.2 m <sup>2</sup> 管理棟 61.0 m <sup>2</sup>	8 棟(延 612.4 m <sup>2</sup> )
供用開始	1974 年	1986 年	1990 年	

(2) ニジマス種苗生産施設(長野県穂高町: 榊辰巳)

榊辰巳は防疫対策のための設備を備えたニジマス種苗生産施設の建設を 1977 年に着手し、1980 年には 1,970 m<sup>2</sup> の飼育池を含む全施設を完成させた。1977 年から一部供用開始し、稚魚生産を行った。生産規模は年間 3 ~ 4 回に分けて約 1 千万粒の発眼卵を収容し、700 ~ 800 万尾の稚魚生産をしている。近隣に IHN の発病している養

魚場があるが、これらの施設との交流をせず隔離施設として使用している。飼育施設の概要を表 53 および図 35 に示した。敷地面積は 5,200 m<sup>2</sup>、屋外コンクリート飼育池 20 面、1,808 m<sup>2</sup>、屋内 FRP 飼育槽 30 面 162 m<sup>2</sup>、計 1,970 m<sup>2</sup> の飼育面積がある。建物は屋内飼育槽部分が 306.2 m<sup>2</sup>、卵消毒室、物入れ、飼料庫および更衣室が計 77.2 m<sup>2</sup>、ふ化場並びにポンプアップ用水の窒素ガス抜きのための貯

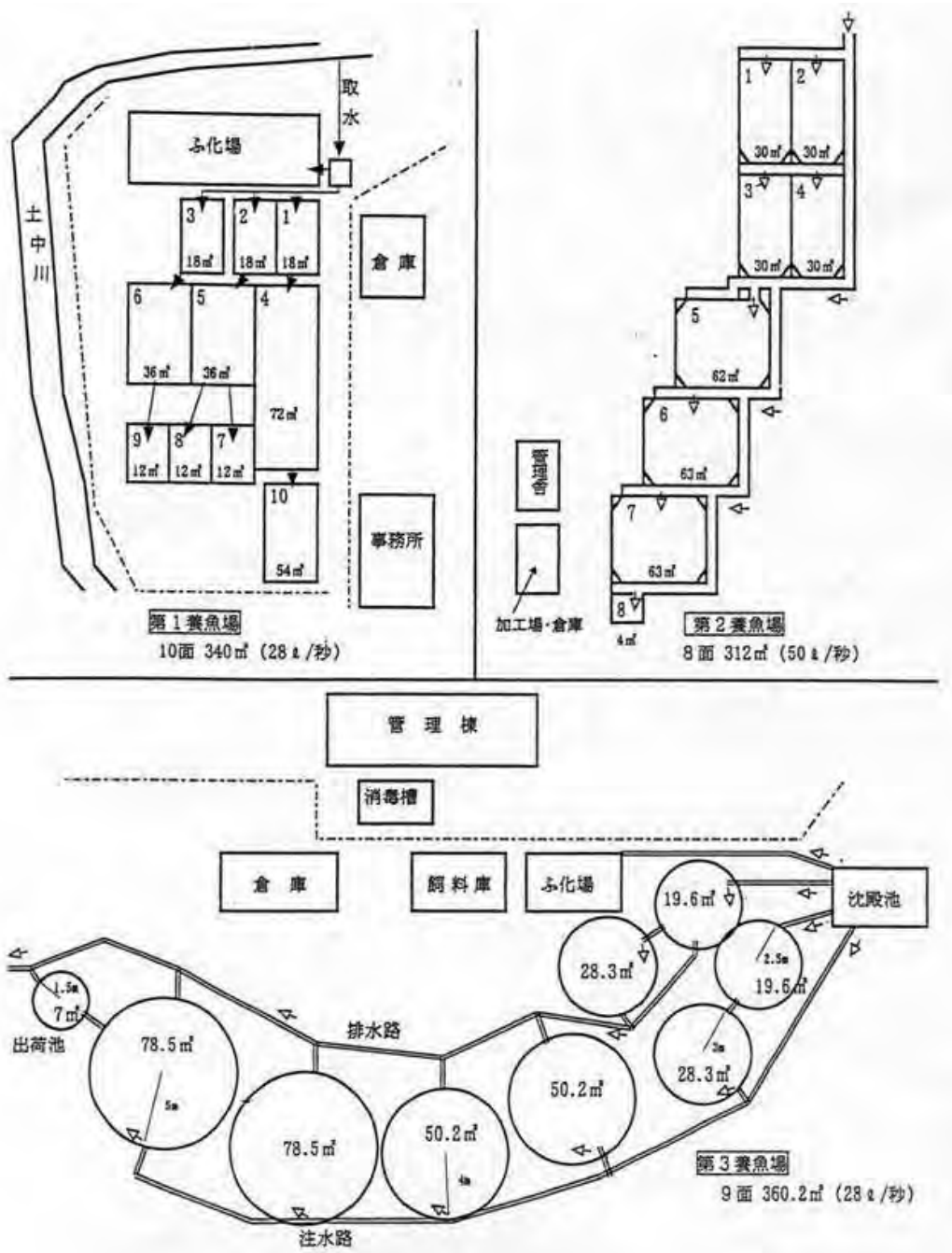


図34 栃城養殖漁業生産組合の施設概要

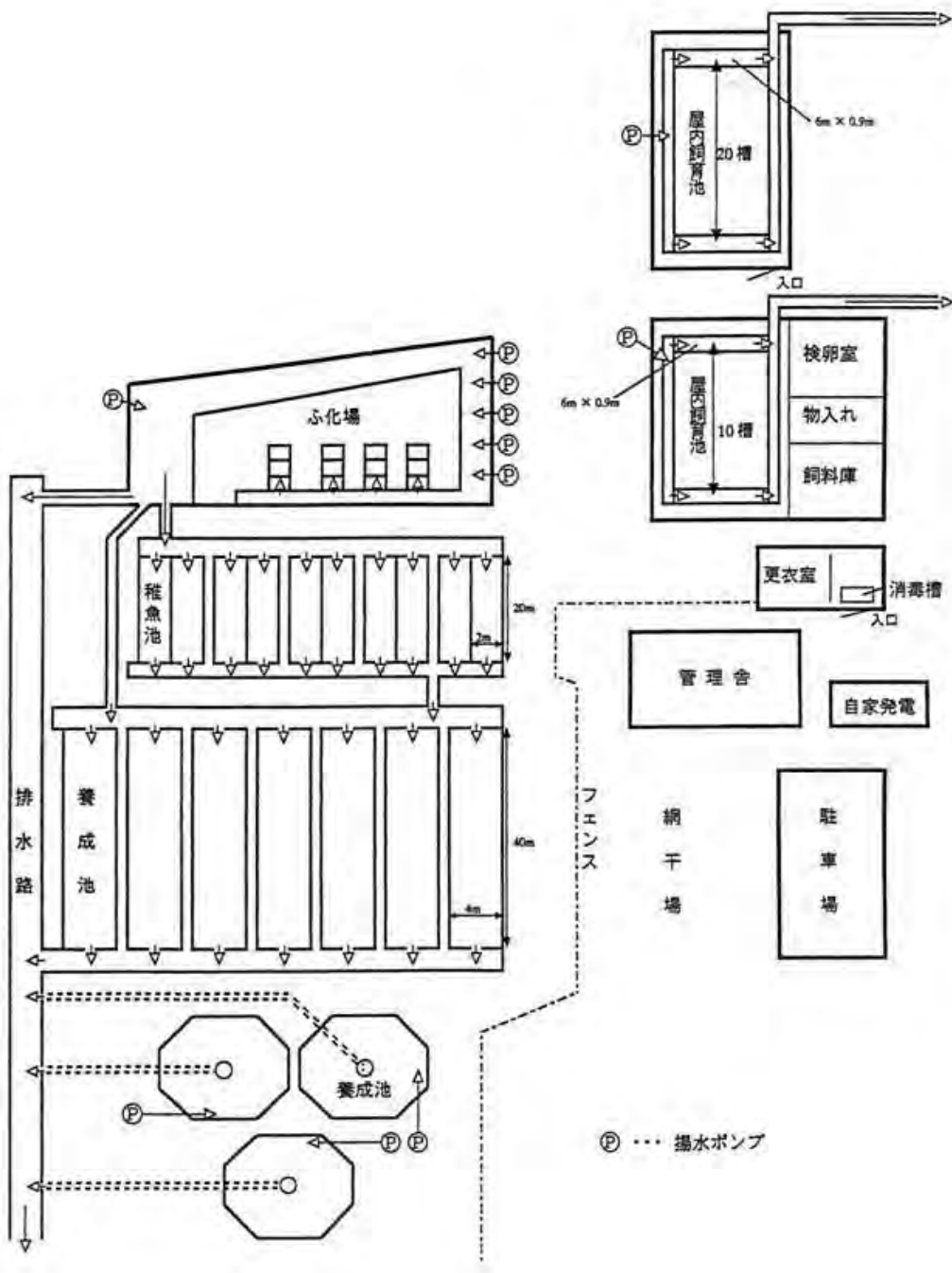


図 35 株式会社辰巳の施設概要

水池を含むふ化場が 133.5 m<sup>2</sup>、管理人の住居となっている管理舎 99 m<sup>2</sup>合計 615.9 m<sup>2</sup>である。用水は敷地内に設置された揚水ポンプ 11 基を用い、地下 20～50mから毎秒 200 を揚水している。用水には窒素ガスが多く含まれていることから、それぞれ瀑気後使用されている。水温は年間を通じ 12 ± 1 である。また、自家発電器は 125kVA(自動)および 80kVA(手動)各 1 台がある。施設は金網製フェンスで囲まれており、鳥類の侵入を防ぐために天井部分にネットが設置されている。飼育管理者は更衣室で専用作業着、長靴に着替え、ビニール手袋を着用し、長靴、手袋を消毒後施設内に入る。施設内で使用する器具類は、1,000～2,000 倍サラシ粉液で消毒後搬入する。ふ化場には PVP-ヨード剤で消毒した発眼卵のみ導入し、ふ化した稚魚はまず屋内飼育槽で飼育され、その後稚魚池・丸池に移動し、魚体重約 5 g になると養成池に移される。ここで 20 g まで飼育すると別の養魚場に輸送する。なお、用水は原則一回使用後排水しているが、養成池は稚魚池で使用された用水が再利用されている。この施設では当初施設全体を隔離施設として、IHNフリーとしていたが、1985 年以降養成池から別の養魚場へ輸送した 20 g サイズのニジマスに IHN が発病し、大きな被害を与えるようになったため、養成池では IHN が発病しても群全体の殺処分を行わず IHN 耐過魚を飼育することにしている。したがって、養成池に移動した 5 g サイズの稚魚は例外なく IHN が発病する状況である。また、養成池との交流によって稚魚池および丸池への IHN の伝播を防止するため、管理者および器具類の消毒を徹底している。

表 53 辰巳ニジマス種苗生産施設の概要

敷地面積	5,200 m <sup>2</sup>
規模	飼育池 50 面、1,970 m <sup>2</sup> (屋内 FRP 水槽 30 面 162 m <sup>2</sup> 、 屋外水槽 20 面 1,808 m <sup>2</sup> )
用水、水量、水温	地下水のポンプ揚水 最大 200 /秒、12.0 ± 1.0
建 物	5 棟 615.9 m <sup>2</sup> (屋内飼育部 306.2 m <sup>2</sup> 、卵消毒・ 物置・倉庫・更衣室 77.2 m <sup>2</sup> 、 ふ化場他 133.5 m <sup>2</sup> 、 管理棟 99.0 m <sup>2</sup> )

## 2. 種苗生産状況と疾病の発生状況

### 材料と方法

### (1) アマゴの種苗生産施設

調査期間と調査内容：

種苗生産および魚病の発生状況を 1984～1995 年について、消毒剤の年間使用状況を 1988～1994 年について調査した。

種苗生産状況は PVP-ヨード剤 50ppm 15 分間消毒後の発眼卵から 2 g サイズ稚魚までの歩留まりを調査した。魚病の発生状況は期間中に発生した疾病について、現地調査により採取又は氷冷下で水産試験場に送付されたサンプルについて、寄生虫、細菌およびウイルス検査を第二章第一節と同様の方法により検査した。

消毒薬の使用状況は日常用いられている消毒剤について、毎月末の在庫量を調べ、前月在庫量を差し引き、その月の使用量として年間の使用量を求めた。

### (2) ニジマス種苗生産施設

調査期間と調査内容：

種苗生産および魚病の発生状況を 1977～1995 年について、消毒剤の年間使用状況を 1983～1994 年について調査した。

種苗生産状況は発眼卵から平均体重 20 g サイズまでの歩留まりを調査した。自家産および県内外から購入した発眼卵は、PVP-ヨード剤消毒を行った後ふ化場でふ化させ、浮上後屋内 FRP 飼育槽で 1 g まで飼育する。その後、屋外稚魚池に移動して約 5 g になるまで飼育し、さらに養成池で 20 g サイズまで飼育する。

魚病の発生状況は現地調査および水産試験場に検査依頼されたサンプルについて、寄生虫、細菌およびウイルス検査を第二章第一節と同様の方法により検査した。なお、1985 年以降、養成池では IHN を恒常的に発病させていることから、養成池での発生魚病は記録から除き、FRP 水槽および稚魚池で発生した魚病を対象にした。

消毒薬の使用状況については各年の在庫調査をしておらず、正確な使用量が明らかにならないことから年間の購入量として示した。

## 結 果

### 1. アマゴ種苗生産施設

1984 年から 1995 年の間の同施設における発眼卵および稚魚 (2 g サイズ) 生産の状況と疾病の発生状況を表 54 に示した。

当施設は、種苗から親魚養成まで一貫生産を行い、発眼卵、稚魚の出荷をしている。発眼卵の生産は約 900 万

粒で、このうち約 160 万粒をふ化させ、110～120 万尾の 2 g 稚魚を生産する。この中から親魚および養成用として 60 万尾を育成している。発眼卵から 2 g 稚魚までの歩留まりは 55.3～80.0% (平均 67.8%) であった。魚病の発生は、1991 年に I P N が 1 件、1992、1993 年に細菌性鰓病が各 1 件発生したのみであった。しかも、I P N による死亡率はごく低く、定期検査時に検出された事例であった。

消毒剤について年間使用量を表 55 に示した。使用した消毒薬および年平均使用量はさらし粉 316.3kg、次亜塩素酸ソーダ 54.2kg、エチルアルコール 66.1L、逆性石けん液 246.6 であった。器具類、長靴はさらし粉、次亜塩素酸ソーダを、手、ビニール手袋はエチルアルコール、逆性石けん液を用いた。

## 2. ニジマス種苗生産施設

1977 年から 1994 年の間の同施設での発眼卵から 20 g サイズまでの歩留まりと疾病の発生状況は表 56 のとおりである。施設設置当初は、年間 320～350 万粒の発眼卵を導入したが、施設完成後は 1 千万粒前後を収容している。発眼卵から 20 g までの歩留まりは 28.5～81.2% (平均 56.4%) であった。なお、養成池に移動する前の 5 g サイズまでの歩留まりは毎年 80% 以上 (生産者推定) であった。

屋内施設では 1 g サイズまで飼育するが、約 10 万尾ずつ独立した水槽で飼育し、用水は 1 回使用であることから万一魚病の発生があっても、隣接水槽への伝染はなすことができた。

魚病の発生状況は、ウイルス病は I P N が 1977、1978、1980、1984、1986 および 1991 年に各 1～2 件、I H N は 1980 (1 件)、1981 (2 件)、1984 (2 件)、1990 (1 件)、1991 (混合感染 2 件含む 4 件) および 1992 年 (混合感染 1 件) に発生した。細菌病はビブリオ病が 1979、1990 年に各 1 件、細菌性鰓病が 1981～1984 年に各 1～3 件発生した。また、1979～1981 年の 3 年間はアマゴ発眼卵を 10～20 万粒導入したが、上記疾病中 1979 年のビブリオ病、1981 年の細菌性鰓病各 1 件はアマゴに発生したものである。なお、1985 年以降、養成池では全群に I H N の発病が観察されたが、これらは診断事例に加えていない。

消毒剤の使用状況は、表 57 に示した。当初、池、器具類、長靴、ビニール手袋などの消毒にサラシ粉のみ使用していたが、1989 年以降次亜塩素酸ソーダ、逆性石けん液、アルコールを用いている。年間の使用量は、サラシ粉 475kg、次亜塩素酸ソーダ 234、逆性石けん液 72.7、エチルアルコール 7.2 であった。なお、逆性石けん液、エチルアルコールの使用量は少なく、1992 年以降は購入していないがそれ以前に購入したものを使用した。

表 54 栃城養殖漁業生産組合における種卵・稚魚の生産状況及び疾病の発生状況 (アマゴ)

年度	飼 育 成 績					疾病の発生状況 ( )内は発病件数
	生産した発眼卵数 万粒	出荷卵数 万粒	A 保有した発眼卵数 万粒	B 稚魚生産数 万尾	B/A %	
1984	150	95	55	40	72.7	
1985	100	50	50	40	80.0	
1986	180	80	100	60	60.0	
1987	376	226	150	80	53.3	
1988	400	250	150	120	80.0	
1989	520	353	167	125	74.9	
1990	600	450	150	110	73.3	
1991	940	790	150	120	80.0	I P N (1)
1992	670	510	160	120	75.0	B G D (1)
1993	803	626	177	88	49.7	B G D (1)
1994	783	623	160	114	71.3	
1995	900	730	170	94	55.3	
計	6,422	4,783	1,639	1,111	67.8	

\* 細菌性鰓病

表 55 消毒薬の使用状況

栃城養殖漁業生産組合

年	高度サラシ粉 (有効塩素 70%)	逆性石けん液	次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素 13%)	エチルアルコール
	kg		kg	
1988	326.2	250.6	48.4	41.8
1989	314.9	279.1	39.5	25.6
1990	210.0	184.0	38.7	44.9
1991	237.9	261.5	76.0	78.3
1992	449.1	267.8	70.7	103.6
1993	355.5	256.8	49.3	107.0
1994	320.3	226.5	56.5	63.7

表 56 辰巳における稚魚の生産状況及び疾病の発生状況(ニジマス)

年度	飼 育 成 績			B/A	疾病の発生状況 ( )内は発病件数
	A 発眼卵数	B 稚魚生産数	%		
	万粒	万尾			
1977	320	170	53.1	IPN(2)	
1978	350	160	45.7	IPN(1)	
1979	-	-	-	Vib*(1)	
1980	-	-	-	IHN(1), IPN(1)	
1981	-	-	-	BGD** (3), IHN(2)	
1982	1,000	600	60	BGD(1)	
1983	1,150	730	63.5	BGD+原虫症(1)	
1984	889	530	59.6	BGD(2), IHN(3), IPN(1)	
1985	1,212	500	41.3		
1986	-	-	-	IPN(1)	
1987	-	-	-		
1988	580	340	58.6		
1989	1,051	300	28.5		
1990	1,000	600	60.0	IHN(1), Vib(1)	
1991	779	511	65.6	IHN(2), IPN(1), IHN+IPN(1), IHN+カラムナリス(1)	
1992	1,125	913	81.2	IHN+カラムナリス(1)	
1993	1,010	400	39.6		
1994	660	520	78.8		
計	11,126	6,274	56.4		

\* ビブリオ病 \*\* 細菌性鰓病

表 57 消毒薬の使用状況

(株)辰巳

年	高度サラシ粉 (有効塩素 70%)	逆性石けん液	次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素 13%)	エチルアルコール
	kg		kg	
1983	600			
1984	100			
1985	460			
1986	300			
1987	420			
1988	820			
1989	680	450	16	
1990	660	180	200	18
1991	360	234	220	18
1992	160	180		
1993	520	180		
1994	620	180		

(年間の購入量で示した)



考 察

IHNの防疫対策として第一章第一節で述べたように、PVPヨード剤による発眼卵消毒、IHNウイルスフリー用水での化飼育、管理者は専任とし他からのウイルス持込を防止することで種苗生産は可能である。本節で例示した2例もこの防疫対策に沿って実施されたものである。

アマゴの事例は、本県にIHNが突発的に発生した1974年から養殖を開始しており、当初から防疫対策を十分に実施し、種苗生産期だけでなく周年にわたり養殖場全体を防疫対象としている。種苗生産については、稚魚までの歩留まりは70%以上の年が多いが、1986および1987年は60%および53.3%、1993年、1995年はそれぞれ49.7%、55.3%と低下した。この原因として前2年は規模拡大のため第2養魚場を増設期間中であり、後2年は当養魚場のふ化のための発眼卵収容能力である150~160万粒を越えてふ化飼育したために、管理が十分できなかったものと推定された。発生した魚病は、発病に環境要因の影響が強い細菌性鰓病を除くと1991年のIPN1件のみである。当施設では開設後、他から卵、稚魚の導入は無いことから、IPNは当初から保有していたものが経卵感染し、たまたまこの年に発病したものと考えられる。したがって飼育親魚はIPNウイルスを保有している可能性はあるが、その後の発病はなく発眼卵および稚魚の出荷先でのIPNの発病は確認されていない。また、他の養魚場と地理的に隔離された場所に立地していることも伝染経路遮断の要因の一つと考えられ、防疫対策実施効果の大きい養魚場である。

ニジマスの種苗生産施設は、一度に300万粒のふ化飼育が可能な規模である。常時2名の専任管理者がいるが、選別・移動等の作業時はIHNウイルス汚染水系の養魚場から作業者が来るため、魚病の媒介をしないように、作業着の交換、手、長靴等の消毒の徹底を図っている。施設内でIHNの発生があるが、各水槽が独立しており、

一水槽に魚病が発生しても他への伝播がなく、被害を最小限にとどめることができた。また、養成池では5g以上になるとIHNの発病があるものの、当施設設置前のIHNウイルス汚染水飼育時の発眼卵から2g稚魚までの歩留まり10~35%に比べ、20gサイズまでの歩留まりが56.4%(5gまでは80%以上)であることから防疫対策実施効果はあったものと考えられる。当施設は本県ニジマス養殖の中心地にあり、養魚場数は多く、近隣の養魚場はIHNウイルス汚染池であることから水系全体のクリーン化は難しく、種苗生産期のみを防疫の対象としている。ニジマス種苗生産者の多くはこの事例のようにIHNウイルスに感受性の高い種苗期の防疫対策を実施し、IHNフリー稚魚の生産をしているが、1980年代後半から、従来より大型魚での発病が増加しており(森ら,1987;中居ら,1993;(社)日本水産資源保護協会,1995)、今後はIHNフリー稚魚をウイルス汚染水系へ移動した後の大型魚の防疫対策が課題として残されている。

日常の管理に使用される消毒剤は、塩素剤、逆性石けん液、エチルアルコールが一般的である。エチルアルコールのIHNウイルスに対する消毒効果については明らかでないが、一般消毒用として手、指の消毒用いられている。表58に両養魚場の消毒剤使用量を、飼育池面積100㎡当りに換算して示した。主に飼育池等の消毒に使用される塩素剤は共に年間36kgの使用量であったが、逆性石けん液、エチルアルコールの使用量には差がみられた。これはアマゴ生産施設は養魚場が3カ所に分かれ、専任管理者数が多く、手、指の消毒にはエチルアルコールを使用していること、ニジマス生産施設では日常行うビニール手袋の消毒に次亜塩素酸ナトリウムを使用しているためと考えられる。消毒は防疫対策の実施に際し主要な手段であるが、養魚現場での実効を上げるためには、養魚者に対し消毒剤の選定、具体的な使用方法を指導するとともに普及し易い消毒技術の開発も必要になる。

表 58 消毒剤の年間使用量の比較

(飼育池面積 100㎡当りに換算)

	高度サラシ粉	次亜塩素酸ソーダ	逆性石けん液	エチルアルコール
栃城養殖漁業生産組合	30.7kg (有効塩素 70%)	5.3	23.9	6.4
(株)辰巳	24.1kg (有効塩素 60%)	11.9	3.7	0.4

以上、例示した2例から種苗生産施設において、IH Nの発病を阻止あるいは被害を低減させるために実施した対策のうち有効と考えられる点は次のとおりであった。

1. 他の養魚場と隔離し、交流を制限する。
  2. 施設へは、PVP-ヨード剤で消毒した発眼卵のみ導入する。
  3. IH Nウイルス汚染のない用水を用いてふ化飼育するとともに再使用を避ける。
  4. 作業時、管理者の手足の消毒衣服の交換を徹底する。
  5. 使用する器具類の消毒を徹底する。
  6. 外部から鳥獣の侵入を防ぐ。
- これらの対策は、サケ・マス類の種苗生産施設では必須の技術であると考えられる。

#### 第四節 IH N の伝播モデルの検討

##### 目 的

伝染性造血器壊死症 (IH N) はサケ科魚類のウイルス病で、1970年にアメリカ産ベニザケ卵とともに日本に持ち込まれ、1971年に初発生が確認された。その後、日本各地のニジマス、在来マス稚魚に多大な被害を与え続けている。これまで防疫対策を徹底することにより被害を最小限に抑えてきたが、現在もなおその被害は続いており、リスク評価を適切に行い十分な解析を必要とするウイルス病の代表例である。

本研究では、ニジマス養魚池のIH Nウイルスを対象とし、養殖場内のウイルス病のリスク評価を実施するための基礎資料を得る目的で同居感染実験を行い、離散型SIRモデルにより感染率および病魚死亡率を推定し水槽内でのウイルス病伝播の特徴を明らかにした。

##### 材料と方法

同居感染試験および試験供試魚：

同居感染実験は長野県水産試験場、埼玉県水産試験場熊谷支場、山梨県水産技術センター忍野支所の3機関で1997年から2000年の間に3回、北海道大学水産学部、東京都水産試験場奥多摩分場、栃木県水産試験場の3機関では1997年から1999年の間にそれぞれ2回実施し、一実験期間は36日から最大52日間行った(表59)。

実験水槽は飼育水容積30のアクリル水槽(44×29×23.5cm)を使用し、注水量は毎分1.5にした。給餌は1日1回飽食させた。また、水槽は実験期間中の累積死亡

尾数を調査する試験区(累積死亡数調査区)、実験期間中に飼育魚を水槽内からサンプリングし、感染割合を調査する試験区(感染割合調査区)および対照区を設けた。感染割合調査区から1997-98年と2000年では発病日および終息日、1999年では日間死亡率が最大となった日または終息日にそれぞれ55尾サンプリングを行った。採取した標本は-80で凍結保存した後、試料を培養細胞に接種して2日間培養後、細胞をPCRに供する方法(Yoshinaka *et al.*, 1990)により感染の有無を判定した。

実験魚はニジマス稚魚(開始時平均体重0.2~0.6g)を使用し、各年ともに山梨県水産技術センター忍野支所で生産した同一ロットの発眼卵を飼育し得られた稚魚を用いた。病原魚(人為感染魚)としてニジマス稚魚に200mg/lの2-フェノキシエタノール液で麻酔し、脂ビレ切除により標識した後、IH Nウイルス液10 $\mu$ (10<sup>6.4</sup>TCID<sub>50</sub>/ml、長野県分離株)を腹腔内に注射した。注射後1日間別水槽に収容し、異常のない魚を実験に使用した。なお、1999年と2000年の実験ではさらに注射翌日に病原魚を同ウイルス液の1,000倍希釈液に1時間浸漬した後実験に用いた。同一時期の実験は飼育条件を統一して実施したが、飼育水温はそれぞれ実験実施機関の自然水温とした。

1997-1998年は1試験区(水槽)あたり500尾の未感染の魚(供試魚)を収容し、実験開始前日まで人為感染魚は別の水槽に隔離し、開始日に1尾から50尾の人為感染魚を試験区水槽内に同居させ、計23試験区を設定した(表60)。死亡魚は1日1回取り揚げ、計数と症状の観察を行った後ウイルス検査を行った。なお、実験では各試験機関共通の試験区として、人為感染魚25尾を同居させる試験区を設けた。また、人為感染魚を同居させない供試魚のみの対照区を計6水槽設置し、死亡魚は試験区と同様に調査した。なお、1997-1998年の試験水槽では全て人為感染魚が死亡しても供試魚が発病するまで水槽内に放置し、発病が確認された後回収した。

1999年の実験では、同居させた人為感染魚からのウイルス放出を確実にするため、人為感染魚は発病して瀕死の状態にある魚を使用した。1試験区水槽あたり500尾の供試魚を収容し、人為感染魚5尾を同居させ、計17試験区を設置し、死亡魚は1日1回取り揚げて前年と同様に検査を行った(表61)。対照区は計10水槽設置し、死亡魚は試験区と同様に調査した。なお、1999年の全て試験水槽で人為感染魚は死亡した日に水槽から取上げた。なお、1999年の北海道大学では1997-98年と同一の条件に設定して供試魚250尾で実験を行った。

2000年の実験では飼育密度と感染率の関係を調査す

るため、各試験区あたりの供試魚を 125、250 および 500 尾収容する水槽を設けて人為感染魚 25 尾を同居させ、計 12 試験区を設置、対照区は計 3 水槽設置し、死亡魚は前年と同様に調査した (表 65)。なお、人為感染魚は 1997-1998 年と同様に死亡後も供試魚が発病するまで水槽内に放置し、発病が確認された後回収した。

伝染病モデルとパラメタ推定方法：

ニジマス稚魚水槽内における IHN の伝播を再現するため、Kermack-McKendrick の伝染病モデル (SIR モデル) を離散化したモデル (渡邊, 2003) を用いた。人為感染魚を飼育水槽内に収容した日を 0 日として、 $t$  日後の未感染の供試魚数  $S_t$ 、感染した供試魚数  $I_t$  および死亡した供試魚数  $R_t$  とすると、SIR モデルでは各病状の尾数変化を次のようになる。

$$\begin{aligned} S_{t+1} &= S_t - a S_t I_t \\ I_{t+1} &= I_t + a S_t I_t - \beta I_t \\ R_{t+1} &= R_t + \beta I_t \end{aligned}$$

ここで、 $a$  は病魚 1 尾あたりの日間感染率、 $\beta$  は病魚の日間死亡率である。また、 $S_t + I_t + R_t = N$  で、 $N$  は実験開始時の飼育水槽内の未感染魚の尾数である。

パラメタ推定には累積死亡数調査区の実験のうち十分に IHN が未感染魚に伝播して流行したと判断される水槽 (未感染魚の死亡割合が 0.8 以上) 計 10 試験区の観察データを用いた。試験区ごとに各日の供試魚の累積死亡尾数を  $R$  の実験値とし、モデルから推定される理論値との対数尤度を最小にするパラメタ  $a$ 、 $\beta$  を Excel (マイクロソフト社) のソルバー機能により推定した。

次に、IHN ウイルスが人為感染魚から供試魚に伝播するまでの期間を考慮して、実験開始初日から感染供試魚発生までの時間遅れを  $\tau$  としてモデルに取り入れた。

日遅らせてモデルの数値計算を開始してパラメタ  $a$ 、 $\beta$  の推定し、モデル選択の基準として赤池情報量基準 (AIC) を求め、AIC が最小となる  $\tau$  を最適な時間遅れ日数として選択した。

表 59 実験実施日と実施期間

実施機関	長野県	山梨県	東京都	埼玉県	栃木県	北海道大学
1997 - 1998						
実験開始日	12月11日	12月9日	12月3日	12月5日	12月3日	12月3日
実験終了日	1月16日 - 1月30日	1月27日	1月22日	1月26日	1月17日	1月15日 - 1月24日
実験期間	36 - 50	49	50	52	45	43 - 52
1999						
実験開始日	2月12日	2月15日	3月29日	2月18日	2月15日	3月4日
実験終了日	4月5日	4月5日	5月31日	3月18日	3月4日 - 3月25日	4月7日
実験期間	52	49	63	28	17 - 38	34
2000						
実験開始日	2月18日	2月19日		2月23日		
実験終了日	3月16日	3月16日 - 3月27日		3月19日 - 3月22日		
実験期間	27	26 - 37		25 - 28		

表 60 IHN 感染実験の供試尾数と実験区分

実施年	初期条件		実験水槽数					
	未感染魚数 ( $S_0$ )	感染魚数 ( $I_0$ )	長野県	山梨県	東京都	埼玉県	栃木県	北海道大学
1997 - 1998	500	50	2 (1)*					2 (1)
	500	25	2 (1)	2 (1)	2 (1)	2 (1)	2 (1)	2 (1)
	500	10				2 (1)		
	500	5		1 (1)	2 (1)			
	500	1		1			1 (1)	
1998 - 1999	500	0	1 (1)	1 (1)	1	1	1 (1)	1 (1) 対照区
	500	5	3 (1)	3 (2)	3 (2)	3 (2)	3 (1)	2 (1)
	500	0	2 (1)	2 (1)	2 (1)	2 (1)	2 (2)	1 対照区
1999 - 2000	500	25	1	2 (1)		2 (1)		
	506	25	1 (1)					
	250	25		2 (1)		2 (1)		
	126	25	1 (1)					
	125	25	1					
	500	0	1 (1)	1 (1)		1		対照区

\*( )内は PCR 検査を実施した実験水槽数

表 61 IHN 感染実験におけるニジマスの死亡率

実施年	初期条件		未感染魚の死亡率					北海道 大学
	未感染魚数 (S <sub>0</sub> )	感染魚数 (I <sub>0</sub> )	長野県	山梨県	東京都	埼玉県**	栃木県	
1997 - 1998	500	50	0.806					0.956
			<i>0.710*</i>					<i>0.946</i>
	25	5	0.826	0.082	0.482		0.202	0.966
			<i>0.777</i>	<i>0.137</i>	<i>0.476</i>		<i>0.306</i>	<i>0.780</i>
1	1		0.029	0.534				
				0.498				
1999	500	5	0	0.008	0.010	0.224	0.180	
			0.010	<i>0.002</i>	<i>0.196</i>	<i>0.108</i>	<i>0.018</i>	
	<i>0.020</i>	<i>0.000</i>	<i>0.202</i>	<i>0.115</i>	<i>0.009</i>			
250	25						1.000	
							<i>0.780</i>	
2000	516	25	<i>0.996</i>					
	506		<i>0.991</i>					
	500			0.936		0.930		
				<i>0.973</i>		<i>0.919</i>		
	250			0.912		0.444		
				<i>0.925</i>		<i>0.386</i>		
126		<i>1.000</i>						
125		0.984						

\* イタリックは P C R 検査を実施した水槽の死亡率

\*\* 埼玉県の 1997 - 1998 のデータは得られなかった

## 結 果

### 感染実験：

対照区を除く 52 試験区のうち、IHN 感染によって供試魚が発病して死亡が確認されたのは 50 試験区であった。死亡割合（＝最終日までの供試魚死亡尾数 ÷ 実験開始日の供試魚数）では、1997-1998 年の長野と北海道大学の全ての試験区、1999 年の北海道の試験区、2000 年の長野、山梨、埼玉の全ての試験区の計 22 試験区で 0.70 以上となり、IHN の水槽内での流行が再現され(表 61) このうち 2 つの水槽、

1999 年北海道の累積死亡数調査区：供試魚 250 尾、人為感染魚 25 尾、

2000 年長野の感染割合調査区：供試魚 126 尾、人為感染魚 25 尾

の供試魚が IHN 感染により全て死亡した（ただし、は P C R 検査用サンプル 55 尾を除く）。また、死亡割合が 0.70 未満、0.20 以上は 12 試験区、0.20 未満が 16 試験区であった（表 61）。一方、供試魚の日間死亡尾数で

は最大 121 尾で（2000 年長野、累積死亡数調査区：供試魚 516 尾、人為感染魚 25 尾）、実験開始後 7 日目に観察された。流行が確認された試験区では最大日間死亡尾数が 16 尾以上となり実験開始後 7 日から 38 日まで観察された。実験期間中に死亡尾数が最大となった日を比較すると、1997 年 12 月から 98 年 1 月に実験では日間死亡尾数が最大 40 尾以上の水槽では実験開始後 13 日から 18 日であるのに対し、2000 年 2 月から 3 月の実験では開始後 7 日から 9 日となった。

感染割合調査区で実施した P C R 法による感染割合結果については、1997-1998 年の発病日の調査では推定感染割合（＝P C R 陽性供試魚数 ÷ サンプルングした供試魚尾数）は、0.018（山梨：供試魚 500 尾、人為感染魚 25 尾）から 0.200（北海道：供試魚 500 尾、人為感染魚 25 尾）、終息日の調査では 0 から 0.390 であった。1999 年の感染実験では発病日の感染割合は 0 ~ 0.036、死亡のピーク時および終息日では 0 から 0.018 であった。2000 年の実験ではデータが得られなかった。

パラメータ推定結果：

10 試験区のうち S I R モデルと適合したのは、1997-1998 年北海道 1 試験区（供試魚 500 尾 - 感染魚 50 尾、図 36）、1999 年長野の 2 試験区（供試魚 516 尾 - 感染魚 25 尾および供試魚 125 尾 - 感染魚 25 尾の試験区、図 38）であった。パラメータ推定値では 1997-1998 年北海道 1 試験区と 1999 年長野の 2 試験区の推定値はそれぞれ 0.003、0.0057、0.027 であり、推定値はそれぞれ 0.127、0.331、0.187 となりパラメータ推定値に差異が見られた（表 62）。北海道の 1997-1998 年 1 試験区（供試魚 500 尾 - 感染魚 25 尾、図 36）および 1999 年 1 試験区（供試魚 250 尾 - 感染魚 25 尾、図 37）では最終日の大量死亡を除いて S I R モデルは観察値と適合しており、はそれぞれ 0.0024 と 0.0031、はそれぞれ 0.145 と 0.156 となり先の 1997-98 年北海道 1 試験区（供試魚 500 尾 - 感染魚 50 尾）の推定結果と近い値となった（表 62）。

2000 年山梨の 2 試験区および埼玉の 1 試験区では S I R モデルの死亡推定尾数は観察値と適合し（図 38）の推定値も山梨の 2 試験区（供試魚 500 尾 - 感染魚 25 尾と供試魚 250 尾 - 感染魚 25 尾の試験区）、埼玉 1 試験区（供試魚 500 尾 - 感染魚 25 尾）でそれぞれ 0.124、0.123、0.131、となり北海道の 3 試験区とも近い値となったが、はそれぞれ 0.077、0.52、0.0065 となり推定結果の差異が大きかった（表 62）。1997-98 年の長野の 2 試験区（供試魚 500 尾 - 感染魚 50 尾の試験区および供試魚 500 尾 - 感染魚 25 尾試験区）では、I H N 流行初期の死亡観察尾数と S I R モデルの推定尾数が適合せず（図 36）、はそれぞれ 0.0024、0.52、は 0.05、0.33 となりパラメータ値に差異が大きかった（表 62）。

I H N が発症し死亡するまでの時間遅れ（ $\tau$ ）については 2 日から 8 日と推定されたが（表 62）、一定の傾向は見られなかった。

表 62 感染実験から得られたパラメータ推定値

実施年	初期条件		実施機関	死亡率	パラメータ推定値			AIC
	未感染魚数 ( $S_0$ )	感染魚数 ( $I_0$ )						
1997 - 1998	500	50	長野県	0.806	0.0389842	0.050	4	477.31
			北海道大学	0.956	0.0029908	0.127	7	384.67
	25	長野県	0.826	0.0135922	0.0568	4	483.56	
		北海道大学	0.966	0.0023999	0.145	4	378.31	
1999	250	25	北海道大学	1.000	0.0032	0.156	8	210.63
2000	516	25	長野県	0.996	0.0056749	0.331	2	184.98
	500		山梨県	0.936	0.076825	0.124	5	253.29
			埼玉県	0.930	0.0064832	0.131	3	220.86
	250		山梨県	0.921	0.5226619	0.123	6	179.63
	125		長野県	0.984	0.026682	0.187	3	121.03

### 考 察

S I R モデルは伝染病の初期の流行を数量的に示す基本モデルとして水産生物の伝染病の解析に用いられている（Reno, 1998）。しかし、I H N 同居感染実験データに対する S I R モデルの 2 つのパラメータ と の推定値は 10 試験区間で大きな差異が見られた。研究機関ごとで比較しても北海道の 3 試験区（1997-1998 年の 2 試験区および 1999 年の試験区）ではパラメータ値に近い推定結果となっているものの長野、山梨などでは同一の飼育条件にもかかわらず試験区水槽間でパラメータ推定値は大きくばらついた。特に、1997-1998 年の長野の 2 試験区におい

てはモデルにも適合しなかった。以上のことから、水槽内の I H N の流行、伝播では S I R モデルで仮定される以外の何らかのメカニズムが含まれていると予想される。S I R モデル以外の可能性は今回ほどパラメータ間のばらつきは大きくなかったが、I P N の伝播に関する数理モデルの解析結果からもすでに指摘されている（Smith *et al.*, 2000）。

S I R モデルと派生したタイプのモデルは、感染個体の増加は未感染個体数と感染個体数の積に比例した関係を想定している。養殖場など水槽内では、高密度で飼

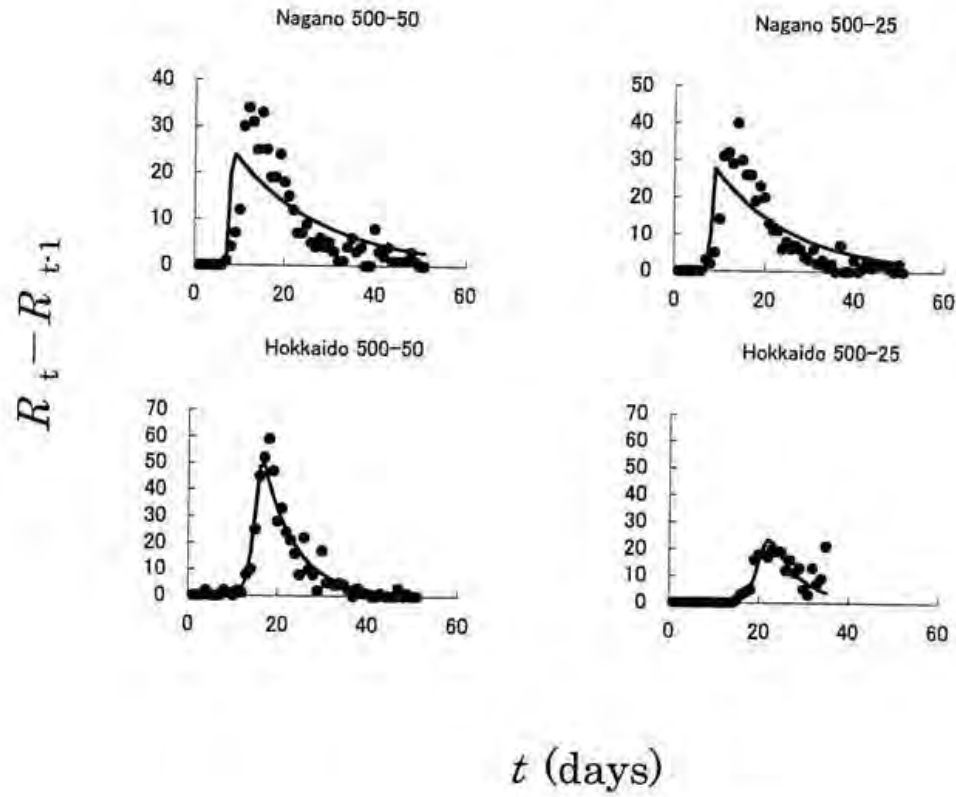


図 36 IHN感染実験による日間死亡数(黒丸)とシミュレーションによる理論値(実線)(1997-1998)

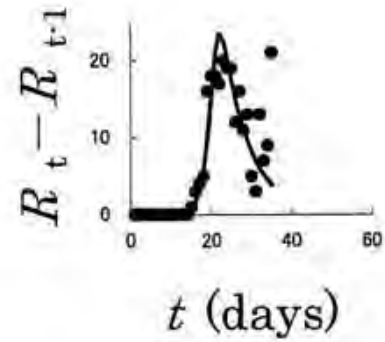


図 37 IHN感染実験による日間死亡数(黒丸)とシミュレーションによる理論値(実線)(1999)

$R_t - R_{t-1}$

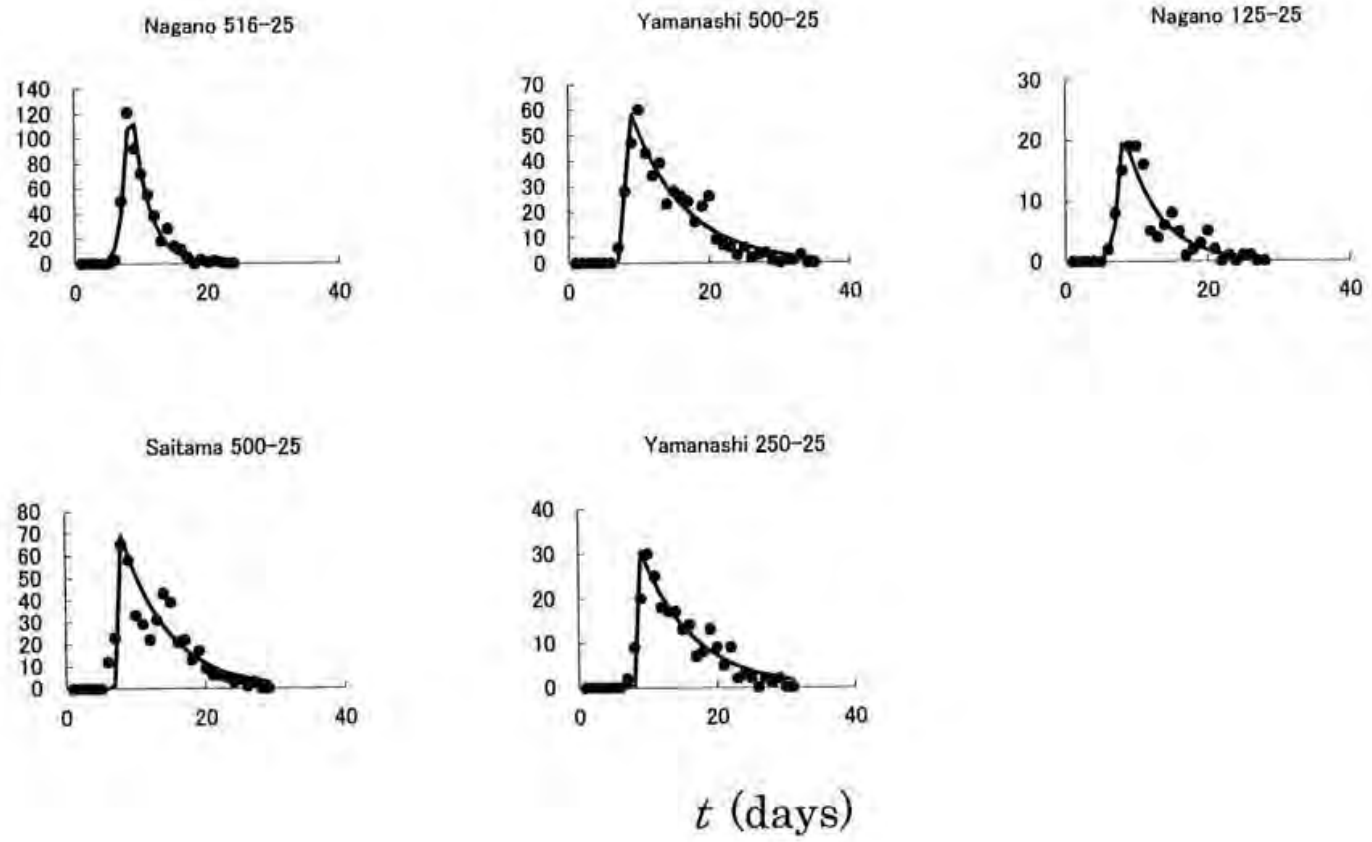


図 38 IHN 感染実験による日間死亡数 (黒丸) とシミュレーションによる理論値 (実線) (2000)

されているためSIRモデルで想定している以上の感染力が生じるものと考えられる。たとえば、水槽内の換水状況は自然水域とは異なり、滞留時間は長く、換水率は小さいため、病死魚から排出されたウイルスは自然水域では無視できるほどの量であっても、水槽内では魚と接触する確率は高くなり感染機会は多くなることが考えられる。このように水槽内での流行にはさまざまな要因が可能性として想定できるが、十分な確証は得られておらず詳細な研究が望まれる。

IHN同居感染実験をのべ52の水槽で実施したところ、試験水槽内でIHNの十分な流行が観察されたのは22試験区であった。IPN感染実験(Smith *et al.*, 2000)ではほとんどの感染実験水槽で流行が成立したとされているが、今回のIHN感染実験では同一ウイルスで同一ロットのニジマス稚魚を使用し、水槽容量および注水量などは各機関で同一に設定したにもかかわらず、感染や流行にばらつきがみられた。各実施機関の水温は自然水温であるが、IHNの発病に影響を与えるものではない

ことから、同居させた病原魚の尾数、同居期間の違い、すなわち感染強度の関与が考えられる。このことは、人為感染魚/供試魚の割合が1/5から1/10の試験区では死亡割合はすべて0.70以上を示したのに対し、1/20から1/100では0から0.966まで混在し、1/500では0.01以下(表61)であることから推定できる。

伝染病のリスク評価は多くの防疫対策の基礎となり得る。SIRモデルを基本とする解析ではパラメタ推定値から感染個体の基本再生産数( $R_0$ )を推定し、流行が成立しない条件( $R_0 < 1$ )となるように防疫対策を実施する(Anderson and May, 1992)。すなわち、論理的に適切なモデルを構築することで将来起こりうる全ての流行パターンを予測し、実際の被害が生じる前に数値シミュレーションにより効果的な防疫策を検討することが可能となる。今後は養殖場で生じる伝染病の被害についても適切なモデルに検討し、リスク回避方策の指針となる解析を実施していく必要がある。



## 小 括

1. 長野県水産試験場内に毎秒 30 の用水を処理できる外照式 UV 照射装置を設置した。用水は上流にある 5 養魚場で発生する IHN ははじめとする魚病病原体が流入しているが、未処理水飼育群と比較し、IHN、ピブリオ病、せつそう病の発病を抑えることができた。
2. 防疫対策のモデル施設として長野県水産試験場が建設した隔離飼育施設を例示した。当該施設は発眼卵消毒、ウイルス非汚染用水の使用、日常作業時の衛生管理の徹底等防疫対策を実施することにより、事業規模での種苗生産に有効であることが明らかになった。
3. 防疫対策を実施している二つの民間養魚場の実態を調査した。アマゴ生産施設は、3カ所に分散している養魚施設全体を防疫対象とし、これまで IPN が一度、細菌性鰓病が二度発生したのみでほぼ完全に他からの魚病の侵入を防止した。ニジマスの種苗生産施設は、発眼卵から約 5 g 未満の稚魚までを防疫対象とした。魚病の発生はあるものの、隣接水槽への伝染を防ぎ、被害は最小限に抑えることができ歩留まりは向上した。両施設とも対策を実施することで必要な種苗の確保が可能となっている。また、両養魚場で日常使用する消毒剤の使用量を調査し、サラン粉および次亜塩素酸ソーダの塩素系消毒剤や、逆性石けん液、エチルアルコールが使用されていることが明らかになった。
4. サケ・マス類の種苗生産施設における魚病防疫に必要な対策を示した。
5. 伝染病のリスク評価を行うため、感染率や死亡率のデータを得る目的で、ニジマス稚魚に対し 6 研究機関で 3 年間にわたりのべ 52 回の同居法による感染実験を行ったところ、実験水槽内で死亡率が 70% を越えた流行が観察されたのは 22 試験で、20% 以上 70% 未満が 12 試験区、20% 未満が 18 試験区となった。
6. 十分な流行が観察された 10 試験区のデータを用いてパラメタ（感染率）、（死亡率）を推定したところ、SIR モデルと適合したのは 3 試験区であった。
7. 各実施機関では実験条件を可能な限り統一して行ったが、SIR モデルのパラメタの推定値は 10 試験区間あるいは同一機関の実験水槽間で大きな差が見られたことから、実験水槽内の IHN の流行、伝播には SIR モデルで仮定される以外の要因があるものと予想された。

## 総 括

IHNはサケ科魚類の仔・稚魚期に大きな被害をもたらす疾病である。わが国では木村ら(1975)により1971年に北海道のベニザケ、ヒメマスに確認されたが、産業被害として問題となったのは1974年以降、本州中部地方のニジマス養殖主産地に発生してからである(Sano *et al.*, 1977)。

長野県におけるIHNは1974年1月初旬に民間養魚場のニジマス稚魚に発病した事例が最初であるが、短期間のうちに県下各地に伝染し、ニジマス養殖業界がかつて経験したことがない大きな被害を与えた。業界では必要な種苗の確保のため、十分な防疫対策がなされないまま県外からの種苗導入が増加し、IHN汚染地区の拡大とともに県内未発生魚病の侵入が懸念された。このため、種苗の安定供給と魚病の伝播防止のための技術開発が急務となった。

本研究では、長野県のニジマスを中心とした養殖サケ科魚類の種苗の安定生産とIHNの伝播防止のため、防疫対策を中心に養殖場に普及できる技術の開発を検討した。

第一章では、まず、1974年の初発生から3年間の全発生事例を精査するとともに本病の確定診断を行った。北海道大学水産学部に依頼した中和試験の結果、本病はIHNと確定診断され、ウイルス感染価は105.8~106.3 TCID<sub>50</sub>/mであった。また、東京水産大学で実施した定性的中和試験の結果でもIHNと診断された。

1974~1994年の21年間にわたるIHNの診断事例を調べ、被害の実態、発病の傾向、症状の分類および疫学調査から推定される伝染経路を明らかにした。IHNによる被害は大きく、特にニジマス稚魚は初発生から2年目には県内の年間必要量の40%に相当する2,100万余尾が死亡した。被害は種苗期に集中しており、特に1g未満魚に発病した場合には平均死亡率が77.2%に達した。しかし、防疫対策が迅速に行われたことから、3年目の被害量は950万尾と半減した。

初発生から21年間の発病の傾向は、発病件数の変化として1976年のピークから5年周期で3回のピークがあり周期性が認められたが、その後増減を繰り返しており一定の傾向は見られない。IPNでは親の成熟期間と同じ3・4年の周期で発病のピークが現れ、親から子への垂直感染が考えられた(山崎, 1990)が、IHNでは、周期的にピークが現れた原因は明らかにできなかった。I

HNの発病は当初11~2月の種苗生産期に限られていたが、種苗生産が周年行われるようになったこと、大型魚での発病事例が増加したことから発病は周年にわたり観察される状況になった。この変化はウイルス病原性の变化、魚の感受性の变化などの要因が考えられる。

IHN病魚の症状について、248件の診断事例を整理したところ、出現頻度の高い症状として、鰓の退色と点状・線状出血、肝・腎臓の退色、筋肉の線状・V字状出血等がみられた。種苗生産施設でのIHNの伝染力の強さ、高い死亡率は隣接池や地域への影響を考えると、殺処分や池の消毒が必要となり、診断も迅速さが求められる。養魚場では、これらの症状の確認によって推定診断は可能と考えられた。

疫学調査では初発生年の汚染源の特定はできなかったが、種卵種苗の輸送に伴いIHNが伝染することが明らかになった。その一方で、発眼卵のPVP-ヨード消毒、IHNウイルス非汚染水の使用、管理者の専任および日常の管理における消毒等の衛生管理により、ウイルスの侵入を防ぐことでIHNの発病は抑えることができた。

第二章では、IHNと環境要因について検討し、まず水温と発病の関係を長野県の診断事例から解析した。IHNは水温4.0~20.0の範囲で発病したが、10以上14未満での発病が全体の75.6%を占めた。この水温帯はIHNの発病適温であるとともに、長野県の養鱈業の中心である松本市周辺地域の湧水地帯で、33ヶ所のニジマス養魚場が11~12の湧水を利用しており、その用水の多くがIHNウイルスに汚染されているため、この地区での発病事例が多くなったことも一因と考えられた。また、河川水利用の養魚場では4~20の範囲で発病がみられ、冬期の極低温期を除きIHNの汚染が季節的にも拡大していることが示された。

次に、県内の中堅ニジマス養魚場について、飼育管理の実態と魚病の発生について調査したところ、導入したIHNフリー種苗はすべて稚魚期にIHNに罹病し、死亡率は10~30%の範囲であった。また、20~100gの養成魚を中心に、選別作業やピブリオ病などIHN以外の魚病の発生および治療薬の投与状況を調べ、IHN発病との関係を検討した。IHNはこの1年間に4回発病し、いずれも発病前にピブリオ病又は(仮)非寄生性鰓病に罹病していることが判明した。ピブリオ病治療のためにサ

ルファ剤投与が行われたが、この直後にIHNVが顕著に現れる事例も観察された。さらに、養成魚は高密度飼育が常態化していること、ピブリオ病の発病も多くその発病中でも選別作業が行われるなど、飼育環境の悪化や作業がストレスとなり、生体防御機能が低下し、IHNV等が発病するものと推論した。

次に、飼育密度とIHNVの発病の関係について、ニジマス稚魚を用いて実験した。飼育密度を4段階とし、IHNVウイルス汚染水を用いて飼育したところ、全群でIHNVと細菌性鰓病が発生し、高密度になるにしたがい成長は劣り、歩留まりも低下した。

以上の結果から、IHNVに対しても飼育環境を良好に保ち、魚に与えるストレスを少なくすることが成長や歩留まり向上に必要であると考えられた。

第三章では、IHNVの伝播に関する検討として、感染源や感染経路対策を実施するために必要な、IHNVウイルスの動向に関する調査および実験を行った。まず、IHNVウイルス汚染用水と非汚染用水を用いて、発眼卵のふ化飼育を行った。供試した発眼卵は、PVPヨード剤の消毒済みおよび消毒未済みのものを用いたところ、汚染水区ではすべて発病し、非汚染水区では発病はなかった。用水のウイルス汚染は有力な感染源となることが明らかになった。非汚染用水では未消毒卵であっても発病がなかったが、これは卵に付着していたウイルスがふ化までの間に洗い流されたものと考えられた。

次に、稚魚期にIHNVを耐過した0、1、2年魚および親魚についてウイルス保有状況を調査したところ、ウイルスが分離されたのは発病中の病稚魚を除くと産卵期親魚のみで、その他の生存魚からは分離できなかった。したがって、発病中の病魚がいなくても、産卵期の親魚が飼育されている用水はIHNVウイルス汚染用水とみなし、ふ化飼育用水として利用することは避けなければならない。なお、産卵期親魚のうち、精液に比べ雌の体腔液からのIHNVウイルス検出率が高いことから、検査対象として雌親魚を利用するのが望ましい。また、親魚の体腔液、精液からIHNVウイルスが分離された個体であってもそれから得られた未受精卵、受精卵、発眼卵およびふ化仔魚にウイルスは検出されず、ふ化後3ヶ月間の飼育期間中にIHNVの発病はなかった。これらに関して吉水ら(1988)は、強制的にウイルスを接種した受精卵では1~5週までにウイルスは検出されなくなり、卵内はウイルスの増殖できる環境にないこと、発眼卵にウイルスを接種した場合には卵は死亡することを明らかにしている。このことから、IHNVウイルス保有親魚から得られたウイルス汚染卵であっても汚染は卵表面に限られ、

たとえウイルスが卵内に侵入しても失活するものと考えられる。したがって、発眼期に死卵を取り除き、卵表面を消毒することでIHNVフリーの卵が得られると考えられた。

稚魚に対する感染実験として、ウイルス量を変え、また同じウイルス量でニジマスの大きさを変えて実施したところ、ウイルス量が $10^{1.3}$  TCID<sub>50</sub>/m以下では稚魚に発病を起こすことはできず、ウイルス量が多くなるにしたがい発病までの日数が短く、発病後の日間死亡率が高くなる傾向がみられた。 $10^{1.8}$  TCID<sub>50</sub>/mのウイルス量で体重0.12、0.95および2.1gのニジマスに感染させたところ、0.12gでは4週間後までに92%の死亡率であったのに対し、2.1gでは11%であった。第一章第一節の発病事例でも1g未満魚の死亡率は高いことが示され、第二章第二節の民間養魚場の稚魚、養成魚の事例からも、大型魚になると死亡率は低くなる傾向が明らかになっており、養魚場のほとんどの水系がIHNVウイルスに汚染されている現状では、被害を抑える手段として種苗生産池からIHNVウイルス汚染のある養成池に移動するサイズをできるだけ大型にすることが必要になっている。

第四章では、養殖現場で防疫対策を実施する際に必要なIHNVウイルスの性質や消毒薬の使用方法について検討した。

各種環境条件下におけるIHNVウイルスの生存性について調べ、高圧滅菌した飼育用水中では15週間後まで、乾燥状態に置かれたウイルスは6週間まで活性を保つこと、また、3月の晴天の太陽光下に置かれたウイルスは40分間で、加熱した場合は50~10分間、60~1分間で不活化することが明らかになった。養魚場では使用する器具・機材や池を天日乾燥させる例が多いが、乾燥だけでなく、十分日光に晒すことでIHNVウイルスの不活化に有効と考えられる。

市販されている消毒薬の塩化ベンザルコニウム、クレゾール石けん液、PVP-ヨード剤、次亜塩素酸ソーダはIHNVウイルスの不活化に有効であるが、有機物の存在下では消毒効果は低下することが明らかになった。また、低温下ではクレゾール石けん液の効果は著しく低下する(木村・吉水,1990)ことから、使用にあたって注意が必要である。次に、PVP-ヨード剤の卵消毒について検討し、発眼卵に対し有効ヨード濃度100ppm30分、50ppm15分2回反復でふ化率への影響はなく、IHNVウイルス不活化効果は十分あることから、汎用性のある消毒薬であることが示された。しかし、未受精卵、受精卵に対しては50ppm15分間消毒により発眼率はやや低下した。

UV照射によるIHNVウイルス不活化効果について検

討し、不活化には *A. salmonicida* と同程度の  $10^3 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$  であることが示された。また、外照式 15W UV 殺菌灯 1 灯で毎秒 1 の流水中のウイルスが不活化されることが実証された。

第五章では、これまでに得られた技術を実用化し、実際に利用している施設について効果を検討し、さらに新しい伝染病の侵入に備えたりリスク評価について検討した。まず、長野県水産試験場に設置した外照式 UV 照射装置は、毎秒 30 の IHN ウイルス汚染用水を 15W UV 灯 40 灯で処理しているが、IHN のほかピブリオ病、セツソウ病の発病を抑えることができ、目的は達成されている。外照式 UV 照射装置は内照式に比べ、比較的安価であることから、養殖現場ではふ化用水を確保するため、この装置の利用者が増加している。

次に、長野県水産試験場に設置した防疫モデルとしての隔離飼育施設の概要と飼育成績、魚病の発生状況を調査した。防疫対策として発眼卵の PVP-ヨード剤消毒、IHN ウイルスフリー用水の利用、日常作業時の消毒など衛生管理の徹底を図る等防疫対策を実施することにより事業規模での種苗生産に有効であることが明らかになった。

さらに、防疫対策を実施している民間養魚場について、施設の概要と設置効果を発眼卵から稚魚までの歩留まりおよび魚病の発生状況から検討した。アマゴ生産施設は、養魚施設全体を防疫対象としており、1974 年の施設設置以来 IPN および細菌性鰓病がそれぞれ一および二度発生したのみで、ほぼ完全に魚病の侵入を防いでいる。発眼卵から 2 g 稚魚までの歩留まりは平均 68% で、現在の技術レベルでは特に良好ではないが、その後の死亡率は低く経営的に問題はない。ニジマス種苗生産施設は発眼卵から 20 g サイズまでを飼育し、発眼卵からの歩留まりは 56% であるが、防疫の対象としている 5 g サイズまでの歩留まりは 80% 以上である。この施設では毎年一部に IHN、IPN、細菌性鰓病などが発病するが、隣接池への伝染を防ぎ被害を最小限に抑えている。当施設設置以前の IHN ウイルス汚染水使用時での 2 g サイズまでの歩留まり 35~40% に比べ向上した。両養魚場で日常使用される消毒薬は、サラシ粉、次亜塩素酸ソーダ、逆性石けん液およびエチルアルコールであった。

最後に、魚類伝染病のリスク評価のための基礎資料を得る目的で、養魚場での IHN の発病を想定した感染実験を行い、SIR モデルにより水槽内での IHN の伝播の特徴を明らかにした。感染実験によるシミュレーションは 6 研究機関で 3 年間にのべ 52 回、病魚の同居法による感染実験を行った。水槽内で十分な流行が観察された

10 試験区のデータを用いて、パラメタ（感染率）、（死亡率）を推定したところ SIR モデルと適合したのは 3 試験区のみであった。供試魚、実験水槽、人為感染病魚など実験条件を統一したにもかかわらずパラメタ推定値のばらつきが大きかったことは、SIR モデルで仮定される以外の要因の存在が予想される。

これまでわが国では魚病のリスク評価に関する報告はなく、今回の実験でも十分な成果は得られなかったが、新たに侵入が懸念される伝染病対策として、特に日本の養殖実態に合った評価をしておく必要があると考える。

以上、本研究で得られた成果から IHN の防除対策を実施し、サケ科魚類の安定した種苗生産と被害の軽減を行うためには、次の事項を遵守することが必要である。

1. PVP-ヨード剤による発眼卵消毒を実施する。
2. ふ化用水として IHN 非汚染水を用いる。
3. ふ化飼育管理者は専任とし、ウイルス汚染の疑われる成魚、親魚の管理を同じに行わない。
4. 日常の管理に使用する器具・機材は作業ごとに適当な消毒薬で消毒して用いる。
5. ふ化飼育池では用水の再使用をせず、掃除用具等は各池に備え、1 池で発病しても他への伝染を防ぐ。
6. IHN ウイルスを媒介する恐れのある鳥獣の侵入を防止する。
7. 飼育環境を良好に保ち、魚にストレスを与えないように管理する。

これまで我が国の養殖サケ科魚類に大きな被害を与えたウイルス病は IPN と IHN である。IPN の防除対策について山崎(1990)は垂直伝播経路の遮断、ヨード剤による卵消毒、隔離飼育と非汚染水の使用、飼育環境の改善および死亡魚の除去などの飼育管理の徹底を提案した。本研究で指摘した IHN の対策は多くの点で IPN で実施した手法を取り入れているが、防疫対策を考える際に基本となるウイルスの性質、さらにそれを実施する過程で必要な技術や情報量に相違点がみられた。両ウイルスは北米からサケ・マス卵とともに侵入したと考えられており、防疫対策実施に至る過程を比較検討しておくことは、今後国内未発生魚病の対策を考える上で有効と思われる。

ウイルスの性質に関して、IPN ウイルスは熱、紫外線、一部の消毒薬に対して IHN ウイルスよりも耐性であること、ウイルス粒子は卵内に入り子に経卵感染を引き起こすことが知られている。IHN ウイルスは PVP-ヨード剤の消毒によってウイルスフリーの発眼卵が得られ、その後の管理を適切に実施すること

で発病を防止することが可能であり、紫外線を利用した用水の消毒など防疫対策がとりやすい点があった。次に、診断や防疫対策の実施過程での違いについて、I P Nは1960年代にわが国に侵入したものと推定されているが、経緯が不明でありウイルス病の診断技術も確立していなかったことから、不明病と呼称される時代が約10年間続いたことである。当時魚病防疫に対する意識は低く、外国からの種苗導入に伴う魚病の侵入に関する情報も少なく無防備な状況であった。そして不明病がI P Nと確認されたのは、発病からほぼ10年経過した1970年(Sano,1971)であった。一方、I H Nは我が国に初発生以前から国外の報告により概要が把握されており、ウイルス検査手法も確立していたことから、ニジマスでは1974年1月の発病後1ヶ月以内にI H Nと診断することができた。また、全国河川湖沼養殖研究会養鱒部会の魚病分科会が中心となり、1974年6月には 感染経路について、 情報伝達のシステム化、 診断技法と検査体制、 防疫対策等基本的な対策が検討された(山崎・原,1976)。さらに、必要な実験は同部会の連絡試験として参加各県水産試験場で実

施され、成果はただちに養殖現場に応用できたことは初期の対策として有効であった。特にP V P-ヨード剤による卵消毒法を普及させたことは、防疫対策上の効果とともに、その後の防疫意識の高揚に大きな意味があった。このような防疫対策技術の開発と普及は、実際の生産に関わる重要な課題であるが、これらの実施に必要なウイルス分離技術等の手法および情報も極めてじゅうようであった。

現在、サケ・マス類の種苗生産は防疫対策を施した施設で行っている一方、I H Nウイルス汚染がここまで拡大してしまい、一水系にいくつもの養魚場が隣接している現状では、I H Nに対しこれら水系、地域からI H Nを除去することは現実的でなくなっている。また、I H Nの大型魚での発生事例もあり、I H Nウイルスフリー稚魚といえどもI H Nウイルスに汚染された一般飼育池への移動後の発病が大きな課題となっている。今後は、ワクチンによる免疫機能あるいは本来持っている抗病性機能を高める方策等を考える必要がある。

## 謝 辞

本研究ならびに本論文の作成には、多くの方々のお力添えを頂いた。ここに記して感謝の意を表します。

本論文の計画段階から、終始懇切なご指導・ご助言とご校閲をいただくとともに、IHNの防疫対策の実施ならびに実験にあたり、毎年長野県での適切なお指導と惜しみない新技術のご提供を賜りました北海道大学大学院水産科学研究科教授・吉水 守博士に深甚なる謝意を表します。また、懇切なご指導・ご助言とご校閲を賜りました北海道大学大学院水産科学研究科教授・田島研一博士、同助教授・西澤豊彦博士および澤辺智雄博士に深甚なる謝意を表します。IHNの発病初期から防疫対策全般についてご指導と有益なご助言をいただくとともに、本研究の取りまとめの機会を与えていただきました北海道大学名誉教授・木村喬久博士に衷心より感謝いたします。

また、本研究の取りまとめにあたり、10年余の間、ご鞭撻を頂き、数々のご助言・ご指導ならびに原稿のご校閲を賜りました社団法人日本水産資源保護協会総括参与・原 武史博士に心から感謝いたします。本論文の作成にあたり、論文構成・取りまとめ方についてご指導を頂いた東京海洋大学副学長・岡本信明博士、文献収集と原稿の校閲・取りまとめをご助言いただいた独立行政法人水産総合研究センター本部総合企画室次長・井上 潔博士、文献の収集に多大な労力を賜りました岐阜県淡水魚研究所専門研究員・中居 裕氏に厚くお礼申し上げます。

さらに、本研究を実施するにあたり、貴重なデータのご提供と細部にわたる調査にもかかわらず、快くご協力

頂きました栃城養殖漁業生産組合理事長・木下藤恒氏、株式会社辰巳代表取締役・高原正雄氏、同社取締役・高原 要氏、宇井養鱒場社長・故宇井進氏に衷心よりお礼申し上げます。本研究の機会を与えられ、多くのご便宜をはかっていただきました長野県水産試験場歴代の場長の皆様、特に本県のIHN対策の旗手として尽力され、本論文取りまとめに貴重な助言を頂きました山崎隆義博士、ウイルス研究の手ほどきをしていただき、技術開発の中心となって研究を進められました佐々木治雄元場長、大学院入学や取りまとめに励ましをいただいた古川賢男場長に心から感謝いたします。また、共同研究の成果の利用を快諾いただきましたプロメガ(株)の吉仲桃子博士、(社)京都微生物研究所の羽鳥秀一氏、東京海洋大学教授・渡邊精一博士、同助手・横田賢史博士、栃木県水産試験場・宇賀神光男氏、埼玉県農林総合研究センター水産研究所・鈴木 栄氏、同鈴木邦夫氏、東京都水産試験場奥多摩分場・河西和彦氏、山梨県魚苗センター忍野支所(現在鹿児島大学水産学部教授)山本淳博士、長野県水産試験場・小原昌和氏、降幡 充氏、同佐久支場長・薄井孝彦氏に感謝の意を表します。長期間にわたる調査、実験にご協力いただいた多くの職員の方々、さらに、作図、作表にご協力いただきました澤本良宏、熊川真二の両氏に、ここに記して感謝いたします。

終わりに、学生時代から今日にいたるまでご指導を賜り、ニジマス研究の端緒を開いていただきました 恩師東京水産大学名誉教授・野村 稔博士、養殖現場の厳しさと楽しさを、身をもってお教えいただいた元埼玉県水産試験場長・大渡 斉氏に心からお礼申し上げます。

## 引用文献

1. Amend, D.F., W.T. Yasutake and R.W. Mead (1969): A hematopoietic virus disease of rainbow trout and sockeye salmon. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **98**, 796-804.
2. Amend, D.F. (1970): Control of infectious hematopoietic necrosis virus disease by elevating the water temperature. *J. Fish Res. Board Can.*, **27**, 265-270.
3. Amend, D.F. and V.C. Chambers (1970): Morphology of certain viruses of salmonid fishes. In vitro studies of some viruses causing hematopoietic necrosis. *J. Fish. Res. Board Can.*, **27**, 1385-1388.
4. Amend, D.F., W.T. Yasutake, J.L. Fryer, K.S. Pilcher and W.H. Wingfield (1973): Infectious hematopoietic necrosis (IHN). pp.80-87 in W.A. Dill (ed.) "Symposium on the major communicable fish diseases in Europe and their control", FAO, EIFAC Tech. Pap. No.17, Suppl.2.
5. Amend, D.F. (1975): Detection and transmission of infectious hematopoietic necrosis virus in rainbow trout. *J. Wildl. Dis.*, **11**, 471-478.
6. Anderson, R.M., May, R.M. (1992): Infectious Disease of Humans; Dynamics and Control. Oxford University Press, Oxford.
7. Beker, C.D. and M.P. Fujihara (1978): The bacterial pathogen *Flexibacter columnaris* and its epidemiology among Columbia River fish. *Amer. Fish. Soc.*, Monograph No.2, 92pp.
8. Bullock, G.L., and H.M. Stucky (1977): Ultraviolet treatment of water for destruction of five gram negative bacteria pathogenic to fishes. *J. Fish. Res. Board Can.*, **34**, 1244-1249.
9. Chiou, P.P., B.S. Drolet and J.C. Leong (1995): Polymerase chain amplification of infectious hematopoietic necrosis virus RNA extracted from fixed and embedded fish tissue. *J. Aquat. Anim. Health*, **7**, 9-15.
10. Drolet, B.S., P.P. Chiou, J. Heidel and J.C. Leong (1995): Detection of truncated virus particles in a persistent RNA virus infection in vivo. *J. Virol.*, **69**, 2140-2147.
11. 岐阜県 (1976): IHN に関する報告ならびに研究発表: 第 32 回養鱒部会要録, 岩手県.
12. Grischkowsky, R.S., and D.F. Amend (1976): Infectious hematopoietic necrosis virus; Prevalence in certain Alaskan sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*. *J. Fish. Res. Board Can.*, **33**, 186-188.
13. Guenther, R.W., S.W. Watson and R.R. Rucker (1959): Etiology of sockeye salmon "virus" disease. *U.S. Fish, Wildl. Serv., Spec. Sci. Rep.*, **296**, 10.
14. 漁業の動向に関する年次報告, 平成 2 年度 (1991).
15. 花田博, 平野正義, 佐野宜八郎, 植松久男, 稲葉繁雄, 渡辺佳一郎 (1978): 静岡県に発生した伝染性造血器壊死症 (IHN) について. 静岡県富士養鱒場研究報告, **2**, 59-84.
16. 井上潔, 池谷文夫, 山崎隆義, 原武史 (1990): I P N ウイルスに対する市販消毒剤の殺ウイルス効果. 魚病研究, **25**, 81-86.
17. 木村喬久 (1975): 魚類, 甲殻類の病原微生物, (2) ウイルス, P.79-111, 日本水産学会編, 水産学シリーズ (10), 恒星社厚生閣, 東京.
18. Kimura, T. and T. Awakura (1977): Proceedings from "The international symposium on diseases of cultured salmonids". Tavolek Inc., Seattle, 124.
19. 木村喬久・吉水守 (1979): シロサケ (*Oncorhynchus keta*) 採卵親魚の魚類病原ウイルス保有状況について, 1978 年度農林水産技術会議サケ別枠研究「河川型研究グループ」レポート, pp.139-143, 北海道区水産研究所.
20. 木村喬久, 吉水守, 田中真, 野村哲一 (1980): 遼上サケ科魚類採卵親魚の魚類病原ウイルスならびにせっそう病原菌の保有状況について, 1979 年度農林水産技術会議サケ別枠研究「河川型研究グループ」レポート, pp.115-119, 北海道区水産研究所.
21. 木村喬久, 吉水守, 田中真, 鈴木聡, 野村哲一 (1981): 遼上サケ科魚類採卵親魚の魚類病原ウイルス, 特に OMV, CSV および VEN ウイルスの保有状況ならびにせっそう病原菌の保有状況. 1980 年度農林水産技術会議サケ別枠研究「河川型研究グループ」レポート.

- ト,145-151,北海道区水産研究所。
22. 木村喬久,吉水守,田中真,鈴木聡,絵面良男,野村哲一(1982):北海道の主要河川における遡上サケ科魚類採卵親魚の魚類病原ウイルス(昭和51年~昭和56年)ならびにせつそう病原菌(昭和54年~昭和56年)の保有状況について.1981年度農林水産技術会議サケ別枠研究「河川型研究グループ」リポート,145-151,北海道区水産研究所。
  23. 木村喬久,吉水守,田島研一,絵面良男(1980):養魚用水の紫外線殺菌について.魚病原因ミズカビの紫外線(U.V.)感受性について.魚病研究,14,133-137.
  24. 木村喬久,吉水守(1990):魚類病原ウイルスに対する各種消毒剤の効果的使用法に関する研究.平成元年度魚防対策技術開発研究結果報告書.日本水産資源保護協会,第2分冊,29-48.
  25. Kuris,A M, and Lafferty K D(1991):Modeling crustacean fisheries;Effects of parasites on management strategies.*Canadian J. Fish. Aquat. Sci.*,49,327-336.
  26. Leong,J.C. and S.Turner(1979): Isolation of water born infectious hematopoietic necrosis virus. Fish Health News, 8: - .
  27. Lopez-lastra, M., M.Gonzalez, M.Jashes and A.M.Sandino (1994): A detection method for infectious pancreatic necrosis virus(IPNV) based on reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR). *J. Fish Dis.*,17,269-282.
  28. Lorenzen, K.,S.A.Des Clers and K.Anders(1991): Population dynamics of lymphocystis disease in estuarine flounder,*Platichthys flesus* (L.).*J. Fish bio.*,39,577-587.
  29. McCain,B.B.,J.L.Fryer and K.S.Pilcher(1971): Antigenic relationships in a group of the three viruses of salmonid fish by cross neutralization. *Proc. Soc. Exp. Biol.Med.*,137,1042-1046.
  30. 松田心一(1964):疫学と疾病予防,第一出版(株),東京.
  31. McAllister,P.E.,J.L.Fryer and K.S.Pilcher (1974):Further characterization of infectious hematopoietic necrosis virus of salmonid fish(Oregon strain). *Arch. Virusforsch.*,44,270-290.
  32. 森真朗,池谷文夫,小松俊夫,西村定一(1987): 従来より大型なニジマスのIHN発生例について.昭和62年度日本魚病学会大会講演要旨.
  33. 本西晃(1984)ニジマスの飼育管理,魚病対策の問題点と予防方策に関するワークショップ,魚病研究,18,224-225.
  34. Mulcahy,D. and K.Bauersfeld(1983):Effect of loading density of sockeye salmon,*Oncorhynchus nerka*(Walbaum),eggs in incubation boxes on mortality caused by infectious haematopoietic necrosis.*J. Fish Dis.*,6,189-193.
  35. Mulcahy,D. and R.J.Pascho(1984):Adosorption to fish sperm of vertically transmitted fish viruses. *Science*,225,333-335.
  36. Mulcahy,D. and R.J.Pascho(1985): Vertical transmission of infectious hematopoietic necrosis virus in sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*(Walbaum):isolation of virus from dead eggs and fry.*J. Fish Dis.*,8,393-396.
  37. Mulcahy,D.,R.J.Pascho, and C.K.Jenes(1983a): Detection of infectious hematopoietic necrosis virus in river water and demonstration of waterbone transmission. *J. Fish Dis.*,6,321-330.
  38. Mulcahy,D.,J.Burke,R.J.Pascho, and C.K.Jenes (1982):Pathogenesis of infectious hematopoietic necrosis virus in sockeye salmon(*Oncorhynchus nerka*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*,39,1144-1149.
  39. Mulcahy,D. and R.J.Pascho(1986):Sequential tests for infectious hematopoietic necrosis virus in individuals and populations of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*).*Can. J. Fish. Aquat. Sci.*,43,2515-2519.
  40. Mulcahy,D.,R.J.Pascho, and C.K.Jenes(1983b): Titre distribution patterns of infectious hematopoietic necrosis virus in ovarian fluids of hatchery and feral salmon populations.*J. Fish Dis.*,6,183-188.
  41. 長野県(1979):昭和52~53年度,組織的調査研究活動推進事業報告書.
  42. 第5次漁業センサス結果報告書(1974):長野県総務部統計課.
  43. 第7次漁業センサス結果報告書(1984):長野県総務部情報統計課.
  44. 第9次漁業センサス結果報告書(1984):長野県総務部情報統計課.
  45. 長野県水産史(1969):長野県漁業協同組合連合会.
  46. 長野県水産試験場(1978):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第3回全国養鱒技術協議会要録,福島県.



47. 長野県水産試験場(1979):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第4回全国養鱒技術協議会要録,群馬県.
48. 長野県水産試験場(1980):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第5回全国養鱒技術協議会要録,長野県.
49. 長野県水産試験場(1981):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第6回全国養鱒技術協議会要録,秋田県.
50. 長野県水産試験場(1982):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第7回全国養鱒技術協議会要録,岡山県.
51. 長野県水産試験場(1982):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第8回全国養鱒技術協議会要録,山梨県.
52. 長野県水産試験場(1984):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第9回全国養鱒技術協議会要録,宮城県.
53. 長野県水産試験場(1985):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第10回全国養鱒技術協議会要録,岐阜県.
54. 長野県水産試験場(1986):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第11回全国養鱒技術協議会要録,栃木県.
55. 長野県水産試験場(1987):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第12回全国養鱒技術協議会要録,岩手県.
56. 長野県水産試験場(1988):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第13回全国養鱒技術協議会要録,石川県.
57. 長野県水産試験場(1989):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第14回全国養鱒技術協議会要録,大分県.
58. 長野県水産試験場(1990):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第15回全国養鱒技術協議会要録,新潟県.
59. 長野県水産試験場(1991):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第16回全国養鱒技術協議会要録,三重県.
60. 長野県水産試験場(1992):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第17回全国養鱒技術協議会要録,兵庫県.
61. 長野県水産試験場(1993):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第18回全国養鱒技術協議会要録,埼玉県.
62. 長野県水産試験場(1994):ニジマス・在来マス類の疾病実態調査,第19回全国養鱒技術協議会要録,北海道.
63. 長野県水産指導所(1977):昭和51年度指定調査研究総合助成事業,病害研究報告書,ます類の病害研究班(長野県,東京都,静岡県,岐阜県,滋賀県).
64. 中居裕,小野淳,河西一彦,田原偉成,山本聡・水野正之(1993):養魚サケ科魚類大型魚のIHN発生例,平成5年度日本魚病学会大会講演要旨.
65. 農林水産省統計情報部(1999):平成9年,漁業・養殖業生産統計年報.
66. 農林水産省統計情報部(1979):水産業累年統計第2巻.
67. 農林省統計情報部(1978):水産業累年統計第3巻.
68. 野村稔(1982):飼育管理,pp.122-150,淡水養殖技術,野村稔編,新水産学全集16,恒星社厚生閣,東京.
69. 小河孝,衛藤真理子,畠山英夫(1993):輸入リスクアセスメントとその量的モデル.獣医情報科学雑誌35:5-13.
70. 大渡斉,山崎隆義(1976):適正収容量と飼育環境,pp.18-30,養鱒の研究,全国湖沼河川養殖研究会養鱒部会編,緑書房,東京.
71. 大渡斉(1982):ニジマス,pp.268-290,淡水養殖技術,野村稔編,新水産学全集16,恒星社厚生閣,東京.
72. Parisot,T.J.and J.Pelner(1962):An interim report on Sacramento River chinook disease of chonook salmon.*Prog.Fish-Cult.*,24,51-55.
73. Parisot,T.J., W.T.Yasutake, and G.W.Krontz(1965):Virus diseases of the salmonidae in western United States. 1. Etiology and epizootiology,*Ann. N. Y. Acad.Sci.*,126(art), 502-519.
74. Patterson K R(1996):Modelling the impact of disease-induced mortality in an exploited population:the outbreak of the fungal parasite *Ichthyophonus hoferi* in the North Sea herring (*Clupea harengus*).*Canadian J fish. Aquat. Sci.* 53,2870-2887.
75. Reno,P.W.(1998):Factors involved in the dissemination of disease in fish populations. *J. Aquat. Anim. Health*,10,160-171.
76. Pilcher,K.S. and J.L.Fryer(1980):CRC critical reviews in microbiology,7,287-364.
77. Ross,A.J.,J.Pelnar, and R.R.Rucker(1960):A virus-like disease of chinook salmon. *Trans.*

- Amer. Fish. Soc.*, **89**,160-163.
78. Rucker,R.R.,W.J.Whipple, J.R.Parvin,and C.A. Evans(1953):A contagious disease of salmon, possibly of virus origin. *U.S.Fish Wild. Serv. Fish. Bull.*, **54**,35-46.
  79. 埼玉県水産試験場(1988):水温によるニジマス IHN の制御について,第 13 回全国養鱒技術協議会,石川県.
  80. 佐野和生(1979):水産用水処理技術, pp.72-78,水産養殖と水,サイエンティスト社,東京.
  81. Sano,T.(1971):Studies on viral diseases of Japanese fishes - .Infectious pancreatic necrosis of rainbow trout:Pathogenicity of the isolants. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **37**,499-503.
  82. Sano,T.,T.Nisimura,N.Okamoto,T.Yamazaki, H.Hanada and Y.Watanabe(1977):Studies on viral diseases of Japanese fishes -VI.Infectious hematopoietic necrosis(IHN) of salmonids in the mainland of Japan. *J. Tokyo Univ. Fish.*, **63**,81-85.
  83. Scott,M.E.andR.M.Anderson(1984):The population dynamics of *Gyrodactylus bullatarudis* (Monogenea) within laboratory populations of the fish host *Poecilia reticulata*. *Parasitology*, **89**,159-194.
  84. Smith,G., J. Bebak and P.E. McAllister(2000): Experimental infectious pancreatic necrosis infections: propagative or point-source epidemic? *Preventive Veterinary Medicine*.**47**. 221-241.
  85. Snieszko,S.(1974):The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. *J. Fish. Biol.*, **6**,197-208.
  86. 田代文男,山崎隆義(1976):ニジマスのピブリオ病について.長野水試研報,魚病,15-23.
  87. Vlasenco,M.I.(1969):Ultraviolet rays as a method for the control of diseases of fish eggs and young fish.*Probl. Ichthyol.* **9**:697-705.
  88. 若林久嗣(1996):環境性疾病およびストレス,pp.109-120,魚病学概論,室賀清邦・江草周三編,恒星社厚生閣,東京.
  89. 渡邊精一(2003):海の集団生物学,p136-138,成山堂書店,東京.
  90. Watson,S.W.,R.W.Guenther, and R.R.Rucker(1954): A virus disease of sockeye salmon.*U. S. Fish Wildl. Serv. Spec. Sci. Rep. Fish.*, **138**,1-36.
  91. Wedemeyer,G.(1970):The role of stress in the disease resistance of fishes.30-35. in S.F.Snieszko(ed.)“A Symposium on Disease of Fishes and Shellfishes”.Spec.Publ.No.5. Am. Fish. Soc.,Washington D.C.
  92. Wedemeyer,G.,G.F.Meyer, and L.Smith(1976): Environmental stress and fish diseases, Snieszko ,S.F.and Axelrod,H.R.(ed.),“Diseases of Fishes” .Book 5.
  93. Wingfield,W.H.,J.L.Fryer, and K.S.Pilcher (1969) : Properties of the sockeye salmon virus (Oregon strain). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **130**,1055-1059.
  94. Wingfield,W.H., and L.D.Chan (1970): Studies on the Sacramento River Chinook disease and its causative agent. pp. 307-318, in S.F. Snieszko (ed.)“A symposium on diseases of fish and shellfishes”, Spec.Publ.No.5, Amer.Fish.Soc., Washington D.C.
  95. Winton,J.R.(1991):Recent advances in detection and control of infectious hematopoietic necrosis virus in aquaculture.*Ann. Rev. Fish. Dis.***1**:83-93.
  96. Wolf,K.,M.C.Quimby,L.L.Pettijohn and M.L. Landolt(1973):Fish viruses;isolation and identification of infectious hematopoietic necrosis in eastern North America.*J. Fish. Res. Board Can.*, **30**,1625-1627.
  97. Wolf,K.(1988): Infectious pancreatic necrosis, in “Fish Viruses and Fish Viral Diseases”, Comstock Publishing Associate, Cornell Univ. Press, London.pp.115-157.
  98. 山崎隆義,佐々木治雄,田代文男(1976):ニジマスの IPN について,長野水試研報,魚病,28-44.
  99. 山崎隆義・原武史(1976):伝染性造血器壊死症,pp.83-88,養鱒の研究,全国湖沼河川養殖研究会,養鱒部会編,緑書房,東京.
  100. 山崎隆義(1990):長野県におけるサケ科魚類の伝染性すい臓壊死症(IPN)の防除対策に関する研究(北海道大学学位論文).
  - 101.Yamazaki,T.,and A.Motonishi(1992):Proceedings of the OJI international symposium on “Salmonid Diseases”.pp.103-110,Hokkaido University Press, Sapporo,Japan.
  - 102.Yasutake,W.T.,T.J.Parisot and G.W.Klontz(1965):

- Virus disease of the salmonidae in western United States. 2. Aspects of pathogenesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 126(Prt. 1), 520-530.
103. Yoshimizu, M., T. Kimura and J. R. Winton (1985): An improved technique for collecting reproductive fluid samples from salmonid fishes. *Prog. Fish. Cult.*, **47**: 199-200.
104. 吉水守, 瀧澤宏子, 亀井勇統, 木村喬久 (1986a): 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**, 223-231.
105. 吉水守, 瀧澤宏子, 木村喬久 (1986b): 魚類病原ウイルスの紫外線感受性. 魚病研究, **21**, 47-52.
106. 吉水守, 佐見学, 木村喬久 (1988a): サクラマスおよびシロサケ受精卵中における IHN V の消長に関する研究. 日水誌, **54**, 2089-2097.
107. 吉水守, 野村哲一, 栗倉輝彦, 木村喬久 (1988b): 北日本におけるサケ科魚類採卵親魚の魚類病原ウイルス保有状況について -昭和 51 年 ~ 昭和 61 年- 北海道さけ・ますふ化場研究報告, **42**, 1-20.
108. 吉水守 (1989): 昭和 63 年度魚類防疫技術基盤確立事業, 疾病診断マニュアル (社) 日本水産資源保護協会, 1-13.
109. Yoshimizu, M., M. Sami and T. Kimura (1989a): Survivability of infectious hematopoietic necrosis virus (IHN V) in fertilized eggs of masu (*Oncorhynchus masou*) and chum salmon (*O. keta*). *J. Aquat. Anim. Health*, **1**: 13-20.
110. Yoshimizu, M., T. Nomura, T. Awakura, Y. Ezura and T. Kimura (1989b): Prevalence of pathogenic fish virus in anadromous masu salmon (*Oncorhynchus masou*) in the northern part of Japan. 1976-1987. *Physiol. Ecol. Japan Spec.*, Vol. 1: 559-576.
111. Yoshimizu, M., T. Nomura, Y. Ezura and T. Kimura (1993): Surveillance and control of infectious hematopoietic necrosis virus (IHN V) and *Oncorhynchus masou* virus (OMV) of wild salmonid fish returning to northern part of Japan, 1976 to 1991. *Fish. Res.*, **17**, 163-173.
112. Yoshimizu, M. (1996): Disease problems of salmonid fish in Japan caused by international trade. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **15**, 533-549.
113. Yoshinaka, T., M. Yoshimizu and Y. Ezura (1997a): Selection of a suitable cell line for isolation of the infectious hematopoietic necrosis virus (IHN V) from ovarian fluid of Japanese salmonid fish. *Fish Pathol.*, **32**(2), 75-80.
114. Yoshinaka, T., M. Yoshimizu, T. Sawabe and Y. Ezura (1997b): Detection and identification of infectious hematopoietic necrosis virus (IHN V) by reverse transcription (RT)-polymerase chain reaction (PCR). *Fish. Sci.* **63**(5), 592-595.
115. Yoshinaka, T., M. Yoshimizu and Y. Ezura (2000): Adsorption and infectivity of infectious hematopoietic necrosis virus (IHN V) with various solids. *J. Aquat. Anim. Health*, **12**: 64-68