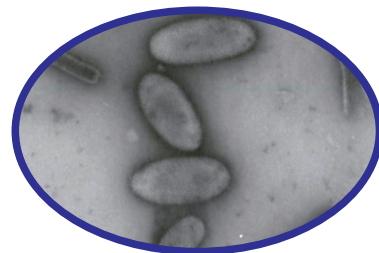


第4節 PAV 防除対策

Section 4

佐藤 純



1. はじめに

旧日本栽培漁業協会志布志事業場（現：独立行政法人水産総合研究センター増養殖研究所志布志庁舎：以下志布志庁舎）では 1967 年からクルマエビの種苗生産に取り組み、その後、関係府県が行うクルマエビ放流事業の支援を目的に 2000 年まで 33 年間にわたり、稚エビあるいは種苗の供給を行ってきた。1975 年頃からは 1 年間に 1 億尾前後の種苗が生産できるようになったが、1983 年の種苗生産過程でバキュロウイルス性中腸腺壊死症（baculoviral mid-gut gland necrosis: BMN）¹⁾ が発生し、種苗生産に多大な支障を来した。この疾病は受精卵の洗浄を行うことにより、発生を抑えられるようになった²⁾。また、1993 年にはクルマエビ類の急性ウイルス血症（penaeid acute viremia: PAV）³⁾ が西日本のクルマエビ養殖場で初めて発生した⁴⁾。クルマエビ種苗生産過程では、1996 年に志布志庁舎での生産種苗において関係県への配付後の種苗放流を目的とした中間育時に PAV が発症し、種苗放流事業の大きな障害となった⁵⁾。

そこで、旧日裁協では上浦事業場（現：増養殖研究所上浦庁舎：以下上浦庁舎）を中心にクルマエビの種苗生産過程における PAV の防除対策を確立することを目的に技術開発に取り組んだ。本章ではこれまでに得られた知見について紹介する。

なお、クルマエビの幼生期の名称は、我が国では伝統的にノープリウス、ゾエア、ミシスおよびポストラーバという通称が使われているが、これらの通称は十脚甲殻類の国際的な名称とは必ずしも一致しない^{6,7)}。国際的な名称に従えば、各ステージの呼称は、ノープリウス（1～6 令）＝ノープリウス、ゾエア（7～9 令）＝プロトゾエアあるいはゾエア、ミシス（10～13 令）＝ミシスあるいはゾエア、ポストラーバ（13～14 令）＝メガロパ、（15 令以降）＝稚エビのように修正される。しかし、我が国の種苗生産現場では、いまだにこれらの通称が慣用されている現状から、本研究においてはこれらの名称を用いることとした。その際、ポストラーバ期の記載方法は Hudinaga⁸⁾ の報告した記載とは異なり、通例ポストラーバ期に達した段階からの日齢で表記する



図 5-4-1 PAV (=WSD) に罹病した稚クルマエビ
上；健康個体 下；罹病個体

方法が使用されているため、それに準じた。

2. PAV について

PAV は、前述の如く 1993 年に西日本の養殖場で最初に発生が報告された。国内での流行は、中国から輸入したクルマエビを感染源にして周辺の養殖場に水平伝播したと考えられている⁴⁾。中野ら⁴⁾によると、罹病エビは行動が不活発になり、食欲が減退し、体色の赤変または褪色等を示すと報告され、（図 5-4-1）感染末期にはウイルス血症となる⁹⁾。病理組織学的には、感染エビの胃の上皮細胞層、結合組織、リンパ様器官、造血組織の中胚葉・外胚葉起源細胞の核の肥大と無構造化が観察される^{10,11)}。また最近の研究で、実験感染エビの心臓心筋組織に顕著な壊死が観察され、これが PAV 罹病クルマエビの致死病変であるとする報告がある¹²⁾。累積死亡率は多くの場合 80%以上に達し、国内のクルマエビ養殖生産において例を見ない大量死を引き起こした。一方、クルマエビの種苗生産施設では、1995 年に初めて PAV の発生が報告され、1999 年までほぼ毎年報告されている¹³⁾。本疾病の発生は、ヨシエビ (*Metapenaeus ensis*)^{14,15)} においても報告があり、近年でもクルマエビおよびヨシエビの種苗生産機関の 10%程度で PAV 原因ウイルスの検出あるいは PAV の発生が認められ、計画的な種苗放流事業の妨げとなっている（図 5-4-2）。

クルマエビの種苗生産過程における PAV 原因ウイル



図 5-4-2 種苗生産水槽での PAV (=WSD) の発生の様子

スの主たる感染経路は、垂直伝播であることから^{5,16)}、その防除対策として PAV 原因ウイルスフリー親エビの選別、ヨード剤等を用いた受精卵の消毒および飼育水の殺菌が重要である^{5,16・19)}。これらの対策により、陸上施設等を用いた種苗生産過程での PAV 防除対策はほぼ確立されたが、中間育成場や養殖施設においては、飼育環境中に生息する甲殻類からの、あるいは飼育海水を介した PAV 原因ウイルスの水平伝播が起こる危険性があり、未だ解決されていない。事実、Maeda *et al.*²⁰⁾、Momoyama *et al.*²¹⁾ は養殖場に生息する甲殻類から PAV 原因ウイルスが検出されることを、また Wu *et al.*²²⁾ は共食いによる水平感染が PAV 原因ウイルスの重要な伝播経路であることを報告しており、養殖場や放流用種苗の中間育成場における水平感染対策も重要な課題である。

3. 原因ウイルスと宿主範囲について

原因となる病原体は桿状のエンベロープを有する DNA ウイルスで、当初 RV-PJ (Rod-shaped nuclear virus of *Penaeus japonicus*) と仮称された²³⁾。その後、原因ウイルスは PRDV (penaeid rod-shaped DNA virus)²⁴⁾ と改名され、その病名は PAV (penaeid acute viremia)²⁴⁾ と名付けられた。海外では OIE (国際獣疫局) によって呼ばれている WSS (white spot syndrome) または WSD (white spot disease) が一般的に使用されている²⁵⁾。WSD は、我が国で報告された PAV と同一の疾病と考えられている^{26・28)}。特徴的な外観症状として頭胸甲に白い斑点が観察されることが報告されている²⁹⁾、健康なクルマエビでも観察される³⁰⁾ ことやウシエビでは細菌に感染した個体がこのような症状を呈することも報告されており³¹⁾、この白い斑点の形成がこのウイルス病に特有な症状であるとは言えないことから、病名としては WSS ではなく PAV と呼称する報告もある³²⁾。ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) 第 8 版では、本疾病の病原ウイルスは WSSV で、ニマウイルス科 (Nimaviridae) ウィスボウイルス属 (*Whispovirus*) に分類される³³⁾。WSSV 粒子は、エンベロープで覆われた卵形あるいは長楕円の桿状で、大き

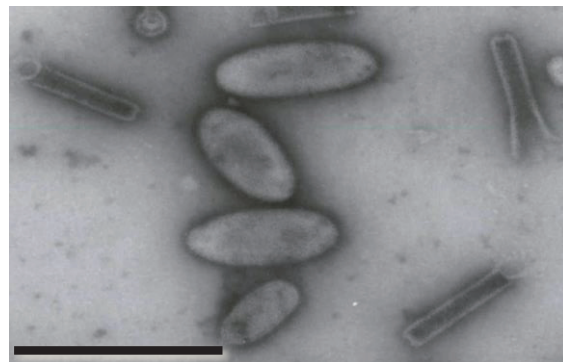


図 5-4-3 PRDV (=WSSV) 粒子とヌクレオカプシド
(bar は、500nm)

さは幅が 120~150 nm、長さが 270~290 nm で、粒子の一端に鞭毛様の構造物が付属している³⁴⁾ (図 5-4-3)。ビリオンは、最も外側に脂質の 3 層からなるエンベロープタンパク質があり、その内側に存在するテグメントタンパク質によって桿状のヌクレオカプシッドが包含されている。WSSV は、約 300 kbp の 2 本鎖 DNA をゲノムとし、エンベロープタンパク質由来の VP19 および VP28、テグメントタンパク質由来の VP24 および VP26、ヌクレオカプシッドタンパク質由来の VP15、VP664 の計 6 種類の主要構造タンパク質から構成される^{35-39,41)}。なお、本章の以下においては、この疾病名を WSD、原因ウイルス名を WSSV として記載する。

本病は、十脚目のエビ・カニ類が感染するウイルス性疾病で、アジアおよび中近東のクルマエビ類養殖でも甚大な被害をもたらしている^{29,41,42)}。WSD はこれまでに東南アジア諸国の養殖クルマエビ、ウシエビ、アカオエビ (*Fenneropenaeus penicillatus*)、およびコウライエビなどで発生が報告されている (表 5-4-1)。この他のクルマエビ科に属するクルマエビ (*P. semisulcatus*)、インドエビ (*F. indicus*)、Banana shrimp (*F. merguensis*)、フトミゾエビ (*Melicertus latisulcatus*)、White leg shrimp、White shrimp (*Litopenaeus setiferus*)、Blue shrimp (*L. stylirostris*)、Northern brown shrimp (*Farfantepenaeus aztecus*)、Northern pink shrimp (*Fa. duorarum*)、ヨシエビ、Ginger prawn (*M. monoceros*)、Kadal shrimp (*M. dobsoni*)、Fine shrimp (*M. elegans*)、トラエビ (*M. acclivis*)、アカエビ (*M. barbata*)、キシエビ (*M. dalei*)、サルエビ (*Trachypenaeus cuvieri*)、Kiddi shrimp (*Parapenaeopsis stylifera*) の 9 属 22 種に感染が確認された。WSSV は、ワタリガニ科およびイセエビ科の数種で、また餌料生物に用いられるアルテミア (*Artemia* sp.) やワムシ (*Brachionus urceus*) でも感染が確認され、さらに昆虫類からも WSSV が検出された事例があり、現在までに 12 目 21 科 2 亜科 51 属の生物で感染が確認される宿主範囲の広いウイルスである。

表 5-4-1 WSSV に自然感染あるいは人為感染が確認された生物（その 1）

	学名	英名	和名	感染の タイプ*	文献
海産エビ類					
根鰚亜目					
クルマエビ上科 クルマエビ科					
	<i>Marsuenaues</i> 属 <i>Marsuenaues japonicus</i>	Kuruma prawn	クルマエビ	N, E	Inouye <i>et al.</i> , 1994 ⁷¹ ; Takahashi <i>et al.</i> , 1994 ⁷³ ; Lo <i>et al.</i> , 1996 ²⁷ ; Wang <i>et al.</i> , 1998 ⁴¹
	<i>Penaues</i> 属 <i>Penaues monodon</i>	Giant tiger prawn	ウシエビ	N, E	Wongteerasupaya <i>et al.</i> , 1995 ²⁴ ; Chou <i>et al.</i> , 1995 ²⁴ ; Lo <i>et al.</i> , 1996 ²⁷ ; Karunasagar <i>et al.</i> , 1997 ⁷⁵ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁷⁶
	<i>P. semisulcatus</i>	Green tiger prawn	クマエビ	N, E	Maeda <i>et al.</i> , 1998 ³⁰ ; Momoyama <i>et al.</i> , 1999 ⁷⁷ ; Lo <i>et al.</i> , 1996 ²⁷ ; Wang <i>et al.</i> , 1998 ⁴¹ ; Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁷⁸
	<i>Fenneropenaeus</i> 属 <i>Fenneropenaeus chinensis</i>	Chinese or fleshy prawn	コウライエビ	N	Huang <i>et al.</i> , 1995 ⁷⁹ ; Flegel, 1997 ⁸⁰
	<i>F. penicillatus</i>	Red-tailed prawn	アカオエビ	N	Lo <i>et al.</i> , 1996 ²⁷ ; Chou <i>et al.</i> , 1995 ²⁴ ; Wang <i>et al.</i> , 1998 ⁴¹
	<i>F. indicus</i>	Indian white prawn	インドエビ	N, E	Wongteerasupaya <i>et al.</i> , 1996; Flegel, 1997 ⁸⁰ ; Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁸¹
	<i>F. merguensis</i>	Banana prawn	テンジククルマエビ	N	Wongteerasupaya <i>et al.</i> , 1996; Flegel, 1997 ⁸⁰
	<i>Melicerus</i> 属 <i>Melicerus latissulcatus</i>	Western king shrimp	フトミノエビ	E	Momoyama <i>et al.</i> , 1999 ⁷⁷
	<i>Litopenaeus</i> 属 <i>Litopenaeus vannamei</i>	Western white shrimp		N, E	Lightner <i>et al.</i> , 1998 ⁸² ; Soto and Lotz, 2001 ⁸³ ; Rodriguez <i>et al.</i> , 2003 ⁸⁴
	<i>L. setiferus</i>	White shrimp		E	Lightner <i>et al.</i> , 1998 ⁸²
	<i>L. stylirostris</i>	Blue shrimp		E	Tapay <i>et al.</i> , 1997 ⁵³ ; Lightner, 1996 ²⁷
	<i>Farfantepenaeus</i> 属 <i>Farfantepenaeus aztecus</i>	Northern brown shrimp		E	Lightner <i>et al.</i> , 1998 ⁸²
	<i>Fa. duorarum</i>	Northern pink shrimp		E	Lightner <i>et al.</i> , 1998 ⁸²
	ヨシエビ 属 <i>Metapenaeus ensis</i>	Greasy back shrimp	ヨシエビ	N, E	Momoyama <i>et al.</i> , 1997 ⁷⁶ ; C. S. Wang <i>et al.</i> , 1997 ⁷⁵ ; Lan, Y. and Xu, X. 2002 ⁸⁵ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁷⁶
	<i>M. monoceros</i>			E	Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁸¹
	<i>M. doboni</i>	Kadal shrimp		N, E	Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁸¹ ; Lan, Y. and Xu, X. 2002 ⁸⁵ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁷⁶
	<i>M. Elegans</i>			N	Lan, Lu and Xu, 2002 ⁸⁵ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁷⁶
	<i>M. Acclivis</i>	Tora velvet shrimp	トラエビ	N	Momoyama, 2003 ²¹
	<i>M. Barbata</i>	Whiskered velvet shrimp	アカエビ	N	Momoyama, 2003 ²¹
	<i>M. Dalei</i>	Kishi velvet shrimp	キシエビ	N	Momoyama, 2003 ²¹
	サルエビ 属 <i>Trachypenaeus curvirostris</i>	Southern rough shrimp	サルエビ	E	Chang <i>et al.</i> , 1998 ⁸⁶ ; Y. C. Wang <i>et al.</i> , 1998 ⁴¹ ; Momoyama, 2003 ²¹
	スベスベエビ 属 <i>Parapenaeopsis stylifera</i>	Kiddi shrimp		N	Hossain <i>et al.</i> , 2001 ⁸⁷ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁷⁶
チヒロエビ科					
	ヒカリチヒロエビ 属 <i>Aristeus</i> sp.			N	Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁷⁶
クダヒゲエビ科					
	クダヒゲエビ 属 <i>Solenocera crassicornis</i>	Corstal mud shrimp		N	Hossain <i>et al.</i> , 2001 ⁸⁷
サクラエビ上科 サクラエビ科					
	アキアミ 属 <i>Acetes</i> sp.	Krill		E	Supamattaya <i>et al.</i> , 1998 ⁸⁸
コエビ下目 テッポウエビ上科 テッポウエビ科					
	テッポウエビ 属 <i>Alpheus brevirostratus</i>	Snapping shrimp	テッポウエビ	N	Takahashi <i>et al.</i> , 2003 ⁸⁹
	<i>A. lobidens</i>	Apping shrimp	イソテッポウエビ	N	Takahashi <i>et al.</i> , 2003 ⁸⁹
テナガエビ上科 テナガエビ科					
	スジエビ 属 <i>Palaemon adspersus</i>	Baltic prawn		E	Corbel <i>et al.</i> , 2001 ⁹⁰
	<i>Pa. styliferus</i>	Grass shrimp		N	Lo <i>et al.</i> , 1996 ²⁷ ; Flegel, 1997 ⁸⁰
淡水産エビ・ザリガニ類					
コエビ下目					
テナガエビ上科 テナガエビ科					
	テナガエビ 属 <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Ginat river prawn	オニテナガエビ	N, E	Pramod <i>et al.</i> , 2002 ⁹¹ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002; Lo <i>et al.</i> , 1996 ²⁷ ; Flegel, 1997 ⁸⁰ ; Chang <i>et al.</i> , 1998 ⁸⁶ ; Wang <i>et al.</i> , 1997 ⁷⁵ ; Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁸¹ ; Hossain <i>et al.</i> , 2001 ⁸⁷
	<i>Ma. idella</i>	Sunset prawn		E	Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁸¹
	シラタエビ 属 <i>Exopalaemon orientis</i>	Oriental prawn	シラタエビ	N, E	Lo <i>et al.</i> , 1996 ²⁷ ; Flegel <i>et al.</i> , 1997 ⁸⁰ ; Chang <i>et al.</i> , 1998 ⁸⁶ ; Wang <i>et al.</i> , 1998 ⁴¹
ザリガニ下目 ザリガニ上科					
ザリガニ科					
	<i>Pacifastacus</i> 属 <i>Pacifastacus leniusculus</i>	Signal crayfish	ウチダザリガニ	E	Jiravanichpaisal <i>et al.</i> , 2001 ⁹²
	<i>Astacus</i> 属 <i>Astacus leptodactylus</i>	Turkish crayfish		E	Corbel <i>et al.</i> , 2001 ⁹⁰
アメリカザリガニ科					
	アメリカザリガニ 属 <i>Procambarus clarkii</i>	Red swamp crayfish	アメリカザリガニ	E	Wang <i>et al.</i> , 1998 ⁴¹ ; Chang <i>et al.</i> , 1998 ⁸⁶
	<i>Orconectes</i> 属 <i>Orconectes limosus</i>	Spinycheek crayfish		E	Corbel <i>et al.</i> , 2001 ⁹⁰
ミナミザリガニ上科 ミナミザリガニ科					
	<i>Cherax</i> 属 <i>Cherax destructor albidus</i>	Yabby		E	Edgerton, 2004 ⁹³
	<i>C. quadricarinatus</i>	Australian redclow		E	Shi <i>et al.</i> , 2000 ⁸⁴
タラバエビ上科 タラバエビ科					
	ミノエビ 属 <i>Heterocarpus</i> sp.			N	Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁷⁶
シャコ目					
シャコ科					
	シャコ 属 <i>Squilla</i> sp.			N, E	Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁷⁶ ; Hossain <i>et al.</i> , 2001 ⁸⁷
カニ類					
カニ下目					
カラツバ科					
	カラツバ 属 <i>Calappa philagi</i>	Boxer crab	メガネカラツバ	E	Lo <i>et al.</i> , 1997 ⁴⁷ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁷⁶ ; Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁸⁶
	<i>Ca. lophos</i>	Box crab		N, E	Flegel, 1997 ⁸⁰ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁷⁶

表 5-4-1 WSSV に自然感染あるいは人為感染が確認された生物（その2）

ワタリガニ科					
イシガニ属	<i>Charybdis feriata</i>	Coral crab	シマイシガニ	N, E	Lo <i>et al.</i> , 1997 ⁽⁷⁾ ; Y. C. Wang <i>et al.</i> , 1998 ⁽¹¹⁾ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁽³⁶⁾ ; Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	<i>Cha. natator</i>	Hairyback crab	ワタリイシガニ	N	Lo <i>et al.</i> , 1997 ⁽⁷⁾ ; Flegel, 1997 ⁽⁸⁰⁾
	<i>Cha. annulata</i>	Swimming crab	シマアシイシガニ	N	Hossain <i>et al.</i> , 2001 ⁽⁸⁷⁾ ; Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	<i>Cha. cruciata</i>	Red sea crab		N	Hossain <i>et al.</i> , 2001 ⁽⁸⁷⁾ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁽³⁶⁾
	ガザミ属 <i>Portunus pelagicus</i>	Blue swimming crab	タイワンガザミ	N, E	Lo <i>et al.</i> , 1996, 1997 ^(7, 47) ; Supamattaya <i>et al.</i> , 1998 ⁽⁸⁵⁾ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁽³⁶⁾ ; Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	<i>Po. sanguinolentus</i>	Threespot swimming crab	ジャノメガザミ	N, E	Lo <i>et al.</i> , 1997 ⁽⁷⁾ ; Chang <i>et al.</i> , 1998 ⁽⁸⁶⁾ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁽³⁶⁾ ; Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	<i>Po. trituberculatus</i>	Swimming crab	ガザミ	N	Maeda <i>et al.</i> , 1998 ⁽⁷²⁾ ; Momoyama <i>et al.</i> , 1999 ⁽⁷⁷⁾
	ノコギリガザミ属 <i>Scylla serrata</i>	Mangrove or mud crab	アミメノコギリガザミ	N, E	Lo <i>et al.</i> , 1996 ⁽⁷⁷⁾ ; Kanchanaphum <i>et al.</i> , 1998 ⁽⁸⁶⁾ ; Supamattaya <i>et al.</i> , 1998 ⁽⁸⁰⁾ ; Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁽⁸³⁾ ; Cheng <i>et al.</i> , 2000 ⁽⁷⁾ ; Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁽³⁶⁾ ; Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	<i>S. tranquebarica</i>	Mangrove or mud crab		E	Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁽⁸³⁾
	メナガガザミ属 <i>Podophthalmus vigil</i>	Long-eye swimming crab	メナガガザミ	E	Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
ベニツケガニ属	<i>Thalamita danae</i>	Swimming crab	ミナミベニツケモドキ	N, E	Flegel, 1997 ⁽⁸⁰⁾ ; Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	シワガザミ属 <i>Liocarcinus depurator</i>	Harbour crab		E	Corbel <i>et al.</i> , 2001 ⁽⁸⁶⁾
イワガニ科	<i>L. puer</i>	Velvet swimming crab		E	Corbel <i>et al.</i> , 2001 ⁽⁸⁶⁾
アシハラガニ属	<i>Helice tridens</i>	Shore crab	アシハラガニ	N	Lo <i>et al.</i> , 1996 ⁽⁷⁷⁾ ; Maeda <i>et al.</i> , 1998 ⁽⁷²⁾
	ハシノイワガニ属 <i>Metapograpsus messor</i>	Purple climber crab		N, E	Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁽⁸³⁾
	ベンケイガニ属 <i>Sesarma sp.</i>	Marsh crab	ベンケイガニ類	N, E	Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁽⁸³⁾
	オオイワガニ属 <i>Grapsus albolineatus</i>	Rock crab	ミナミイワガニ	E	Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
モクズガニ亜科					
ヒメイワガニモドキ属	<i>Pseudograpsus intermedius</i>	Mosaic crab		N	Chakraborty <i>et al.</i> , 2002 ⁽³⁶⁾
	クモガニ科				
ケブカツノガニ属	<i>Doclea hybrida</i>			E	Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	オウギガニ科				
ゴカイイボオウギガニ属	<i>Halimede ochtodes</i>	Hairy crab	ゴカイイボオウギガニ	E	Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	Liagore 属 <i>Liagore rubromaculata</i>		ベニホシマンジュウガニ	E	Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
キンセンガニ科					
キンセンガニ属	<i>Matuta miersii</i>	Moon crab		E	Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	ヘイケガニ科				
サメハダヘイケガニ属	<i>Paradorippe granulate</i>		サメハダヘイケガニ	E	Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	ヒシガニ科				
ヒシガニ属	<i>Parthenope prensor</i>	Elbow crab		E	Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	コブシガニ科				
マメコブシガニ属	<i>Philyra syndactyla</i>	Purse crab	ヒラコブシガニ	E	Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	イチョウガニ科				
イチョウガニ属	<i>Cancer pagurus</i>	Edible or rock crab		E	Corbel <i>et al.</i> , 2001 ⁽⁸⁶⁾
	スナガニ上科 スナガニ科 オサガニ亜科				
オサガニ属	<i>Macrophthalmus sulcatus</i>	Ghost/fiddler crab		N	Hossain <i>et al.</i> , 2001 ⁽⁸⁷⁾
	スナガニ亜科				
シオマネキ属	<i>Uca pugilator</i>	Calico fiddler crab		E	Kanchanaphum <i>et al.</i> , 1998 ⁽⁸⁶⁾
	<i>Gelasimus marionis nitidus</i> (<i>Uca vomeris</i> 等とシノニム)			N	Hossain <i>et al.</i> , 2001 ⁽⁸⁷⁾
Gecarcinucoidea 上科 Parathelphusidae 科					
Somanniathelpusa 属	<i>Somanniathelpusa sp.</i>	Black rise crab		E	Flegel, 1997 ⁽⁸⁰⁾
	ヤドカリ下目				
ヤドカリ上科 タラバガニ科					
イバラガニ属	<i>Lithodes maja</i>	Deep sea king crab		E	Hameed <i>et al.</i> , 2003 ⁽⁹⁵⁾
	ロブスター類				
イセエビ下目					
イセエビ上科 イセエビ科					
イセエビ属	<i>Panilurus ornatus</i>	Tropical rock spiny lobster	ニシキエビ	E	Flegel, 1997 ⁽⁸⁰⁾ ; Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁽⁸³⁾
	<i>Pan. versicolor</i>	Painted spiny lobster	ゴシキエビ	E	Chang <i>et al.</i> , 1998 ⁽⁸⁶⁾
	<i>Pan. longipes</i>	Longlegged spiny lobster	カノコイセエビ	E	Flegel, 1997 ⁽⁸⁰⁾
	<i>Pan. penicillatus</i>	Transpacific spiny lobster	シマイセエビ	E	Chang <i>et al.</i> , 1998 ⁽⁸⁶⁾
	<i>Pan. homarus</i>	Scalloped spiny lobster	ケブカイセエビ	E	Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁽⁸³⁾
	<i>Pan. polyphagus</i>	Mud spiny lobster	インドイセエビ	E	Rajendran <i>et al.</i> , 1999 ⁽⁸³⁾
	セミエビ科 ヒメセミエビ亜科				
ヒメセミエビ属	<i>Scyllarus arcus</i>	Small European locust lobster	ヒメセミエビ	E	Corbel <i>et al.</i> , 2001 ⁽⁸⁶⁾
	ホウネンエビ目 ホウネンエビモドキ科				
アルテミア属	<i>Artemia sp.</i>			E	Li <i>et al.</i> , 2003 ⁽³⁸⁾
	その他の生物				
カイアシ類					
コペポダ	coepods			N	Lo <i>et al.</i> , 1996 ⁽⁷⁷⁾
	ワムシ目 ツボワムシ科				
ツボワムシ属	<i>Brachionus urceus</i>	Rotifer		N, E	Yan <i>et al.</i> , 2004 ⁽⁹⁹⁾ ; Zhang <i>et al.</i> , 2006 ⁽¹⁰⁰⁾ ; Yan <i>et al.</i> , 2007 ⁽¹⁰¹⁾
	昆虫類				
コウチュウ目(鞘翅目) ハムシ科					
Mantura 属	<i>Mantura sp.</i>			N	Flegel, 1997 ⁽⁸⁰⁾
	ハエ目(双翅目) ミギワバエ科				
Ephydridae sp.		Shore fly	ミギワバエ科の蛹	N	Lo <i>et al.</i> , 1996 ⁽⁷⁷⁾
	12目21科2亜科51属				
感染のタイプ*: N: 自然感染, E: 実験感染 (佐藤 純; 2012. 水研報. 36. 別冊 p.95より)* ⁽¹⁰²⁾					

4. 診断法について

WSD 罹病エビの血リンパを用いた診断法は、暗視野顕微鏡下で観察すると約 0.5 μm の多数の微粒子が認められることや、胃上皮層の感染細胞の核は 10～15 μm の円形あるいは楕円形の輪郭明瞭で無構造の白色物体として観察されることが報告されている⁹⁾ (表 5-4-2)。原因ウイルスの検出には、特異的プライマーを用いて WSSV の遺伝子を検出する PCR 法^{2,6,43,44)} が開発され、キャリアーの検出や親エビのウイルス検査の手法として用いられている。その他、in situ hybridization^{45,46)} やモノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法⁴⁷⁻⁴⁹⁾、dot blot hybridization⁵⁰⁾、dot immunoblot assay^{48,51)}、ウェスタンブロット法⁴⁹⁾、ELISA 法⁵²⁾、初代培養細胞を用いたウイルス分離法⁵³⁾、高感度で迅速診断が可能な LAMP 法も報告されている⁵⁴⁾。

表 5-4-2 PRDV (=WSSV) の検出法

検出方法	文献
暗視野顕微鏡観察法	Momoyama <i>et al.</i> , 1995 ⁹⁾
PCR法	Takahashi <i>et al.</i> , 1996 ²⁶⁾ , 木村ら, 1996 ⁴³⁾ , Lo <i>et al.</i> , 1996 ⁴⁴⁾
In situ hybridization	Durand <i>et al.</i> , 1996 ⁴⁵⁾ , Wongteerasupaya <i>et al.</i> , 1996 ⁴⁶⁾
蛍光抗体法	Lo <i>et al.</i> , 1997 ⁴⁷⁾ , Zhan <i>et al.</i> , 1999 ⁴⁸⁾ , Poulos <i>et al.</i> , 2001 ⁴⁹⁾
Dot blot hybridization	Chang <i>et al.</i> , 1998 ⁵⁰⁾
Dot immunoblot assay	Poulos <i>et al.</i> , 2001 ⁴⁹⁾ , You <i>et al.</i> , 2002 ⁵¹⁾
ウェスタンブロット法	Poulos <i>et al.</i> , 2001 ⁴⁹⁾
ELISA法	Chen <i>et al.</i> , 2002 ⁵²⁾
初代培養細胞による分離	Tapay <i>et al.</i> , 1997 ⁵³⁾
LAMP法	Kono <i>et al.</i> , 2004 ⁵⁴⁾

(佐藤 純, 2012: 水研報. 36: 別冊 p. 95より) *102)

この防除対策事例においては、木村ら⁴³⁾の開発した PCR 法を若干改良し、後述する防除対策における PCR 反応時間の短縮化を図ったことから、その方法について以下に実例をする。

従来の PCR 法⁴³⁾では、Nested PCR 反応が終了するまでに約 5 時間を要し、この間に産卵水槽毎に管理している卵の発生が進み、種苗生産水槽に収容するまでの間に卵への悪影響が懸念された。そのため、PCR 法の熱変性、アニーリング及び伸長の 3 つのステップの反応のうち、アニーリングのステップを省略する 2 ステップ PCR 法 (シャトル PCR 法) により反応時間の短縮を図るとともに、PCR 反応液量を従来の 50 μL から 25 μL にスケールダウンして熱伝導性を高めた。その結果、従来法⁴³⁾と WSSV の検出感度を比較しても全く遜色のない結果が得られるとともに、Nested PCR までの反応時間を半分の約 2.5 時間に短縮することに成功した。後述する防除対策上の親エビ検査では検査のスピード化が求められるため、このシャトル PCR 法を採用した¹⁹⁾。

PCR による WSSV 遺伝子の検出(実例)

親エビおよび種苗からの鋳型 DNA の抽出は、水産庁が提示したマニュアル⁵⁵⁾に準じて行った。抽出した核酸は、TE (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA) 100 μL に溶解した。WSSV の検出は、親エビおよび飼育種苗から抽出した DNA (1 μL) を鋳型とし、木村ら (1996)⁴³⁾の方法を一部改変した 2 step PCR (nested PCR) により行った。すなわち、PCR 反応液の全量を 25 μL とし、DNA ポリメラーゼ Takara Ex Taq (タカラバイオ) を用い、PCR プライマーとして 1st-step PCR は P1 (5' -ATC ATG GCT GCT TCA CAG AC-3') および P2 (5' -GGC TGG AGA GGA CAA GAC AT-3') を、2nd-step PCR では、P3 (5' -TCT TCA TCA GAT GCT ACT GC-3') および P4 (5' -TAA CGC TAT CCA GTA TCA CG-3') を用い、DNA サマールサイクラーで標的遺伝子を増幅した。増幅反応の条件は、95°C・3 分間の反応後、95°C・1 分間、57°C・1 分 30 秒間を 1 サイクルとし 25 あるいは 30 サイクルの後、72°C・5 分間の反応を行った。増幅サイクル数は親エビ検査では 30 サイクルとし、種苗の検査では水産庁のマニュアル⁵⁵⁾に準じて 25 サイクルとした。

現在も多く of クルマエビ種苗生産機関では、WSSV 陽性親エビを選別するために PCR 法が多用されているが、PCR 法による検出系が報告⁴³⁾されてから既に 10 年以上が経過し、最近では簡便で高効率、高精製度の核酸抽出キットや高速 PCR 機器あるいは高温耐性に優れた DNA 合成酵素などが市販されている。最新の情報を踏まえつつ適材適所に改良された検査手法の導入を図る必要がある。また、高感度な検出法であることから、感染性がないウイルス (遺伝子) を検出することも考えられ、その判定は慎重に行わなければならない。さらに、確定診断を行う場合は病理組織学的検査も必要であろう。

5. WSD 以外の国内における病害問題

日本の養殖クルマエビにおける病害問題は、桃山、室賀⁵⁵⁾によって、また、種苗生産過程の海産魚介類の疾病発生状況 (1994～1999) は、鴨志田ら¹³⁾によって詳しくレビューされている。それによると細菌性疾病は、1970 年頃のクルマエビ養殖場において、死亡個体から *Vibrio* 属細菌が分離され、現在においても継続的に発生が確認されている感染症である (図 5-4-4、水産資源保護協会データから作成)⁵⁶⁾。*Vibrio alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. harveyi*, *V. vulnificus* は、しばしばクルマエビ類養殖生産において分離される細菌であり、種苗生産過程においても *V. harveyi*, *V. splendidus* の分離が報告されている²⁹⁾。1980 年代以降、日本のクルマエビ養殖場での被害が問題となったビブリ

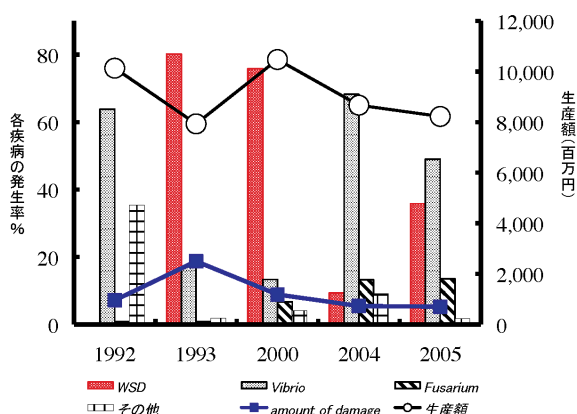


図 5-4-4 国内のクルマエビ養殖における病害発生状況
(水産資源保護協会調査データ：魚種別被害状況より作成)

オ病^{5,7,58)}の原因細菌は、*V. penaeicida* とされ⁵⁹⁾、クルマエビに対して強い病原性を示すことが確認されており^{5,7,60-62)}、日本のクルマエビ養殖場に常在する典型的な条件性病原体となっている⁶³⁾。2005 年には、鹿児島県内のクルマエビ養殖場において高温下 (27℃) で大量死をもたらした新種の原因菌である *V. nigripulchritudo* によるビブリオ病が報告されている⁶⁴⁾。図 5-4-4 には、各年の全疾病被害額に占める疾病別の被害率を示した。1992 年のビブリオ病の被害率は、63.8%と当時の最も深刻な病害であった。1993 年に西日本で WSD が発生して以降、ビブリオ病 (17.1%) の被害率が減少し、WSD (80.2%) に置き換わった様に見えるが、2004 年では WSD (9.3%) の被害は減少しビブリオ病 (68.2%) の被害率が再び増加した。2005 年はビブリオ病が 49.0%、WSD が 35.8%で、それらの被害額は同程度となり、クルマエビ病害ではこれら 2 疾病が常に問題になっている。種苗生産過程においても、1999 年に体長 20~25 mm の個体でビブリオ病の発生事例があり、その発生率 (疾病発生時例数/飼育事例数) および死亡率の高さが問題となったことが報告されている¹³⁾。

真菌病としては、フサリウム症の被害が WSD およびビブリオ病に次いで多く報告されている (図 5-4-4)。フサリウム症は、クルマエビの鰓が黒色になるのが特徴で、鰓における呼吸障害と中枢神経や腹行動脈機能障害が起きることによって死亡すると考えられている⁵⁶⁾。病原菌は *Fusarium solani*^{65,66)} である。有効な治療法が知られていないことから、予防的にエビの収穫後の砂床中の *F. solani* を殺菌することが推奨されている⁶⁵⁾。一方、種苗生産過程においては、1994 年から 1999 年まで毎年本症の発生が報告され、甲殻類の種苗生産を行う上で大きな問題となっている¹³⁾。フサリウム症の発病時期は、クルマエビ類ではノープリウスからポストラーバ 10 日齢期にかけて発生し、死亡率は非常に高く、発病すると

全滅するケースが多い¹³⁾。

一方、ウイルス病であるバキュロウイルス性中腸腺壊死症 (Baculoviral mid-gut gland necrosis virus: BMN) は、クルマエビのポストラーバ期 10 日齢前後に発生する。急性で致死性の高いウイルス感染症である。病原体は、Baculoviral mid-gut gland necrosis virus (BMNV) で、エンベロープを有する大型の桿状 DNA ウイルスである⁶⁷⁾。本病は、中腸腺と腸管の一部の白濁を特徴とし、症状は過急性に経過することが多く、感染後数日間で死亡する。本病の対策として、種苗生産過程における受精卵の回収時に親エビの糞などを清浄な海水で除去することで垂直感染の防除が可能とされる⁶⁸⁾。ただ現在では、本疾病による病害の報告はほとんどなく (水産資源保護協会データ)、種苗生産過程においても 1991 年以降の発生報告はない¹³⁾。

6. 種苗生産過程における発生状況

種苗生産に使用する本種の卵を確保するのに必要な雌親エビ養成技術については第 6 章に詳しい記述があるが、採卵用の成熟した親エビの多くは天然海域で漁獲される親エビに依存しているのが現状である。そのため、天然親エビが WSSV に感染していれば、種苗生産現場にウイルスを持ち込むことになり、飼育過程における WSD 発生の危険性が高くなる。ここでは、1996 年から 1998 年のクルマエビの種苗生産過程 (中間育成過程を含む) における WSD の発生状況について述べる。1996 年には、14 回行った飼育事例中 6 回の事例で、中間育成場に配付する前の種苗から WSSV が検出され、飼育を中止した (表 5-4-3)。一方、ポストラーバ 20 日齢期 (P20) までいずれの发育段階でもすべて PCR 陰性であった種苗は、中間育成場に輸送した。その際一部の種苗を志布志庁舎において継続飼育していたところ、P29 と P51 で PCR 陽性と判定された。これと合致するように、すべての中間育成事例において PAV が発生した。中間育成場では、輸送の翌日から 18 日後の P27~P55 の发育段階の種苗で WSD が発生した。瀕死の個体は体色の赤変、褪色および体表 (外骨格) に白斑を呈し、約 10 日間の累積死亡率は 50~100%に達した。これらの種苗生産用に採卵した親エビの胃上皮について、種苗生産終了後に冷凍サンプルから PCR 法で WSSV の検出を行った結果、7 月下旬以降に搬入した親エビから WSSV が検出され、種苗の WSSV 検出結果と WSD の発症の結果が良く一致した¹⁸⁾。なお、一部では親エビで PCR 陰性にも関わらず、種苗で PCR 陽性となるケースがあり、親エビの検査部位として胃上皮は不適当であると考えられた。この点については次項で詳しく述べる。一方、1997 年には 4 月および 5 月に搬入した親エビの卵巣からの WSSV

表 5-4-3 クルマエビ種苗生産における WSSV の検出と WSD の発生状況について (1996) (佐藤ら, 1999; 魚病研究, 34: 33-38^{*5)})

生産 回次	親エビ		受精卵および稚エビからの WSSV検出結果 ^{*2}	WSDの発生	
	漁獲日	PCR test ^{*1}		種苗生産過程	中間育成課程
1	3月 24, 25	-	-	-	- (0/4) ^{*3}
2	6月 25	-	-	-	- (0/1)
3	7月 12	-	- ^{*4} (P51) ^{*4}	-	+ (3/3)
4	7月 16, 17	-	-	-	- (0/3)
5	7月 24	+	- ^{*4} (P29) ^{*4}	-	+ (5/5)
6	9月 3	+	+	+	(中止) Not done
7	9月 4	+	+	+	(中止) Not done
8	9月 12	+	+	+	(中止) Not done
9	9月 17	-	+	+	(中止) Not done

^{*1} 産卵個体の胃上皮からのnested PCR検出結果

^{*2} 種苗生産過程における幼生および稚エビからのWSSV検出結果 括弧内は、WSSVがnested PCRによって初めて検出されたステージを示す

^{*3} (WSD発生件数/中間育成実施回数)

^{*4} 種苗生産場で継続飼育していた群から中間育成施設に配付した後にWSSVが検出された

表 5-4-4 志布志庁舎・上浦庁舎の種苗生産試験における WSD の発生状況 (1996 年～2000 年)
(佐藤ら, 2003; 栽培技研: 30: 101-109. より^{*19)})

年	親エビの選別 ^{*1}	受精卵の消毒	成功率/実施数 ^{*2}
1996	実施せず	実施せず	6/14 (42.9%)
1997	産卵前の卵巣卵検査	ヨード剤 ^{*3} の使用 (有効ヨウ素濃度5mg/L)	21/23 (91.3%)
1998	産卵後の受精囊検査	ヨード剤 ^{*3} の使用 (有効ヨウ素濃度5mg/L)	11/11 (100%)
1999	産卵後の受精囊検査	ヨード剤 ^{*3} の使用 (有効ヨウ素濃度5mg/L)	16/16 (100%)
2000	産卵後の受精囊検査	ヨード剤 ^{*3} の使用 (有効ヨウ素濃度5mg/L)	20/21 (95.2%)

^{*1} nested PCR検出結果に基づく選別

^{*2} 飼育過程においてWSSVの検出やWSDの発生もなく成功した生産事例数/実施した生産事例数

^{*3} 有効ヨウ素濃度5 mg/Lで5分間の消毒を行った(紫外線処理海水を使用した)。

が検出されたものの、これらの PCR 陽性個体を排除した陰性個体のみから得られた卵を種苗生産に用いた結果、種苗生産の成功事例は 23 事例中 21 事例 (91.3%) になり、ある程度の防除効果を確認できた (表 5-4-4)。このように、親エビにおける WSSV の検出結果と種苗からの WSSV の検出および WSD の発生との関連また、WSSV 陽性の親エビを排除した種苗生産での成功率の上昇から、種苗生産過程における WSSV の主たる感染経路は親エビからの垂直伝播と考えられた⁷⁾。

7. 天然クルマエビからの WSSV 検出

種苗生産過程での WSD 防除対策に関する技術開発を進めるにあたり、まず、天然の親エビの WSSV 保有状況を調査した。1996 年 7 月から 1998 年 4 月までに九州および四国の各沿岸ならびに本州中部太平洋沿岸で漁獲された天然親エビ合計 1,269 尾 (雌 955, 雄 314) について、木村ら^{4,2)}の報告した Nested PCR 法によりウイルス保有状況を調査した。

その結果、雌では検査した 955 尾中 96 尾、雄では 314 尾中 21 尾から WSSV が検出された¹⁵⁾。WSSV の部位別検出率は、雌全体では [卵巣卵 (10.1%)] > [胃上皮 (7.3%)] > [血リンパ (5.8%)] の順に高い

値を示した。この天然親エビにおける WSSV の保有調査により、広い海域にわたってウイルスを保有する個体が存在することが明らかとなるとともに、雌の生殖腺からの検出率が最も高かった。図 5-4-5 には、2002 年から 2007 年に国内の主要市場に水揚げされた天然クルマエビにおける WSSV 検出率の季節的変動を示した。WSSV の検出率は、夏期 (7 月から 8 月) に漁獲される親エビで高まる傾向がみられた。それとは反対に 4 月から 6 月にかけて漁獲される雌親エビでは WSSV の検出率が低い傾向がみられた。

天然海域の棲息個体から WSSV が検出されることはウシエビ^{4,6)} やヨシエビ^{6,8)} でも報告されている。ウシエビでは産卵期である夏から秋に漁獲されるエビの方が冬に漁獲されるエビより検出率が高くなることが報告されている。この現象はクルマエビと同様であり、クルマエビにおいては多回産卵がストレスとなり、親エビに不顕性感染している WSSV の増殖を誘発することにより起因すると考えられている¹⁶⁾。このような検出率に季節的な変動が起こる現象を踏まえ、種苗生産においては、WSSV の感染率が比較的低い 4 月から 6 月に漁獲される親エビを搬入し、それらの親エビから得られた卵を飼育に用いることも WSD の防除対策の一つとして有効と考えられる¹⁵⁾。

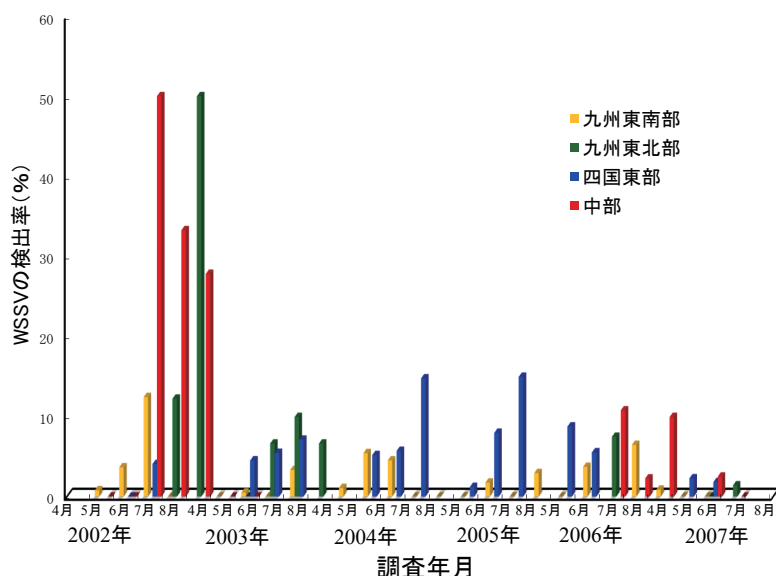


図 5-4-5 国内主要水揚げ地の天然雌クルマエビにおける WSSV 検出率の季節的変動

(佐藤 純；2012. 水研報. 36. 別冊 p.95 より)*¹⁰²⁾

表 5-4-5 産卵前後における卵巣卵および受精囊からの WSSV の検出結果

(1997 年～1999 年) (Mushiake *et al.* 1999; 34: 203-207.) *¹⁷⁾

購入 月日		WSSV の検出率 (%)			
		卵巣卵		受精囊	
		産卵前	産卵後	産卵前	産卵後
年	月				
1997	4月	1.6(4/248) * ¹⁾	3.4(3 / 87)	NE* ²⁾	NE
	5月	0(0/ 81)	0(0/ 40)	NE	NE
	6月	0(0/108)	0(0/ 37)	0(0/ 38)	2.3 (2/ 86)
	7月	0.7(2/297)	4.0(4/101)	8.6(6/ 70)	39.2 (83/212)
	8月	1.3(3/240)	10.0(10/100)	5.7(2/ 35)	52.6 (41/ 78)
	1997年計	0.9(9/974)	4.7(17/365)	5.6(8/143)	33.5 (126/376)
1998	3月	0(0/ 3)	0(0/ 18)	0(0/ 3)	0 (0/ 18)
	4月	0(0/ 38)	0(0/587)	0(0/ 38)	1.4 (8/587)
	5月	0(0/ 13)	0.9(1/111)	0(0/ 13)	0.9 (1/111)
	6月	0(0/ 13)	1.6(2/122)	0(0/ 13)	13.9 (17/122)
	7月	0(0/108)	1.4(2/148)	0(0/ 21)	24.3 (36/148)
	1998年計	0(0/175)	0.5(5/986)	0(0/ 88)	6.3 (62/986)
1999	3月	0(0/ 15)	0(0/181)	0(0/ 15)	0 (0/181)
	4月	0(0/ 10)	0(0/262)	0(0/ 10)	0(0/262)
	5月	0(0/ 5)	0(0/ 39)	0(0/ 5)	0(0/ 39)
	6月	0(0/ 10)	6.8(5/ 74)	0(0/ 10)	41.9(31/ 74)
	7月	0(0/ 7)	0(0/ 15)	14.3(1/ 7)	56.1(37/ 66)
	1999年計	0(0/ 47)	1.9(12/622)	2.1(1/ 47)	10.9(68/622)

*¹⁾(PCR 陽性数個体数 / 検査個体数).

*²⁾ 検査せず

また、1997 年から 1999 年の 3 年間に於いて、親エビの産卵前後の卵巣卵および受精囊（交尾により雄から獲得した精子を貯蔵しておく小囊，雌性生殖器官（thelycum））からの WSSV 検出率を比較すると、産卵前の卵巣卵からの WSSV 検出率は 1997 年は 0.9%で、1998 年と 1999 年は 0%であった（表 5-4-5、図 5-4-6）。しかし、産卵後の卵巣卵からの検出率は 4.7%（1997 年）、0.5%（1998 年）および 1.9%（1999 年）であった。受精囊における産卵前の検出率は、5.6%（1997 年）、0%（1998 年）および 2.1%（1999 年）であったが、産卵後にはそれぞれ 33.5%、6.3%および 10.9%であった。

このように、卵巣および受精囊のいずれも産卵前より産卵後の方が検出率が高く、また、産卵後の検出率は卵巣より受精囊の方が著しく高くなった¹⁶⁾。この現象の詳細は不明であるが、Mushiake *et al.*¹⁶⁾ は産卵行動やハンドリングに伴うストレスの影響、あるいは産卵によって放精が行われ受精囊中の精包の精子数が減少し、PCR 反応に用いる鋳型 DNA の抽出精度が向上するためと推測している。なお、受精囊から検出される WSSV が元々雄由来なのか、あるいは雌由来なのかについては現在のところ不明である。

表 5-4-4 に示すように、1998 年以降のクルマエビの種

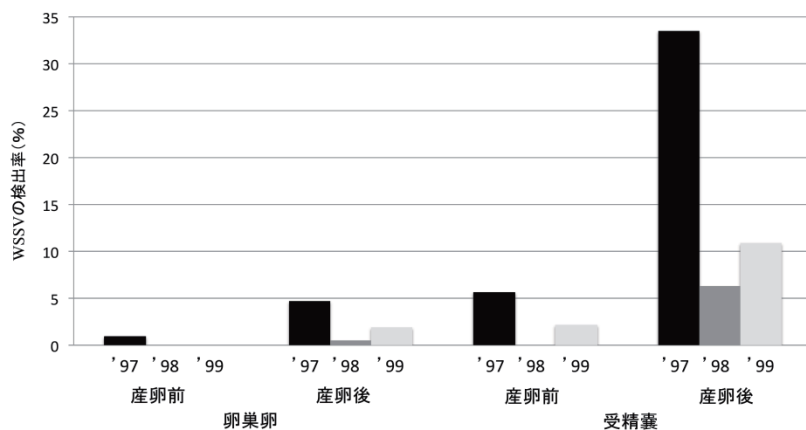


図 5-4-6 産卵前後における卵巣および受精囊からの WSSV の検出

(佐藤ら, 2003; 栽培技研, 30: 101-109 より一部改変^{*19)})

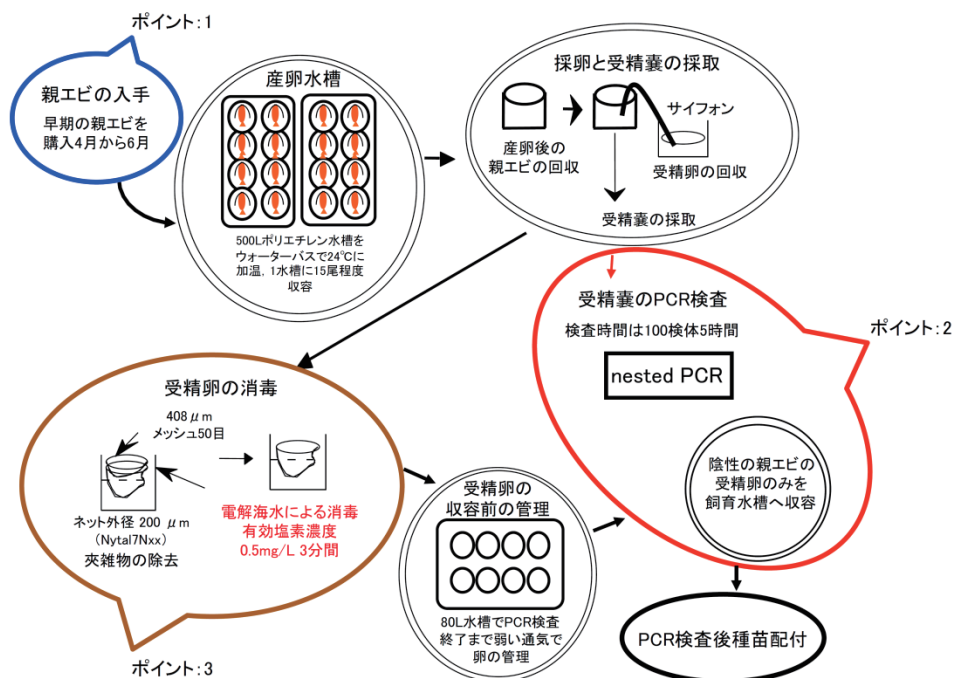


図 5-4-7 PAV (=WSD) 防除対策における採卵方法の概要

苗生産成功率（種苗からの WSSV 検出と WSD の発症がない事例/種苗生産実施数×100）は 97.9%となった。これは、次項で述べるような防除対策を講じ、天然親エビから種苗生産現場へのウイルスの持ち込みを未然に防ぐことができるようになったためと考えられる。

8. 防除対策

8-1. 垂直伝播の防除対策

8-1-1. 親エビからの PRDV 検出に基づく選別

前述したように、種苗生産過程での WSD の発生状況から、WSSV の感染経路として垂直伝播が強く示唆され、天然親エビのウイルス検査から雌の卵巣、胃上皮、

血リンパ、受精囊から高率に WSSV が検出された。種苗生産過程における WSD の防除対策の確立をめざす上で、これらの結果を考慮して、はじめに産卵前の親エビ卵巣のウイルス検査を行い、その結果から陽性親エビを排除し、陰性親エビのみを産卵に供することを考えた。しかし、夏期に搬入した親エビから得られた卵を用いた種苗生産では WSD が発生し、この方法では防除対策として不十分と考えられた。

一方、前述したとおり天然親エビのウイルス検査において、産卵後の受精囊で WSSV が高率に検出されることが判明した¹⁶⁾。そこで、産卵後の親エビ受精囊を検査し、陰性と判定された親エビ由来の卵のみを選別して種苗生産を行った。その結果、表 5-4-4 に示すように

1998 年から 2000 年までのクルマエビ種苗生産の成功率は 97.9%になった。この間に行った 48 事例の種苗生産において、47 事例で全く WSD の発生は認められなかった。したがって、親エビの受精囊検査に基づく卵選別と次項目で述べる卵消毒とを組み合わせた方法は、種苗生産過程におけるクルマエビの WSD 防除対策として有効であると考えられた (図 5-4-7)。

しかし、48 事例中わずか 1 例で種苗から WSSV が検

出され、WSD の発生には至らなかったものの、種苗生産を中止せざるを得ない事例があった。この原因について考えてみると、その後の親エビの検査により 8 月に漁獲された同一親魚群の陽性率が 60% (40 個体を検査) に達した事例では、産卵後の受精囊は PCR 陰性であっても卵巢が PCR 陽性の個体が含まれていた (表 5-4-6) *¹。すなわち、陽性率が上昇する夏期においては産卵後の受精囊検査結果だけに基づく卵の選別では、PRDV

表 5-4-6 産卵後の親エビの部位別の WSSV 検出結果の比較 (虫明私信)

個体番号	親エビからの WSSV 検出結果				総合的 判定	卵巢と受精囊を検 査対象とした場合
	血リンパ	胃上皮	卵巢	受精囊		
1	-	-	-	+	+	+
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	+	-	+	+
4	-	+	-	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	+	+	+
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
12	-	+	-	-	+	-
13	-	-	+	-	+	+
14	-	-	-	+	+	+
15	-	-	-	+	+	+
16	-	-	-	+	+	+
17	-	-	-	+	+	+
18	-	+	+	+	+	+
19	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	+	+	+
21	-	-	-	-	-	-
22	-	+	-	+	+	+
23	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-
28	-	-	+	-	+	+
29	-	-	-	+	+	+
30	+	+	-	-	+	-
31	-	-	-	+	+	+
32	-	-	+	+	+	+
33	-	-	-	+	+	+
34	-	+	+	-	+	+
35	-	+	-	+	+	+
36	-	-	-	-	-	-
37	-	-	+	+	+	+
38	-	-	+	+	+	+
39	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-
陽性尾数	1	7	9	18	24	22
検出漏れが起こ る危険率 (%)	95.8 (23/24)*	70.8 (17/24)	62.5 (15/24)	25.0 (6/24)	0 (0/24)	8.3 (2/24)

※:(総合判定の陽性尾数-各部位の陽性尾数)/総合判定の陽性尾数

に感染した親エビを見逃す可能性もあることを示唆している。これを解決するためには、産卵後の親エビの受精嚢と卵巣の両方を検査して、いずれも PCR 陰性の親エビが産卵した卵を種苗生産に供する必要がある。しかし、現実的にはこの両サンプルを検査するためには検査費用が高くなることと検査に長時間を要するため、受精卵の卵管理時間が長引き、ふ化率を低下させる懸念もある。このような観点から、できる限り親エビの PCR 陽性率が低い4月から6月の比較的早い時期に漁獲される親エビを用いることが WSD 防除対策として重要である。

虫明ら^{*2}は親エビの受精嚢における WSSV の存在量と種苗生産過程における WSD の発生との間には関連性があることを報告している。これは、受精嚢検査において WSSV の存在量が少なければ、PCR 陽性の親エビ由来の卵を飼育に供しても、飼育過程で WSD が発生するとは限らないことを意味している。WSSV の存在量を把握することは WSD 発生の危険性を予測する上で有効と考えられる。この知見は、クルマエビ生体防御との関連性からは、興味深い結果である。しかし、種苗生産過程で WSD が発生しないレベルの WSSV 存在量とはいえ、種苗生産現場に微量の WSSV を持ち込む危険性があることや種苗生産の方法によってはウイルスを増殖させてしまう懸念もあるため、現場における対策としては、やはり PCR 陰性の親エビ由来の卵のみを種苗生産に用いるべきであろう。

8-1-2. 受精卵の消毒

・ポビドンヨードを用いた方法

WSSV がクルマエビ受精卵に侵入するのか、単に表面に付着しているだけなのかについては明らかではない。また、受精卵の消毒に関しても、今のところ効果を厳密に確認した例は報告されていない。台湾におけるウシエビの WSS では興味深い報告がある。WSSV が卵巣卵内に存在すると卵の発育が阻害されて、垂直伝播が起こらないとされている。しかし、この場合でも、卵およびふ化幼生については洗浄または消毒を実施することが有効な垂直伝播の防除になるとしている⁴⁶⁾。しかし、クルマエビの場合、ふ化幼生をヨード剤を用いて消毒すると生残に大きく影響したり、ふ化幼生の形態異常をもたらし得ることから^{*3}、実用上では、受精卵の卵表面に存在するウイルスを不活化することを目的として、1997 年

以降ヨード剤による消毒を行った。すなわち、得られた受精卵は、紫外線殺菌処理海水で洗浄し、夾雑物を除いた後、紫外線処理海水にヨード剤を有効ヨウ素濃度 5 mg/L になるように加えて 5 分間の消毒を行う（消毒を行う時の卵の発育段階は、胚に環状帯が出現した段階（受精約 5 時間後）以降である）。なお、WSSV の不活化には、有効ヨウ素 2.5 mg/L で 10 分間の消毒が有効と報告されているが³⁷⁾、実際にこの条件で卵消毒を行うと、ふ化率は 48.3%と大きく低下する（対照区 99.7%）ことがわかった。そのため、ふ化に悪影響が少ない有効ヨウ素 5 mg/L で 5 分間の消毒で行った（ふ化率 94.1%）。なお、WSSV の不活化条件については、有効ヨウ素濃度 2.5 mg/L 以上で 0.2 分以内、1.0 mg/L では 2 分以内¹⁸⁾で不活化されるとの報告もあり、この条件を上回る上述のヨード剤による安全な消毒条件は確実なウイルスの不活化が期待できると考えられる⁶⁸⁾。その他、受精卵への物理的なダメージの軽減を図ることや素早く洗浄を行うためにシャワー状に海水がかかるような工夫も必要である。WSD 防除対策における採卵方法では、産卵水槽（500 L ポリエチレン水槽）ごとに受精卵の回収および卵管理（小型の水槽 75～500 L）を行った。すなわち、親エビの産卵水槽ごとに夾雑物を取り除きながら採卵し、前述の方法によるヨード剤による卵消毒を行った。PCR 法による親エビ検査が終了するまで小型の水槽中で通気を施しながら卵管理をした（図 5-4-7）。

なお、水産用医薬品の取扱において承認外使用は禁止されている。承認外でやむを得ず使用する際は、承認されるまでのあいだ緊急避難的に獣医師の指示書に基づいて使用することができるが、さけ・ますの受精卵のみに卵消毒剤として承認されているヨード剤においても承認される魚種の拡大をメーカーに働きかける必要がある。

・電解海水を用いた方法

次にここでは、ヨード剤に替わる洗浄技法の確立を目的として、次亜塩素酸を主要成分とする電解海水を用いたクルマエビ受精卵洗浄のふ化への安全性と洗浄効果を検討したので紹介する。

天然クルマエビ由来の受精卵（第一触角の始痕の出現期）を試験に供した。電解海水による洗浄は、有効塩素濃度 0.3, 0.5, 1.0, 2.5 および 5.0 mg/L で 3 分間、受精卵を浸漬して行った。消毒処理の影響を把握するため、ふ化率を観察した（25.1℃）、さらに、同様な条件における WSSV 不活化試験を感染エビ血リンパ液を用いて試験管内で行い、処理後のウイルス液をクルマエビ（BW 0.73 g）に筋肉注射し、その死亡率によって効果を調べた。

次に有効塩素濃度（以下塩素濃度）の減衰が起こらない洗浄条件を把握するため 0, 1 万, 2 万, 5 万, 10 万お

^{*1} 虫明ら未発表。

^{*2} 虫明敬一・清水 健・森 広一郎・有元 操・佐藤 純（1999）親エビ受精嚢の PRDV の存在量と PAV 発生との関係。平成 11 年度日本魚病学会春季大会講演要旨集、40。

^{*3} 虫明ら未発表。

よび 20 万個/L の受精卵を塩素濃度 0.3 mg/L、流量 10 L/分で、10 万、20 万および 40 万個/L の受精卵では、0、10、12、14、16 および 18 L/分の流量でいずれも 3 分間洗浄処理し、処理後の塩素濃度の減衰状況を把握した。次に、受精卵を WSSV で人為的に汚染し、塩素濃度 0、0.3 および 0.5 mg/L、流量 10 L/分でそれぞれ、1 および 3 分間洗浄処理を行い、処理後の受精卵の PBS 希釈液を、WSSV に感染歴のないクルマエビに筋肉注射して、死亡状況から Reed-Münch 法でウイルス感染価を求めて、WSSV の除去率を求めた（(1-処理区のウイルス感染価/対照区のウイルス感染価) × 100）。

その結果、ふ化率は、電解海水洗浄では 2.5 mg/L 以下 3 分間の条件で対照区に比較して有意差はなかった。WSSV の不活化試験における不活化率は、対照区に比較して、電解海水では 0.3 mg/L 以上 3 分間で 99.96% 以上と算出された。以上の結果から、電解海水洗浄では 0.3~2.5 mg/L、3 分間でふ化への安全性と卵を介した WSSV の伝播防除に有効な手段となる可能性が示唆された^{*4}。

また、減衰状況の把握試験では、2 万個/L の受精卵密度までは塩素濃度 0.3 mg/L、流量 10 L/分で、20 万および 40 万個/L の受精卵密度では流量 18 L/分、3 分間の流水処理で、処理中の塩素濃度を設定値の 80% 以上に維持出来ることが解った。WSSV で汚染した受精卵を 1 万個/L の密度で塩素濃度 0.5 mg/L、流量 10 L/分で、3 分間洗浄した場合、ウイルス感染価は検出限界以下（ $\leq 10^{2.38}$ ID₅₀/mL）となった（対照区は、 $10^{4.58}$ ID₅₀/mL）。従って、クルマエビの受精卵の塩素濃度 0.5 mg/L、流量 18 L/分、3 分間の洗浄処理は、WSSV に対する高い洗浄・除菌効果を示すことが確認された^{*5}。なお、電解海水の除菌有効成分である次亜塩素酸は有機物の存在下では、容易に減衰し除菌効果を失うことから、用いる海水および器具類の清浄度を保つための考慮を現場毎に適宜行う必要がある。

8-2. 水平伝播の防除対策

種苗生産過程における WSD の発生には、WSSV の親エビからの垂直伝播のほかに、水平伝播も重要な要因の一つと考えられる。養殖場間の水平伝播は用水が強く

関与していることが疑われている^{3,8)}。WSSV は 5×10^3 $\mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ の紫外線照射で大部分が不活化されるため紫外線による殺菌処理によって WSSV フリーの用水の確保が可能であると考えられており、志布志庁舎では、 3×10^4 $\mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ の照射量でろ過海水を殺菌処理して飼育用水とした。また、実験感染による死亡個体では眼、遊泳脚、歩脚にウイルスが存在することが確認されている^{3,3,3,9)}。従って、感染個体の組織を経口から摂取、すなわち共食いすることで水平感染が引き起こされる可能性が十分に考えられる。実験的にも、感染エビとの同居による健康エビへの水平伝播が確認されており、特に高密度の飼育環境下では、共食いや飼育水を媒介とした水平感染が容易に成り立つことが報告されている^{1,4)}。従って、予防措置として極端な高密度飼育を避け飼育環境に配慮する必要がある。

また、クルマエビの種苗生産には、生物餌料の投与に引き続き配合飼料を投与する場合がほとんどであるが、その配合飼料の材料の一部として用いられるエビガラムールから WSSV 遺伝子が検出されたことがある。しかし、感染試験の結果、クルマエビに対する感染性は認められなかったことが報告されている^{*6,7)}。そのため、配合飼料がクルマエビ体内に残っている状態でウイルス検出を行うと偽陽性の結果をもたらす、誤った診断結果を得ることになるとともに健全な種苗も処分してしまう可能性もある。そこで、実用上では、種苗生産期間中、特に配合飼料を給餌している期間に PCR 検査を行う場合は、検査個体群の一部を別水槽に移して、12 時間以上絶食させてから、検査に供するようにした。このことにより、健全種苗の偽陽性はなくなり、誤診を防ぐことができるようになった。なお、防疫の見地からみた放流種苗に関する申し合わせ事項（Ⅰ）にある「危険度の高い疾病（高い死亡率をもたらす疾病）の取扱」に従う場合においては^{*8}、PCR 法により陽性と判定された種苗の取扱は慎重に行う必要がある。

クルマエビの感染個体の死亡による水平的な広がりには実験的飼育環境で実証されており、その他、環境生物からのウイルスの持ち込みの可能性も報告されている⁷¹⁾。

^{*4} 佐藤 純・森 広一郎・井手健太郎・池田和夫・吉水守 (2009) 電解海水および尿素によるクルマエビ受精卵の洗浄. 平成 21 年度日本水産学会春季大会 講演要旨集, 79.

^{*5} 佐藤 純・米加田 徹・森 広一郎・乙竹 充・吉水守 (2013) PAV (=WSD) 防除のための電解海水を用いたクルマエビ受精卵の洗浄効果. 平成 25 年度日本水産学会春季大会 講演要旨集, 139.

^{*6} 虫明敬一・森 広一郎・有元 操・佐藤 純・今泉圭之輔 (1999) クルマエビ種苗生産における PAV 防除対策の現状. 平成 10 年度日本魚病学会春期大会講演要旨集, 2.

^{*7} 山下浩史・河野芳巳 (1999) PCR 法による PRDV 陽性の飼料を用いたクルマエビ (*Penaeus japonicus*) 攻撃試験. 平成 10 年度日本魚病学会春季大会講演要旨集.

^{*8} 栽培漁業技術開発推進事業全国協議会 (1996) : 種苗生防疫の見地からみた放流種苗に関する申し合わせ事項 (Ⅰ), 平成 11 年 3 月 (平成 19 年 12 月修正) pp.3-9.

表 5-4-7 WSSV の不活化条件

項目	条件	参考文献
熱	60℃では1分以上、50℃では1時間以上	中野ら (1998)
乾燥	3時間 以上 (26℃)	Maeda <i>et al.</i> (1998)
食塩	25%食塩水で24時間 以上	中野ら (1998)
紫外線	100,000 $\mu\text{w} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ 以上	中野ら (1998)
オゾン	0.62 mg/L 1分間 以上	中野ら (1998)
次亜塩素酸ナトリウム	有効塩素 1 mg/L 10分間 以上	中野ら (1998)
ヨード剤	有効ヨウ素 2.5 mg/L 10分間 以上	中野ら (1998)
逆性石鹼	塩化トリメチルアンモニウムメチレン 25 mg/L 10分間 以上	中野ら (1998)
エチルアルコール	30%で 1分間 以上	中野ら (1998)
ホルマリン	5 g/Lで 10分間 以上	中野ら (1998)
pH 3	60分間以上 (25℃)	Chang <i>et al.</i> (1998)
pH 12	10分間以上 (25℃)	Chang <i>et al.</i> (1998)
海水中での感染力の維持期間	15日間 (25℃)	Maeda <i>et al.</i> (1998)

(佐藤ら, 2003; 栽培技研, 30: 101-109, より^{*19)})

そのため、種苗生産を開始する前の施設の十分な殺菌消毒も重要な防除対策になると考えられている^{3,8)}。これらも加味し、日頃の飼育環境の清浄化に努め、衛生的な環境を維持することが最も基本的な防除対策であると考えられる。

また、飼育水槽間の器具の共用の禁止、飼育水槽間のエアレーションなどによる飛沫感染の防止等に注意を払う必要がある。これらの水槽や使用器具については、PRDV (WSSV) に有効な不活化効果のある薬剤が報告されているので^{7,1-7,3)}、用途に見合った消毒剤を使用すれば、容易に消毒は可能である (表 5-4-7)。

9. おわりに

産卵後の受精囊からの WSSV 検出に基づく受精卵の選別とヨード剤を用いた卵消毒とを組み合わせた方法は、種苗生産過程における WSD 防除対策に有効な方法であることが判明した。しかし、シーズン中にすでに産卵を繰り返している可能性がある夏期に漁獲される親エビにおいて WSSV の検出率の上昇がみられる傾向があることから、親エビで陽性率が上昇した際には必要な受精卵数を確保できず種苗生産が困難になるケースも考えられる。そのためにも、前述した早い時期 (4~6 月) に漁獲される親エビから採卵を行うことも防除対策の一つになり得ると考えられる。

中南米における *Litopenaeus vannamei* などの養殖業では IHNV (伝染性皮下造血器壊死症) や TS (タウラ症候群) 等のウイルス病対策として SPR (specific pathogen resistant) 種苗の導入が報告されている^{4,2)}。しかし、放流種苗の生産において親エビは遺伝的多様性も

考慮に入れる必要があることから、放流海域から得られたものが妥当である。そうすることにより、その海域に起こり得る疾病の生き残りを親として使用する可能性が高くなる^{4,3)}。このことは、ある病原体を保有していないだけでなくその病気に対して抵抗性を有していることが保証されることにもなる^{4,3)}。病原体を保有していないかもしくは抵抗性を持つ親から病原体フリーの放流種苗を得ることが可能となれば、自然界での病原体の存在量を下げることにつながるかもしれない。さらに、親エビの入手を確実にするためにも、このような天然親エビから得られた種苗からの採卵用親エビの養成技術の開発が強く望まれ、ウイルスフリーの親エビ養成技術が確立されれば、垂直伝播の防除対策の最も大きな対策となり得るものと考えられる。そして、本稿で述べたあらゆる対策を総合的に講じることにより、WSD 防除を図ることができると言っても過言ではない。

(佐藤 純)

文 献

- 1) Sano T, Nishimura T, Oguma K, Momoyama K, Takeo N. Baculovirus infection of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus* in Japan. *Fish Pathol.* 1981; **15**: 185-191.
- 2) 桃山和夫. クルマエビ稚仔のバキュロウイルス性中腸腺壊死症 (BMN) に関する研究. 山口県内海水産試験場報告, No20, 1991; 1-91.
- 3) Inouye K, Yamano K, Ikeda N, Kimura T, Nakano H, Momoyama K, Kobayashi J, Miyajima S. The penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV), which causes penaeid

- acute viremia (PAV). *Fish Pathol.* 1996; **31**: 39-45.
- 4) 中野平二, 河邊 博, 梅沢 敏, 桃山和夫, 平岡三登里, 井上 潔, 大迫典久. 1993 年に西日本で発生した養殖クルマエビの大量死: 発生状況および感染実験. *魚病研究* 1994; **29**: 135-139.
 - 5) 佐藤 純, 虫明敬一, 森広一郎, 有元 操, 今泉圭之輔, 西澤豊彦, 室賀清邦. クルマエビ種苗生産過程における PAV の発生状況. *魚病研* 1999; **34**: 33-38.
 - 6) 倉田 博. クルマエビ幼生の発育段階区分と名称. *クルマエビ栽培漁業の手引き* (さいばい叢書 No. 1). 日本栽培漁業協会, 東京, 1986; 286-287.
 - 7) 本尾 洋. I. 生態・成熟 1. クルマエビ属. 「水産学シリーズ No. 71 エビ・カニ類の種苗生産」(平野礼次郎編) 恒星社厚生閣, 東京, 1988: 9-27.
 - 8) Hudinaga M. Reproduction, development and rearing of *Penaeid japonicus*, Bate. *Jap J Zool.* 1942; **1**: 305-393. pls 16-46.
 - 9) Momoyama K, Hiraoka M, Inouye K, Kimura T, Nakano H. Diagnostic techniques of the rod-shaped nuclear virus infection in the kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*. *Fish Pathol.* 1995; **30**: 263-269.
 - 10) 桃山和夫, 平岡三登里, 中野平二, 川辺 博, 井上潔, 大迫典久. 1993 年に西日本で発生した養殖クルマエビの大量死. 病理組織観察. *魚病研究* 1994; **29**: 141-148.
 - 11) 井上 潔, 三輪 理, 大迫典久, 中野平二, 木村武志, 桃山和夫, 平岡三登里. 1993 年に西日本で発生した養殖クルマエビの大量死: 電顕観察による原因ウイルスの検出. *魚病研究* 1994; **29**: 149-158.
 - 12) Miyazaki T, Yamaguchi K, Yasumoto S, Takahashi Y. Electron microscopy on the heart of kuruma prawn *Penaeus japonicus* artificially infected with penaeid rod-shaped DNA virus. *Fish Pathol.* 2008; **43**: 97-105.
 - 13) 鴨志田正晃, 高橋 誠, 水田洋之介. 種苗生産過程の海産魚介類における疾病発生状況 (1994 ~ 1999). *栽培技研* 2005; **32**: 15-24.
 - 14) Momoyama K, Hiraoka M, Inouye K, Kimura T, Nakano H, Yasui M. Mass mortalities in the production of juvenile greasyback shrimp, *Metapenaeus ensis*, caused by penaeid acute viremia (PAV). *Fish Pathol.* 1997; **32**: 51-58.
 - 15) Wang CS, Tsai YJ, Kou GH, Chen SN. Detection of white spot disease virus infection in wild-caught greasy back shrimp, *Metapenaeus ensis* (de Haan) in Taiwan. *Fish Pathol.* 1997; **32**: 35-41.
 - 16) 虫明敬一, 有元 操, 佐藤 純, 森 広一郎. 天然クルマエビ成体からの PRDV の検出. *魚病研究* 1998; **33**: 503-509.
 - 17) Mushiake K, Shimizu K, Satoh J, Mori K, Arimoto M, Ohsumi S, Imaizumi K. Control of penaeid acute viremia (PAV) in *Penaeus japonicus*: Selection of eggs based on the PCR detection of the causative virus (PRDV) from receptaculum seminis of spawned broodstock. *Fish Pathol.* 1999; **34**: 203-207.
 - 18) Satoh J, Mushiake K, Mori K, Arimoto M, Imaizumi K. Control of penaeid acute viremia (PAV) in seed production of *Penaeus japonicus*. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult.* 2001; **Suppl 5**: 95-99.
 - 19) 佐藤 純, 虫明敬一, 森 広一郎, 有元 操, 今泉圭之輔. 種苗生産過程におけるクルマエビの急性ウイルス血症 (PAV) の防除対策. *栽培技研* 2003; **30**: 101-109.
 - 20) Maeda M, Itami T, Furumoto A, Hennig O, Imamura T, Kondo M, Hirono I, Aoki T, Takahashi Y. Detection of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV) in wild-caught shrimp and other crustaceans. *Fish Pathol.* 1998; **33**: 373-380.
 - 21) Momoyama K. Detection of white spot syndrome virus (WSSV) from small penaeid shrimp species caught in the western Seto Inland Sea. *Fish Pathol.* 2003; **38**: 81-85.
 - 22) Wu JL, Namikoshi A, Nishizawa T, Mushiake K, Teruya K, Muroga K. Effects of shrimp density on transmission of penaeid acute viremia in *Penaeus japonicus* by cannibalism and the waterborne route. *Dis. Aquat. Org.* 2001; **47**: 129-135.
 - 23) 井上 潔, 三輪 理, 大迫典久, 中野平二, 木村武士, 桃山和夫, 平岡三登里. 1993 年に西日本で発生した養殖クルマエビの大量死: 電顕観察による原因ウイルスの検出. *魚病研究* 1994; **29**: 149-158.
 - 24) Inouye K, Yamano K, Ikeda N, Kimura T, Nakano H, Momoyama K, Kobayashi J, Miyajima S. The penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV), which causes penaeid acute viremia (PAV). *Fish Pathol.* 1996; **31**: 39-45.
 - 25) Muroga K. Viral and bacterial diseases of marine fish and shellfish in Japan hatcheries. *Aquaculture* 2001; **202**: 23-44.
 - 26) Takahashi Y, Itami T, Maeda M, Suzuki N, Kasornchandra J, Supamattaya K, Khongpradit R, Boonyaratpalin S, Kondo M, Kawai K, Kusuda R, Hirano I, Aoki T. Polymerase chain reaction (PCR)

- amplification of bacilliform virus (RV-PJ) DNA in *Penaeus japonicus* Bate and systemic ectodermal and mesodermal baculovirus (SEMBV) DNA in *Penaeus monodon* Fabricius. *J. Fish Dis.* 1996; **19**: 399-403.
- 27) Lo CF, Leu JH, Ho CH, Chen CH, Peng SE, Chen YT, Chou CM, Yeh PY, Huang CJ, Chou HY, Wang CH, Kou GH. Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. *Dis. Aquat. Org.* 1996; **25**: 133-141.
 - 28) Wang Q, Poulos BT, Lightner DV. Protein analysis of geographic isolates of shrimp white spot syndrome virus. *Arch. Virol.* 2000; **145**: 263-274.
 - 29) Lightner DV. A handbook of pathology and diagnostic procedures for diseases of penaeid shrimp. Special publication of the World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 1996.
 - 30) 桃山和夫, 平岡三登里, 中野平二, 河邊 博, 井上 潔, 大迫典久. 1993 年に西日本で発生した養殖クルマエビの大量死: 病理組織観察. 魚病研究 1994; **29**: 141-148.
 - 31) Wang YG, Lee KL, Najiah N, Shariff M, Hassan MD. A new bacterial white spot syndrome (BWSS) in cultured tiger shrimp *Penaeus monodon* and its comparison with white spot syndrome (WSS) caused by virus. *Dis. Aquat. Org.* 2000; **41**: 9-18.
 - 32) Wu JL, Namikoshi A, Nishizawa T, Mushiaki K, Teruya K, Muroga K. Effects of shrimp density on transmission of penaeid acute viremia in *Penaeus japonicus* by cannibalism and the waterborne route. *Dis. Aquat. Org.* 2001; **47**: 129-135.
 - 33) Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA. Virus Taxonomy. Classification and nomenclature on the taxonomy of viruses. Eighth report of the international committee on the taxonomy of viruses. Virology division international union of microbiological societies. elsevier academic press. 2005; 187-192.
 - 34) Wongteerasupaya C, Vickers JE, Sriurairatana S, Nash GL, Akarajamorn A, Boonsaeng V, Panyim S, Tassanakajon A, Withyachumnarnkul B, Flegel TW. A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Org.* 1995; **2**: 69-77.
 - 35) van Hulten MCW, Westenberg M, Goodall SD, Vlak JM. Identification of two major virion protein genes of white spot syndrome virus of shrimp. *Virology* 2000; **266**: 277-236.
 - 36) van Hulten MCW, Goldbach RW, Vlak JM. Three functionally diverged major structural proteins of white spot syndrome virus evolved by gene duplication. *J. Gen. Virol.* 2000; **81**: 2525-2529.
 - 37) van Hulten MCW, Witteveldt J, Snippe M, VlakJM. White spot syndrome virus envelope protein VP28 is involved in the systemic infection of shrimp. *Virology* 2001; **285**: 228-233.
 - 38) Tsai JM, Wang HC, Leu JH, Wang AHJ, Zhuang Y, Walker PJ, Kou GH, Lo CF. Identification of the nucleocapsid, tegument, and envelope proteins of the shrimp white spot syndrome virus virion. *J. Virol.* 2006; **80**: 3021-3029.
 - 39) Yang F, He J, Lin X, Li Q, Pan D, Zhang X, Xu X. Complete genome sequence the shrimp white spot bacilliform virus. *J. Virol.* 2001; **75**: 11811-11820.
 - 40) Chen LL, Leu JH, Huan CJ, Chou CM, Chen SM, Wang CH, Lo CF, Kou GH. Identification of a nucleocapsid protein (VP35) gene of shrimp white spot syndrome virus and characterization of the motif important for targeting VP35 to the nuclei of transfected insect cells. *Virology* 2002; **293**: 44-53.
 - 41) Wang YC, Lo CF, Chang PS, Kou GH. Experimental infection of white spot baculovirus in some cultured and wild decapods in Taiwan. *Aquaculture* 1998; **164**: 221-231.
 - 42) Jory DE, Dixon HM. Shrimp white spot syndrome virus in the western hemisphere. *Aquac. Mag.* 1999; **25**: 83-91.
 - 43) 木村武志, 山野恵祐, 中野平二, 桃山和夫, 平岡三登里, 井上 潔. PCR 法による PRDV の検出. 魚病研究 1996; **31**: 93-98.
 - 44) Lo CF, Ho CH, Peng SE, Chen CH, Hsu HC, Chiu YL, Chang CF, Liu KF, Su MS, Wang CH, Kou GH. White spot syndrome baculovirus (WSBV) detected in cultured and captured shrimp, crabs and other arthropods. *Dis. Aquat. Org.* 1996; **27**: 215-225.
 - 45) Durand S, Lightner DV, Nunan LM, Redman RM, Mari J, Bonami JR. Application of gene probes as diagnostic tools for white spot baculovirus (WSBV) for penaeid shrimp. *Dis. Aquat. Org.* 1996; **27**: 59-66.
 - 46) Wongteerasupaya C, Wongwisansri S, Boonsaeng V, Panyim S, Pratanpipat P, Nash GL, Withyachumnarnkul

- B, Flegel TW. DNA fragment of *Penaeus monodon* baculovirus PmNOBII gives positive in situ hybridization with viral infections in 6 penaeid shrimp species. *Aquaculture* 1996; **143**: 23-32.
- 47) Lo CF, Ho CH, Chen CH, Liu KF, Chiu KY, Yeh PY, Peng SE, Hsu HC, Liu HC, Chang CF, Su MS, Wang CH, Koh GH. Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *Penaeus monodon* with a special emphasis on reproductive organs. *Dis. Aquat. Org.* 1997; **30**: 53-72.
- 48) Zhan WZ, Wang YH, Fryer JL, Okubo K, Fukuda H, Yu K, Meng QX. Production of monoclonal antibodies (Mabs) against white spot syndrome virus (WSSV). *J. Aquat. Anim. Health* 1999; **11**: 17-22.
- 49) Poulos BT, Pantoja CR, Bradley-Dunlop D, Aguilar J, Lightner DV. Development and application of monoclonal antibodies for the detection of white spot syndrome virus of penaeid shrimp. *Dis. Aquat. Org.* 2001; **47**: 13-23.
- 50) Chang PS, Chen HC, Wang YC. Development and evaluation of a dot blot analysis for the detection of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in *Penaeus monodon*. *Fish Pathol.* 1998; **33**: 45-52.
- 51) You Z, Nadala ECB, Yang J, van Hulten MCW, Loh PC. Production of polyclonal antiserum specific to the 27.5kDa envelope protein of white spot syndrome virus. *Dis. Aquat. Org.* 2002; **51**: 77-80.
- 52) Chen ZL, Wan CS, Shin HH. An assay for quantification of white spot syndrome virus using a capture ELISA. *J. Fish. Dis.* 2002; **25**: 249-251.
- 53) Tapay LM, Lu Y, Gose RB, Nadala JECB, Brock JA, Loh PC. Development of an in vitro quantal assay in primary cell culture for a non-occluded baculo-like virus of penaeid shrimp. *J. Virol. Methods* 1997; **64**: 37-41.
- 54) Kono T, Savan R, Sakai M, Itami T. Detection of white spot syndrome virus in shrimp by loop-mediated isothermal amplification. *J. Virol. Methods.* 2004; **115**: 59-65.
- 55) 水産庁養殖研究所病理部・熊本県水産研究センター. PCR による PRDV (RV-PJ) の検出法 (平成 8 年度魚病技術者研修魚病専修コース研修用資料) 日本水産資源保護協会, 東京. 1996; 1-8.
- 56) 桃山和夫, 室賀清邦. 日本の養殖クルマエビにおける病害問題. 魚病研究 2005; **40**: 1-14.
- 57) 高橋幸則, 山下泰正, 桃山和夫. 養殖クルマエビから分離された *Vibrio* 属細菌の病原性ならびに性状. 日水誌 1985; **51**: 721-730.
- 58) Takahashi Y, Itami T, Maeda M, Kondo M. Bacterial and viral disease of kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*) in Japan. *Fish Pathol.* 1998; **33**: 357-364.
- 59) Ishimaru K, Matsushita MA, Muroga K. *Vibrio penaeicida* sp. nov., a pathogen of kuruma prawns (*Penaeus japonicus*). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1995; **45**: 134-138.
- 60) de la Peña LD, Tamaki T, Momoyama K, Nakai T, Muroga K. Characteristic of the causative bacterium of vibriosis in the kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture* 1993; **115**: 1-12.
- 61) de la Peña LD, Koube H, Nakai T, Muroga K. Dynamics of *Vibrio* sp. PJ in organs of orally infected kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Fish Pathol.* 1995; **30**: 39-45.
- 62) 江草周三, 高橋幸則, 伊丹利明, 桃山和夫. クルマエビのビブリオ病の病理組織学的研究. 魚病研究 1998; **23**: 59-65.
- 63) 江草周三, 若林久嗣, 室賀清邦. 魚介類の感染症・寄生虫病. 恒星社厚生閣, 東京. 2004; 229-233.
- 64) Sakai T, Hirae T, Yuasa K, Kamaishi T, Matsuyama T, Miwa S, Oseko N. Mass mortality of cultured kuruma prawn *Penaeus japonicus* caused by *Vibrio nigripulchritudo*. *Fish Pathol.* 2007; **42**: 141-147.
- 65) 畑井喜司雄, 古谷航平, 江草周三. 養殖クルマエビの鰓黒病起因真菌に関する研究 - I. BG-Fusarium の分離および同定. 魚病研究 1978; **12**: 219-224.
- 66) 畑井喜司雄, 江草周三. 養殖クルマエビの鰓黒病起因真菌に関する研究 - II. BG-Fusarium に関する 2, 3 の知見. 魚病研究 1978; **12**: 225-231.
- 67) Sano T, Nishimura T, Oguma K, Momoyama K, Takeo N. Baculovirus infection of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus* in Japan. *Fish Pathol.* 1981; **15**: 185-191.
- 68) Sano T, Momoyama K. Baculovirus infection of penaeid shrimp in Japan. In: Fulks W and Main KL (eds). Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States. The Oceanic Institute, Honolulu. 1992; 169-174.
- 69) 佐藤 純, 森 広一郎, 西岡豊弘, 服部圭太, 岡雅一, 渡辺研一. ポビドンヨードを用いたクルマエビ受精卵の消毒法. 魚病研究 2006; **41**: 117-120.
- 70) 中野平二, 平岡三登里, 鮫島 守, 木村武志, 桃山和夫. クルマエビ類の急性ウイルス血症 (PAV) の原因ウイルス PRDV の不活化. 魚病研究 1998;

33: 65-71.

- 71) Chang PS, Chen LJ, Wang YC. The effect of ultraviolet irradiation, heat, pH, ozone, salinity and chemical disinfectants on the infectivity of white spot syndrome baculovirus. *Aquaculture* 1998; **166**: 1-17.
- 72) Maeda M, Kasornchandra J, Itami T, Suzuki N, Hennig O, Kondo M, Albaladejo JD, Takahashi Y. Effect of various treatments on white spot syndrome virus (WSSV) from *Penaeus japonicus* (Japan) and *P. monodon* (Thailand). *Fish Pathology*. 1998; **33**: 381-387.
- 73) Takahashi Y, Itami T, Kondo M, Maeda M, Fujii R, Tomonaga S, Supamattaya K, Boonyaratpalin S. Electron microscopy evidence of bacilliform virus infection in Kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*). *Fish Pathol.* 1994; **29**: 121-125
- 74) Chou HY, Huang CY, Wang CH, Chiang HC, Lo CF. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. *Dis. Aquat. Org.* 1995; **23**: 165-173.
- 75) Karunasagar I, Otta SK, Karunasagar I. Histopathological and bacteriological study of white spot syndrome of *Penaeus monodon* along the west coast of India. *Aquaculture* 1997; **153**: 9-13.
- 76) Chakrabarty A, Otta SK, Joseph B, Kumar S, Hossain MS, Karunasagar I, Venugopal MN, Karunasagar I. Prevalence of white spot syndrome virus in wild crustaceans along the coast of India. *Current Science*. 2002; **82**: 1392-1397.
- 77) Momoyama K, Hiraoka M, Venegas CA. Pathogenicity of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV) to juveniles of six crustacean species. *Fish Pathol.* 1999; **34**: 183-188
- 78) Rajendran KV, Vijayan KK, Santiago TC, Krol RM. Experimental host range and histopathology of white spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp, prawns, crabs and lobsters from India. *J. Fish. Dis.* 1999; **22**: 183-191
- 79) Huang J, Song XL, Yu J, Yang CH. Baculoviral hypodermal and hematopoietic necrosis: study on the pathogen and pathology of the explosive epidemic disease of shrimp. *Mar. Fish. Res.* 1995; **16**: 1-10.
- 80) Flegel TW. Major viral diseases of the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand. *World J. Microbiol. Biotech.* 1997; **13**: 433-442.
- 81) Rajendran KV, Vijayan KK, Santiago TC, Krol RM. Experimental host range and histopathology of white spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp, prawns, crabs and lobsters from India. *J. Fish. Dis.* 1999; **22**: 183-191
- 82) Lightner DV, Redman RM. Strategies for the control of viral disease of shrimp in the Americas. *Fish Pathol.* 1998; **33**: 165-180.
- 83) Soto MA, Lotz JM. Epidemiological parameters of white spot syndrome virus infections in *Litopenaeus vannamei* and *L. setiferus*. *J. Invertebr. Pathol.* 2001; **78**: 9-15.
- 84) Rodriguez J, Bayot B, Amano Y, Panchana F, de Blas I, Alday V, Calderon J. White spot syndrome virus infection in cultured *Penaeus vannamei* (Boone) in Ecuador with emphasis on histopathology and ultrastructure. *J. Fish Dis.* 2003; **26**: 439-450.
- 85) Lan Y, Lu W, Xu X. 2002. Genomic instability of prawn white spot bacilliform virus (WSBV) and its association to virus virulence. *Virus Res.* 2002; **90**: 269-274.
- 86) Chang PS, Chen HC, Wang YC. Detection of white spot syndrome associated baculovirus in experimentally infected wild shrimp, crab and lobsters by in situ hybridization. *Aquaculture* 1998; **164**: 233-242.
- 87) Hossain MS, Chakrabarty A, Joseph B, Otta SK, Karunasagar I. Detection of new hosts for white spot syndrome virus of shrimp using nested polymerase chain reaction. *Aquaculture* 2001; **198**: 1-11.
- 88) Supamattaya K, Hoffmann RW, Boonyaratpalin S, Kanchanaphum P. Experimental transmission of white spot syndrome virus (WSSV) from black tiger shrimp *Penaeus monodon* to the sand crab *Portunus pelagicus*, mud crab *Scylla serrata* and krill *Acetes* sp. *Dis. Aquat. Org.* 1998; **32**: 79-85.
- 89) Takahashi Y, Fukuda K, Kondo M, Chongthaleong A, Nishi K, Nishimura M, Ogata K, Shinya I, Takise K, Fujishima K, Matsumura M. Detection and prevention of WSSV infection in cultured shrimp. *Asian Aquaculture Magazine* November/December. 2003; 25-27.
- 90) Corbel V, Zuprizal SZ, Huang C, Sumartono AJM, Bonami JR. Experimental infection of European crustaceans with white spot syndrome virus (WSSV). *J. Fish Dis.* 2001; **24**: 377-382.
- 91) Pramod KRB, Rajendran KV, Jung SJ, Oh MJ. Experimental susceptibility of different life-stage of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man), to white spot syndrome virus (WSSV). *J. Fish Dis.* 2002; **25**: 201-207.
- 92) Jiravanichpaisal P, Bangyeekhun E, Söderhäll K,

- Söderhäll I. Experimental infection of white spot syndrome virus in freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Dis. Aquat. Org.* 2001; **47**: 151-157
- 93) Edgerton BF. Susceptibility of the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor albidus* to white spot syndrome virus (WSSV). *Dis. Aquat. Org.* 2004; **59**: 187-193.
- 94) Shi Z, Huang C, Zhang J, Chen D, Bonami JR. White spot syndrome virus (WSSV) experimental infection of the freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *J. Fish Diseases*. 2000; **23**: 285-288.
- 95) Hameed AS, Balasubramanian G, Musthaq SS, Yoganandhan K. Experimental infection of twenty species of Indian marine crabs with white spot syndrome virus (WSSV). *Dis. Aquat. Org.* 2003; **57**: 157-161.
- 96) Kanchanaphum P, Wongteerasupaya C, Sitidilokratana N, Boonsaeng, V Panyim S, Tassanakajon A, Withyachumnarnkul B, Flegel TW. Experimental transmission of white spot syndrome virus (WSSV) from crabs to shrimp *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Org.* 1998; **34**: 1-7.
- 97) Chen LL, Lo CF, Chiu YL, Chen CF, Kou GH. Natural and experimental infection of white spot syndrome virus (WSSV) in benthic larvae of mud crab *Scylla serrata*. *Dis. Aquat. Org.* 2000; **40**: 157-161.
- 98) Li Q, Zhang J, Chen Y, Yang F. White spot syndrome virus (WSSV) infectivity for *Artemia* at different developmental stages. *Dis. Aquat. Org.* 2003; **57**: 261-264.
- 99) Yan DC, Dong SL, Huang J, Yu XM, Feng MY, Liu XY. White spot syndrome virus (WSSV) detected by PCR in rotifers and rotifer resting eggs from shrimp pond sediments. *Dis. Aquat. Org.* 2004; **59**: 69-73.
- 100) Zhang JS, Dong SL, Tian XL, Dong YW, Liu XY, Yan DC. Studies on the rotifer (*Brachionus urceus* Linnaeus, 1758) as a vector in white spot syndrome virus (WSSV) transmission. *Aquaculture* 2006; **261**: 1181-1185.
- 101) Yan DC, Dong SL, Huang J, Zhang JS. White spot syndrome virus (WSSV) transmission from rotifer inoculum to crayfish. *J. Invertebr. Pathol.* 2007; **94**: 144-148.
- 102) 佐藤 純. クルマエビのホワイトスポット病 WSD (White spot disease) の防除対策に関する研究. 水研報 2012; **36**: 57-106.