

# 魚類養殖試験－Ⅱ

## マダイイリドウイルス病対策試験

田中真二・井上美佐・栗山 功・西村昭史

### 目 的

養殖マダイを中心に毎年被害を及ぼしているイリドウイルス病に対しては、給餌制限や低密度飼育、ビタミン剤の投与といった飼育管理内容の改善が被害の軽減につながるのではないかとされている。これらのうち給餌制限については、昨年度までに行った飼育試験により、ウイルス感染後に10日間程度絶食することにより被害軽減が期待できることが確認されている。今年度はウイルス感染前の給餌制限および低密度飼育による本病の予防効果について検討する。

### 材料および方法

#### 1. 給餌制限

平均体重3.1gのマダイ人工種苗を2個の1t水槽に210尾ずつ収容し、飽食給餌区および制限給餌区とした。飼料には市販マダイ用エクストルーダーペレットを用いた。日間給餌率は飼育開始から8週間（7月19日～9月12日）は飽食給餌区で6%、制限給餌区で4%とし、1日2回に分けて日曜日を除く毎日給餌した。8週間経過後は両区とも1日2回の飽食給餌としてさらに4週間（9月13日～10月11日）飼育し、生育を比較した。魚体測定は試験開始から4週間毎に行い、各区の供試魚の総体重を測定した。

また飼育開始から4週間後に両区の魚のうち80尾を用い、表1のとおりイリドウイルスの人為感染試験を2群に分けて行った（低濃度ウイルス感染群、高濃度ウイルス感染群）。各群とも1区および3区には飽食給餌区の、また2区および4区には制限給餌区の魚をそれぞれ20尾ずつ供試し、1区および2区はウイルス感染から試験終了まで絶食する区、3区および4区は日間給餌率4%で毎日1回給餌する区とした。各区の供試魚を3ℓの海水に収容し、80℃で凍結保存しておいたマダイ病魚の脾臓をMEMで100倍に希釈して磨砕、濾過して得たウイルス液を加え、通気しながら1.5時間浸漬してウイルスを感染させた。浸漬海水のウイルス感染価はBF-2細胞を用いて測定した供試ウイルス液の感染価と海水による希釈率から、低濃度ウイルス感染群では $10^{0.8}$  TCID<sub>50</sub>/mℓ、

高濃度ウイルス感染群では $10^{1.3}$  TCID<sub>50</sub>/mℓと計算された。ウイルス感染時の各区の魚の平均体重は11.2～15.5gであった。ウイルス感染後は各区の供試魚を8個の100ℓアクリル水槽に収容して流水（100ℓ/時）で飼育し、市販マダイ用EPを給餌または絶食して17日間経過を観察した。試験期間中の水温は26.1～28.2℃であった。死亡魚については脾臓のスタンプ標本を作製し、抗マダイイリドウイルス単クローン抗体を用いた間接蛍光抗体法により特異蛍光の有無を観察し、イリドウイルス病による死亡であることを確認するとともに、常法により体表および鰓の寄生虫検査ならびに腎臓の細菌検査を行った。なお各区の累積死亡率について $\chi^2$ 検定により有意差の検定を行った。

#### 2. 低密度飼育

飼育試験は尾鷲湾内に設置した、尾鷲分場の海面小割網（2×2×2m）を用いて行った。平均体重6.1gのマダイ人工種苗を3張の小割網に異なる尾数（400尾、1,200尾、4,500尾）収容し、7月19日から9月29日までの72日間飼育し、イリドウイルス病の自然発病による死亡率を比較した。飼育期間中の給餌は7月19日～8月1日は5回/週、8月2日～9月29日は4回/週とし、1日1回午前中に市販のマダイ用EPを飽食給餌した。飼育期間中の2m層の水温は23.1～28.5℃であった。死亡魚は毎日1回採取して計数し、また8月11日から9月16日の間にこれらの死亡魚のうち1区の14尾、2区の22尾、3区の30尾について前記と同様にイリドウイルス、寄生虫および細菌検査を行った。

また飼育開始から4週間後に各区の魚の一部を用い、以下のとおりイリドウイルスの人為感染試験を行った。各区から無作為に40尾ずつ採取して6ℓの海水に収容し、前記と同様のウイルス液を加えた海水（ $10^{0.8}$  TCID<sub>50</sub>/mℓ海水）に1.5時間浸漬して感染させた。ウイルス感染時の各区の魚の平均体重は13.4～15.5gであった。ウイルス感染後は各区の供試魚を3個の200ℓ塩化ビニル水槽に収容して流水（200ℓ/時）で飼育し、感染後10日間絶食、その後は1日1回市販マダイ用EPを飽食給餌

して20日間経過を観察した。試験期間中の水温は26.3～27.5℃であった。死亡魚については前記と同様にイリドウイルス、寄生虫および細菌検査を行った。

なお海面小割網での飼育試験、人為感染試験のいずれについても、各区の累積死亡率について $\chi^2$ 検定により有意差の検定を行った。

## 結果および考察

### 1. 給餌制限

人為感染試験におけるイリドウイルス病による死亡状況を表1に示した。死亡魚の検査において死因と考えられる寄生虫および細菌は検出されず、脾臓のスタンプ標本によるウイルス検査の結果、死亡魚98尾の全てにおいて特異蛍光が観察され、本病による死亡と判断された。ウイルス感染後に4%給餌した3区および4区の死亡率は、低濃度ウイルス感染群では両区とも75%、高濃度ウイルス感染群では両区とも90%であり、いずれの群でも感染前の制限給餌による死亡率低減効果はみられなかった。一方ウイルス感染後に絶食した1区および2区の死亡率は、低濃度ウイルス感染群では1区の45%に対して2区は35%、高濃度ウイルス感染群では1区の55%に対して2区は25%であり、いずれのウイルス濃度群でも感染前に制限給餌していた魚の死亡率が低く、高濃度ウイルス感染群では有意差 ( $p < 0.05$ ) がみられた。なおウイルス感染後に給餌した1, 2区と絶食した3, 4区の間で死亡率を比較すると、いずれのウイルス濃度群でも絶食した1, 2区の方が死亡率が低く、有意差 ( $p < 0.05$ ) がみられた。これまでに行った飼育試験においてもウイルス感染後の絶食による死亡率低減効果が認められており、本試験においてもその効果が再確認された。

12週間所定の給餌率で飼育したマダイの飼育成績を表

2および図1に示した。日間給餌率6%および4%で給餌した期間の平均体重は、飼育開始から4週間後の8月15日では飽食給餌区が13.0gに対して制限給餌区が10.4g、8週間後の9月12日では飽食給餌区が25.5gに対して制限給餌区が18.7gであり、制限給餌区の成長は飽食給餌区に比べて劣る傾向がみられた。しかしその後9週間目から両区とも飽食給餌に切り替えた結果、飼育開始から12週間後の10月11日の体重は飽食給餌区が39.5g、制限給餌区が36.5gとなり、両区間の成長差は改善された。また増肉係数は飼育開始からの4週間では飽食給餌区が0.92に対して制限給餌区が0.83、4～8週間では飽食給餌区が1.26に対して制限給餌区が1.19、8～12週間では飽食給餌区が1.42に対して制限給餌区が1.34であり、飼育期間中一貫して制限給餌区の方が優れていた。なお全飼育期間中の死亡率は飽食給餌区が5.7%、制限給餌区が15.2%であったが、その多くは水槽からの飛び出し事故によるものであり、死亡率と給餌率との関連は不明であった。

以上の結果から、イリドウイルス病の発生前は予防的に給餌制限を行い、さらに本病が発生した場合は絶食することにより、本病による被害の軽減効果が期待できると思われる。また制限給餌中はやや成長が鈍化する可能性があるが、その後の給餌率の調整により成長差は改善されるのではないと思われる。ただし、今回設定した給餌方法、つまり飽食量(日間給餌率6%)の3分の2(4%)を毎日給餌する方法が本病による被害軽減のための給餌制限として最も効果的であるかどうかは不明であり、今後抗病性、成長速度、経済性(増肉係数)等を考慮した適正給餌率および給餌頻度について飼育試験例を蓄積する必要がある。

表1 異なる給餌率で飼育したマダイのイリドウイルス人為感染による死亡状況

攻撃ウイルス濃度* <sup>1</sup>	区	日間給餌率(%)		感染時の体重(g)	死亡尾数											死亡率(%)	
		感染前	感染後		1~8	9	10	11	12	13	14	15	16	17* <sup>2</sup>			
低濃度	1	6	0	14.1			1	3	3	1	1						45 <sup>a</sup>
	2	4	0	13.1					1	2	2	1	1				35 <sup>a</sup>
	3	6	4	14.2					4	5	3	3					75 <sup>b</sup>
	4	4	4	11.2					1	7	4	3					75 <sup>b</sup>
高濃度	1	6	0	15.1		1	2	1	2	1	1	3					55 <sup>a</sup>
	2	4	0	13.6					1		1	2	1				25 <sup>b</sup>
	3	6	4	15.5		1	1	6	5	3	1		1				90 <sup>c</sup>
	4	4	4	11.9					1	6	5	4	1	1			90 <sup>c</sup>

各区の供試尾数：20尾

\*<sup>1</sup>低濃度群： $10^{0.8}$ TCID<sub>50</sub>/ml, 高濃度群： $10^{1.3}$ TCID<sub>50</sub>/ml

\*<sup>2</sup>ウイルス感染後の経過日数

<sup>a</sup><sup>b</sup>異符号間に有意差あり ( $p < 0.05$ )

表2 異なる給餌率で飼育したマダイの飼育成績

飼育期間 区	7.19～8.15		8.16～9.12		9.13～10.11		7.19～10.11	
	飽食	制限	飽食	制限	飽食	制限	飽食	制限
供試尾数*	210	210	130	121	122	110	210	210
平均体重(g)								
開始時	3.1	3.1	13.0	10.4	25.5	18.7	3.1	3.1
終了時	13.0	10.4	25.5	18.7	39.5	36.5	39.5	36.5
補正増重量(g)	2088.6	1522.6	1662.9	1040.5	1685.8	1761.4	5437.3	4324.5
補正増重率(%)	320.8	233.9	106.4	90.5	54.2	85.4	935.2	764.3
給餌量(g)	1912.3	1270.4	2091.6	1235.4	2397.7	2361.4	6401.6	4867.2
増肉係数	0.92	0.83	1.26	1.19	1.42	1.34	1.18	1.13
死亡率(%)	0	4.3	6.1	9.0	3.3	10.9	5.7	15.2

\*8月15日に両区の魚のうち80尾を人為感染試験に供試したため、8月16日以降は供試尾数が減少している。

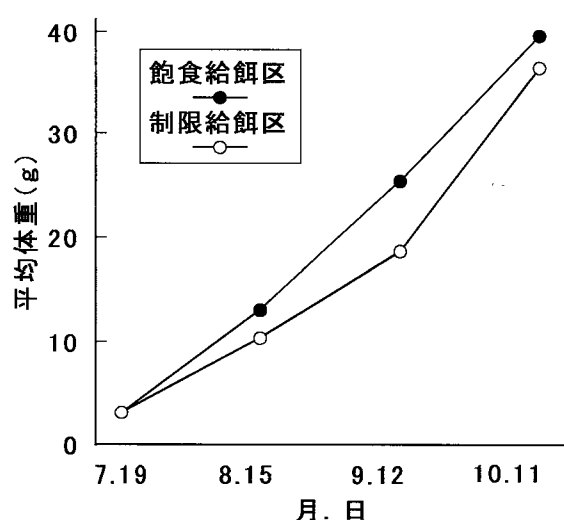


図1 異なる給餌率で飼育したマダイの体重の推移

## 2. 低密度飼育

海面小割網での飼育試験における死亡状況と2m層の水温の推移を図2に示した。いずれの区も8月上旬までは異常はみられなかったが、4,500尾区では徐々に体表にスレのある魚が目立つようになり、8月10日頃から死亡魚が増加し始めた。8月20日には検査魚9尾のうち6尾がイリドウイルス陽性であり、他に死因となる寄生虫や細菌は検出されなかったことから、イリドウイルス病による死亡であることが確認された。本病による死亡の発生は9月10日まで続き、この間の死亡率は47.2%であった。1,200尾区では本病の発生は4,500尾区より10日遅い8月30日に確認されてから9月24日まで続き、この間の死亡率は32.0%と、4,500尾区より低かった。400尾区では本病の発生は1,200尾区よりさらに3日遅い9月3日に確認されてから9月22日まで続いたが、この間の死亡

率は9.3%にとどまった。このように飼育密度の低い区ほど試験期間中のイリドウイルス病による死亡率は低く、それぞれ有意差 ( $p < 0.01$ ) がみられた。

人為感染試験におけるイリドウイルス病による死亡状況を表3に示した。死亡魚の検査において死因と考えられる寄生虫および細菌は検出されず、脾臓のスタンプ標本によるウイルス検査の結果、死亡魚41尾のうち37尾において特異蛍光が観察され、本病による死亡と判断された。しかし残りの4尾は死亡原因が不明であり、これらはイリドウイルス病による死亡尾数から除いた。試験期間中の死亡率は400尾区が25.0%、1,200尾区が37.5%、4,500尾区が30.0%であり、海面小割網での飼育試験とは異なりウイルス感染前の飼育密度との関連はみられなかった。この原因としては、攻撃ウイルス濃度が低く、全体的に死亡率が低かったことや、陸上水槽に収容後は各区とも同じ尾数で飼育したため、生体防御機能の区間差が海面飼育時より小さくなった可能性等が考えられるが、詳細は不明である。

以上のように、人為感染試験では関連はみられなかったものの、海面小割網での飼育試験において、飼育密度とイリドウイルス病の自然発生による死亡率との間に強い関連がみられ、低密度飼育による本病の被害軽減効果が確認された。田中ら (1996) はいずれの養殖業者も同じ由来の種苗を用い、小割網の大きさや給餌方法にも大差ない漁場についてマダイ0歳魚の飼育尾数と本病による死亡率との関連について調査し、飼育尾数の少ない小割ほど死亡率が低かったことを報告している。これらのことから、本病に対しては、低密度で飼育することにより被害軽減効果が期待できると思われる。

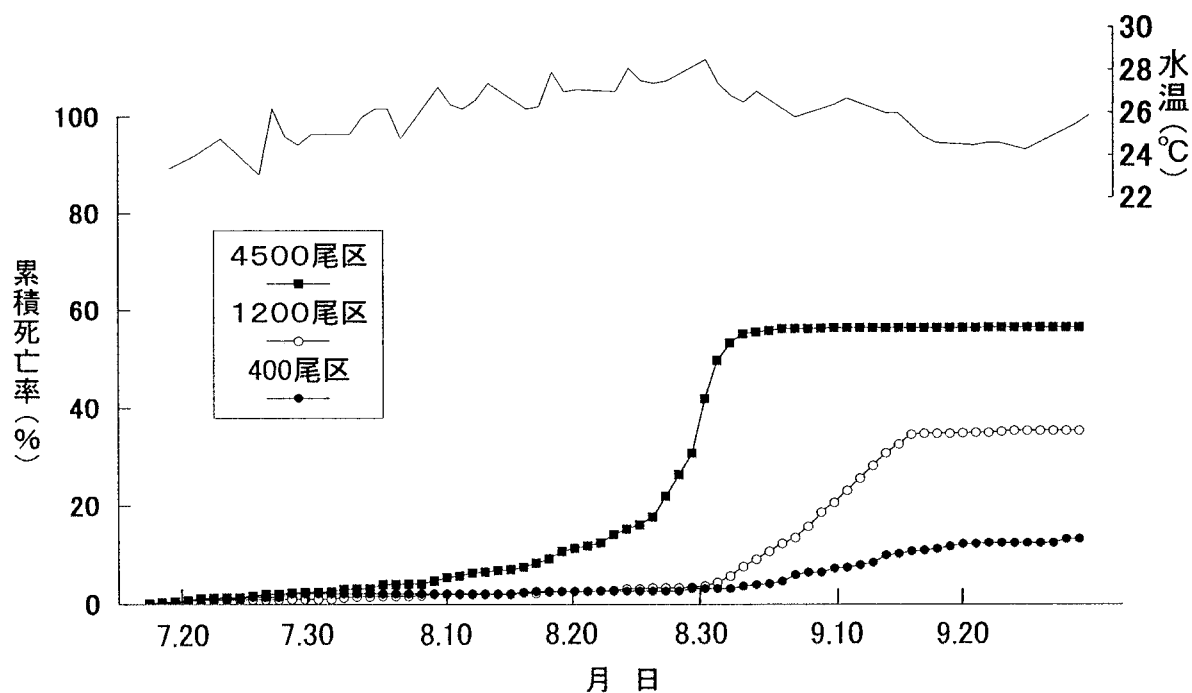


図2 異なる密度で飼育したマダイの死亡状況

表3 異なる飼育密度で飼育したマダイのイリドウイルス人為感染による死亡状況

ウイルス感染前の 飼育密度(尾/小割)	体重 (g)	死亡尾数																			死亡率 (%)
		0~9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20*								
400	13.4						2	4	3				1	25.0							
1,200	15.5			1	1	4	2	2	1	2	1		1	37.5							
4,500	14.8	3				2	3		2	1			1	30.0							

\*ウイルス感染後の経過日数