

高知県二級河川鏡川で2017年に発生した  
アユの異型細胞性鰓病の疫学調査

○加藤佑亮・山下はづき（高知大農）・門野真弥（高知大院農）  
・大崎靖夫・片岡榮彦（鏡川漁協）・今城雅之（高知大農）

**【目的】**2017年6月14日に鏡ダム下流の鏡川本川と支川の合流点周辺で、10cm前後のアユ *Plecoglossus altivelis* が次々と下流に流れているのが見つかり、3日程度で終息する大量死の事例が起きた。その後、死因はアユポックスウイルス (PaPV) による異型細胞性鰓病と判断したことから、国内初の河川での発生例となり、その原因究明が強く求められている。そこで本研究では、鏡川のアユにおける PaPV の感染実態を調査した。

**【方法】**死亡アユは小川口橋下流で6月5日、15日、17日に総計8尾、鏡庁舎前で6月16日、18日に総計8尾、たきゆり橋下流で6月18日に1尾回収した。6月中旬の大量死以降、7月にダム下流の廊中堰下流と小川口橋下流でアユを投網または友釣りで採捕し、8月にはダム下流の鏡庁舎前とダム上流の弘瀬、しらめ石、高川、9月には鏡庁舎前とダム上流の土佐山庁舎前、高川を加えた。また、5月1日にダム下流のトリム堰直下で採捕した天然遡上アユも供した。側線上方横列鱗数の計数後、鰓検体を摘出し、ReliaPrep gDNA Tissue Miniprep System でDNA抽出した。死亡アユの鰓は透過型電子顕微鏡による観察も行った。各DNAサンプルを Ampdirect Plus を用いたPCR法に供し、PCR産物のシーケンス解析を行った。

**【結果】**PCRの結果、天然遡上アユは全て PaPV 陰性であった一方で、死亡アユは全て PaPV 陽性となり、透過型電顕により鰓薄板の癒着と PaPV 様粒子が多数観察された。よって、遡上期の天然アユは PaPV に感染しておらず、大量死の9日前に PaPV 感染でアユが死亡していたこと、大量死時に鏡ダム上流でも同様の死亡があつたことが分かった。7月、8月、9月の小川口橋下流の鰓1検体、9月の鏡庁舎前の鰓1検体、8月のしらめ石の鰓1検体が PaPV 陽性となり、感染拡大は示されなかつたが、小川口橋下流では感染アユが継続して確認された。PaPV 陽性アユの鱗数は14~15枚で放流個体と判別され、今回の感染源として疑われた。今後どのように感染率が推移していくのか、引き続き調査を継続している。

香川県小豆島のアサリ *Ruditapes philippinarum* を対象にした  
パーキンサス属原虫の疫学調査

○福嶋淳・加藤佑亮（高知大農）・門野真弥（高知大院農）  
・佐藤周之・今城雅之（高知大農）

**【目的】**日本国内のアサリ *Ruditapes philippinarum* 生産量は1980年代前半まで毎年14万トン前後で推移していたが、2000年代に入つてからは3万トン台にまで落ち込み、2009年以降はさらに2万トンを下回る危機的状況にある。その一因として、パーキンサス属原虫によるパーキンサス症の顕在化が挙げられるが、本疾病が香川県小豆島での深刻なアサリ資源減少に関与しているのかは明らかでない。そこで本研究では、小豆島のアサリにおけるパーキンサス属原虫の感染実態を調査した。

**【方法】**小豆島の北東部に位置する吉田浜にてアサリを採取し、採取日は、2016年の9月7日、10月22日、11月6日、11月20日、12月8日、2017年の1月15日、5月18日、6月25日、7月13日、8月16日、9月14日とした。体重と殻長サイズを測定後、鰓組織を摘出し、QIAamp DNA Mini KitでDNA抽出した。パーキンサス属原虫の検出は、ITS1-5.8S rRNA-ITS2領域を標的とした nested PCR 法で行った。各採取日毎に鰓2~3検体のPCR産物をランダムに選別し、それらの塩基配列をシーケンス解析して、得られた配列情報とともに最尤法による分子系統樹を作成して種同定した。

**【結果】**nested PCRの結果、2016年の9月7日は全て陰性となつたが、10月22日に6.7%、11月6日に27.8%、11月20日に62.5%、12月8日に92.9%、2017年の1月15日に92.3%、5月18日に3.1%、6月25日に11.1%、7月13日に9.7%、8月16日に17.2%、9月14日に3.6%が陽性となり、殻長サイズ間で陽性率に差はなく、秋から冬にパーキンサス属原虫の感染率が顕著に高くなる傾向が示され、感染拡大が示唆された。シーケンス解析の結果、222番目の塩基がAまたはGを示す2つの遺伝子型が見つかり、両遺伝子型は分子系統樹の位置関係から *Perkinsus olseni* のグループに属し、同種であると同定された。以上から、これまでに知られていなかった小豆島のアサリへの *P. olseni* 感染を明らかにした。

高知県二級河川鏡川の鏡ダム上流における  
アユ細胞性冷水病の疫学調査研究

○山下はづき・加藤佑亮（高知大農）・門野真弥（高知大院農）  
・長岩理央・占部敦史（高知県内水面漁業セ）・大崎靖夫  
・片岡榮彦（鏡川漁協）・今城雅之（高知大農）

**【目的】**鏡川は高知県高知市の中心部を流れる二級河川で、その中流には鏡ダムがある。2007年から同ダム湖でアユの再生産が確認されるようになり、毎年ダム湖産アユの生息数は放流尾数に匹敵する程度の数が推定されることから、重要なアユ資源として注目されている。本研究では、年間を通じてアユが生息する特殊な状況にある鏡ダム上流でアユ細胞性冷水病の疫学調査を実施した。

**【方法】**天神発電所前にて遡上前のダム湖産アユの採捕を3月から5月に計3回電気ショッカーで行った。5月下旬からアユの採捕を下弘瀬、弘瀬、桑尾、土佐山庁舎前にて友釣りで行い、鰓と腎臓からDNA抽出した。2月下旬から上記4地点で採水を実施し、河川水1Lをろ過したフィルター付着物からDNA抽出した。冷水病菌の PPIC 遺伝子とアユの環境DNAは既報の q-PCR 法により検出・定量した。

**【結果】**天神発電所前のダム湖産アユでは、3月3日に8.3%の鰓と腎臓1検体ずつ、5月1日に3.2%の腎臓1検体、5月19日に3.8%の腎臓1検体が陽性となり、PPIC 遺伝子コピー数は平均  $3.2 \times 10^1 \sim 3.5 \times 10^2$  copies/100ng DNA であった。5月22日には下弘瀬で5%の腎臓1検体が陽性でダム湖産アユであったのに対し、弘瀬で10.3%の鰓3検体、土佐山で4%の鰓1検体、6月12日には下弘瀬で4.8%の鰓1検体が陽性で全て放流アユとなり、平均  $3.3 \times 10^1 \sim 1.1 \times 10^3$  copies/100ng DNA と死亡魚で検出されるような高い値は示されなかつた。河川水中の PPIC 遺伝子コピー数は、4地点ともに6月20日に  $1.1 \sim 3.1 \times 10^4$  copies/Lと最も高く、8月30日と9月26日には検出されなくなつた。河川水中のアユの環境DNAは、放流前の2月28日に天神発電所前と土佐山庁舎前、4月3日に全4地点で検出され、その後、8月30日まで放流とアユの成育に伴うコピー数の増加傾向が見られ、9月26日に天神発電所以外で減少した。以上から、友釣りの良場では放流アユが優先的に感染しており、よってダム湖産アユ遡上による感染拡大の懸念はないと判断された。

愛媛県西条市馬渕川・サラサラ川水系におけるリアルタイム  
PCR法を用いたコイヘルペスウイルス感染拡大の実態調査

○門野真弥（高知大院農）・畠啓生（愛媛大理）・仲山慶  
(愛媛大沿岸研セ)・北村真一（愛媛大沿岸研セ）・吉藤晃太  
(高知大農)・山本貴仁（西条自然学校）・今城雅之（高知大農）

**【目的】**愛媛県西条市は、コイ科ヘルペスウイルス3 (CyHV-3) によるコイヘルペスウイルス病の発生・蔓延防止を図るために、2005年7月からコイの持ち出しと移動を制限する条例を制定し、2012年8月に渦井川水系全域を対象水域に指定した。しかし、渦井川支流に位置する馬渕川・サラサラ川水系にて本病の散発的な発生が後を絶たない。本研究では、リアルタイムPCR法を用いて同水系の河川水中の CyHV-3 を経時的に検出・定量し、感染拡大の実態を調査した。

**【方法】**馬渕川・サラサラ川水系において、コイが放流・餌付けされた地点を St.2 とし、上流側に St.1、下流側に St.3、St.4 を設け、4月19日から採水を開始した。河川水 500 mL から鉄濃縮法でウイルス凝集塊を形成させ、孔径 0.8 μm のポリカーボネート製フィルターに捕捉し、DNeasy Blood & Tissue Kit でDNA抽出した。CyHV-3 の検出と定量はリアルタイムPCR法で行った。6月1日の St.4 のDNAサンプルから CyHV-3 のチミジンキナーゼ遺伝子と ORF25-26 遺伝子を増幅し、シーケンス解析によりウイルス遺伝子型を判別した。

**【結果】**今回の調査期間中、コイヘルペス病の発生は報告されなかつた。リアルタイムPCRの結果、4月19日から10月5日まで CyHV-3 は St.1 で検出されなかつたのに対し、他3地点では散発的に検出され、渦井川からの流れ込みによるウイルス伝播の可能性は低いと考えられた。同期間中の CyHV-3 遺伝子の平均コピー数は、St.2 で  $3.4 \times 10^4 \sim 3.5 \times 10^5$  copies/L、St.3 で  $1.3 \times 10^4 \sim 4.3 \times 10^5$  copies/L、St.4 で  $8.4 \times 10^3 \sim 5.2 \times 10^7$  copies/L の範囲で分布した。そのうち St.4 で6月1日に検出されたものが最も高く、遺伝子型は J/A1 型と判別され、これまでに国内で報告されたものと同型であった。また、7月14日から8月16日まで全地点で全く検出されなくなり、高温による影響と考えられた。以上から、St.2 付近のコイに CyHV-3 が潜伏感染している可能性が示唆され、それらが感染源となり感染拡大しているかは、さらに詳細な調査が必要である。