IPNV ウイルス接種時水温と飼育水温がニジマス稚魚の へい死に及ぼす影響

岡本 信明, 安富 亮平, 柴崎 弘之,
半沢 貞彦, 佐野 徳夫

(1986 年 11 月 15 日受理)

The Influence of Immersing Temperature for Inoculation with IPNV and/or Rearing Temperature on Mortality of Rainbow Trout Fry Postinfection

Nobuaki Okamoto,* Ryohei Yasutomi,* Hiroyuki Shibazaki,*
Sadahiko Hanzawa,* and Tokuo Sano*

The influence of immersing temperature for inoculation with IPNV and/or rearing temperature on mortality of rainbow trout fry *Salmo gairdneri* postinfection was studied. An IPNV-Buhl strain which is the most dominant IPNV-serotype in Japan was used as a challenge virus and a highly sensitive strain to IPNV (RT-101 strain, 0.13 g in B. W.) was used as an experimental fish in this study. The fry was immersed in $10^{5.0}$ TCID₅₀/ml of IPNV at 5, 10, 15 and 20°C for 1 h and each group was shifted up or down to 5, 10, 15 and 20 and incubated for 28 days. As the results obtained, rearing temperature influenced the cumulative mortality of rainbow trout fry postinfection and the mortality pattern but immersing temperature for inoculation with IPNV did not. The IPNV-Buhl strain shows low or no cumulative mortality at 5°C and as high a mortality as $\geq 70\%$ cumulative mortality at 10–20°C for the fish. At 20°C the death of fry started 3 days after inoculation in spite of the different immersing temperature and the mortality pattern was the acutest, namely 50% daily mortality appeared on the first or second day after the first death. Although the cumulative mortality at 10 and 15°C was about the same as at 20°C, the daily mortality tended to become lower and the death of fry appeared until later, e.g. until 2 weeks after inoculation at 15°C and 3 weeks at 10°C.

IPN (infectious pancreatic necrosis, 伝染性膵臓壊死症) は IHN (infectious hematopoietic necrosis, 伝染性造血器壊死症) とともにサケ科魚類の稚魚に激烈な被害をもたらす伝染病として知られている。本病は Wolf *et al.*¹⁾ によって初めてウイルス病であることが明らかにされ、わが国では Sano²⁾ によって 1969 年にその流行が確認された。サケ科魚類の養殖は、年間水温がほぼ一定した地下水を利用している養魚場から、冬期 5°C 以下、夏期 20°C 以上の水温にもなるような河川水を利用しているような養魚場まで低水温帯を中心にして幅広い水温で行われている。Dorson and Torchy³⁾ は IPN ウイルス (IPNV) によるニジマス稚魚のへい死が飼育水温によって影響を受けることを報告している。しかしそれは、わが国には存在しないと考えられているヨーロッパの IPNV-Sp 株について調べたものである。わが国の IPN

ウイルス分離株の大部分は血清学的に IPNV-Buhl 株と同じであるので (Sano²⁾ 岡本ら, 未発表), 本研究では IPNV-Buhl 株を用いて, IPN ウイルス接種時の水温 (接種水温) およびその後の飼育水温のへい死率への影響を調べることを目的に, 水温を 5°C から 20°C にまで 5°C ずつ 4 段階に分け, それぞれを組み合わせで合計 16 組の接種水温と飼育水温との組合せを設定して, IPNV によるニジマス稚魚のへい死率に及ぼす接種水温と飼育水温の影響を検討した。

実験方法

供試魚には IPNV 高感受性ニジマス稚魚, *Salmo gairdneri*, (RT-101 系,^{4,5)} 餌付け後 1 週齢, 魚体重 0.13 g) を用いた。ウイルス接種には浸漬法を用いた。実験区には, 接種水温として 5, 10, 15 および 20°C ならびに接

* 東京水産大学 (Laboratory of Fish Pathology, Tokyo University of Fisheries, Konan, Minato, Tokyo 108, Japan).

種後の飼育水温として 5, 10, 15 および 20°C を設けた。すなわち, 合計 16 の実験区を設置し, 便宜上これらを 5→5°C 区, 5→10°C 区, …, 20→20°C 区と標記した。各実験区には実験水槽 3 個を用い, 対照区には実験水槽 1 個を用いた。稚魚を接種水温と異なる飼育水温へ移す場合には, 稚魚が新しい水温に馴致するよう 24 時間かけてゆっくりと水温を変化させた。感染実験装置, 供試ウイルスおよび感染実験方法は Okamoto *et al.*⁴⁾ とほぼ同じである。すなわち, 一群 75 尾の稚魚を 10^{5.0} TCID₅₀/ml の供試 IPNV-Buhl 株に 5, 10, 15 および 20°C でそれぞれ 1 h 浸漬し, その後 25 尾ずつ 3 実験水槽に収容して所定の水温 (5~20°C) で 28 日間飼育しその間のへい死尾数を毎日記録してへい死率を求めた。結果は 3 つの実験水槽から得られたへい死率の平均値で示した。対照区の稚魚はウイルス液の変わりに MEM (minimum essential medium) 液を加えて同様に処理した。

結果および考察

各実験区の累積へい死率および浸漬感染後の経過日数と日間へい死率および累積へい死率との関係を, 飼育水温 5, 10, 15 および 20°C の順に, それぞれ Fig. 1-1 から Fig. 1-4 に示した。飼育水温 5°C では, 対照区の累積へい死率が接種水温に関わらず 20~28% といずれも高かったため, 本文中ではすべての実験区の累積へい死率として対照区の累積へい死率を差し引いた値を用いた。ウイルス接種時の水温が 5, 10, 15 および 20°C いずれの場合も, 飼育水温が 5°C の場合にはその累積へい死率は最高 5%, 最低 0% と低かったが, 飼育水温が 10, 15 および 20°C の場合にはその累積へい死率は 70% 以上と高くなった。これらの結果は, 供試 IPNV-Buhl 株が 5°C 付近の低飼育水温域ではその病原性を発現しないことを示すと同時に, 10°C や 15°C の中水温域では強い病原性を発揮することはいちろんのこと, 20°C の高水温域でも強い病原性を有することが示唆された。しかし, 10°C と 15°C では累積へい死率においてほぼ 90% 以上ときわめて高かったが, 20°C ではそのへい死率が 84, 84, 70 および 72% と前者に比較するといくぶん低い値を示した。へい死のパターンは接種水温の高低に関わらず, 飼育水温ごとにほぼ一定のパターンを示した (Fig. 1-1~Fig. 1-4)。飼育水温 5°C では, 実験区のへい死はウイルス接種後 6 日目から始まったが, その後のへい死は対照区および実験区ともに散発的であった (Fig. 1-1)。飼育水温が 10°C から 20°C の間の区では, 最終的なへい死率はさほど変わらなかったが, そのへい死のパターンは飼育水温が 20°C から 10°C に下がるにつれて, へい死の開始が遅くなり, 日間へい死

率のピークは鈍く, しかも裾が広がってへい死が長期化するという一定の傾向を示した。すなわち, 飼育水温が 20°C では接種水温のいかんに関わらずへい死は接種後 3 日目から始まり, しかもその日か次の日にへい死のピークがあり, 約半数の稚魚がへい死するという激烈なものであった (Fig. 1-4)。飼育水温が 15°C では, 飼育水温 20°C のそれと比較すると, へい死の開始は 1 日か 2 日遅くなり日間へい死のピークはやや鈍ったが, それでもへい死はウイルス接種後 2 週間以内に完全に終息した (Fig. 1-3)。それに比較すると飼育水温 10°C では, 最終的には 15°C のそれと全く変わらぬ累積へい死率であったが, そのへい死パターンは大きく異なり, 日間へい死のピークは更に低くかろうじてそのピークが確認できる程度のものもあり, へい死はウイルス接種後約 3 週間後まで続いた (Fig. 1-2)。以上の実験結果は, 浸漬接種時の水温が IPN の発症には関係がなく, その後の飼育水温が IPN の発症に関係し, 累積へい死率およびそのへい死パターンに影響を与えていることを示唆している。飼育水温が低い養魚場では IPN の発病がないかあるいはあってもその程度が軽いからといって, IPNV の稚魚への汚染が拡がり難いと考えるべきではなく, 飼育水温に関わりなく稚魚の間に拡がっていくと考えるのが妥当であると考えられる。そしてこのようなところの稚魚が高水温の飼育池に移されればそこで一気に発病する可能性があることも示唆された。

Dorson and Torchy⁵⁾ はヨーロッパの IPNV-Sp 株を用いて実験を行い, 水温 10°C では 90% 以上がへい死したことを示し, 16°C ではほとんどへい死せず, 21°C では IPN の症状を示さなかったと述べている。また水温 5.5°C では感染後 3 ヶ月までへい死が続き, へい死率は 40% にまで達したことを示した。Dorson and Torchy⁵⁾ の実験でも 10°C で 90% 以上のへい死率であったことから, 用いた Sp 株および実験魚としてのニジマス稚魚はそれぞれ強毒株と IPNV に高い感受性を有するニジマスであったと考えてよいであろう。Dorson and Torchy⁵⁾ は 5×10⁴ pfu/ml の Sp 株を, 著者らは 10^{5.0} TCID₅₀/ml の Buhl 株を浸漬接種に用いているので, それを考慮にいれて著者らの実験結果と Dorson and Torchy⁵⁾ の実験結果を比較すると以下になる。IPNV-Sp 株では, 水温 16°C でのへい死率は 40% 以下であったが, IPNV-Buhl 株でのそれは 15°C で 90% 以上であった。また 20°C でも 70% 以上であった。水温 10°C と 5°C では両者ともその結果が似ていた。よって IPNV-Buhl 株は, IPNV-Sp 株より広い範囲の水温において強い病原性を示すものと考えられる。

IPNV-Sp 株は, 上述のごとく飼育水温によってその病原性に違いを示すので, Dorson and Torchy⁵⁾ は, 飼

Fig. 1. The influence of immersing temperature for inoculation with IPNV and/or rearing temperature on mortality of rainbow trout fry *Salmo gairdneri* postinfection. An IPNV-Buhl strain which is the most dominant IPNV-serotype in Japan was used for a challenge virus and a rainbow trout strain which was highly sensitive strain to IPNV (RT-101 strain, 0.13 g in B. W.) was used for an experimental fish in this study. Fry was immersed with $10^{5.0}$ TCID₅₀/ml of IPNV at 5, 10, 15 and 20°C for 1 h and each group was shifted up or down to 5, 10, 15 and 20 and incubated for 28 days. The marks of (1), (2), (3), and (4) show the rearing temperature of each group was 5, 10, 15 and 20°C, respectively. The signs such as 5→5 or 5→10 indicate immersing and rearing temperature, e.g. the sign of 10→5 shows the fry immersed at 10°C and incubated at 5°C. The letter of M shows cumulative mortality in percentage of an experiment and of a mock control. The cumulative mortality of a mock control is shown in parentheses. White and black bars of histograms show daily mortality of experiments and of mock controls, respectively.

育水温を上げてニジマス稚魚を飼育すれば IPN の発生を抑えることができると述べている。しかし、日本での IPNV 分離株のほとんどが Buhl 型株である (Sano²⁾; 岡本, 未発表) ことを考えると, 上述の実験結果より, 日本では昇温による IPN 発生の制御は困難と考えられ, Sano²⁾ が指摘しているように, むしろ降温によりその効果が期待できるものと考えられる。しかしこの点に関しては, 今後のより長期の感染実験が必要である。

謝 辞

ニジマス発眼卵の分与を頂いた埼玉県水産試験場熊谷支場の各位に心よりお礼申し上げます。本研究の一部は文部省科学研究費補助金 (No. 57480062) によって行われたことを付記し謝意を表する。

文 献

- 1) K. Wolf, S. F. Sneiszko, C. E. Dunber, and E. Pyle: *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **104**, 105-108 (1960).
- 2) T. Sano: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **37**, 495-498 (1971).
- 3) M. Dorson and C. Torchy: *J. Fish Dis.*, **4**, 213-221 (1981).
- 4) N. Okamoto, M. Tanaka, H. Fukuda, S. Suzuki, Y. Yasuda, and T. Sano: *Bull. Eur. Ass. Fish Path.*, **7**, 2-5 (1987).
- 5) 岡本信明, 松本達志, 加藤宣昭, 田崎志郎, 田中深貴男, 阿井敬雄, 花田 博, 鈴木雄策, 高松千秋, 田山卓男, 佐野徳夫: 日水誌, **53**, 1121-1124 (1987).
- 6) T. Sano: in "Symposium on the major communicable fish diseases in Europe and their control" (organized by FAO/EIFAC), Amsterdam, 1972, pp. 1-3.