

## マダイ養殖場におけるエドワジエラ症耐過魚の保菌に関する予備的疫学調査

羽生和弘・宮本敦史

Preliminary epidemiological study of carrying situation in red sea bream (*Pagrus major*)  
surviving edwardsiellosis in farms

KAZUHIRO HANYU and ATSUSHI MIYAMOTO

キーワード：マダイ，エドワジエラ症，感染耐過魚，飼育条件

To understand the risk of edwardsiellosis to survivors of the disease in red sea bream (*Pagrus major*) farms, we investigated detection rates of *Edwardsiella tarda* in survivors in January or February 2011 (the fish were introduced to the farms in June 2010) and examined their cumulative mortality from January to December 2011. Fish infected with *E. tarda* were detected from all the lots (detection rates were 3%-53%). Most of the *E. tarda*-positive fish were in a state of inapparent infection. The detection rates were positively correlated with cumulative mortality, which suggests that carriage situation in survivors affects their subsequent mortality. Therefore, mortality of survivors during the second year after their introduction to farms may decrease by preventing infection during seedling production and during the first year after introduction to farms.

In order to consider measures for preventing infection with *E. tarda* during the first year after introduction of fish to farms, we analyzed the effects of seedling type (Akigo, produced from autumn to winter; and Harugo, produced from winter to spring) and rearing condition (farm, disease history, rearing density, and condition index) on detection rates of *E. tarda* in survivors using regression analysis. Carriage state in Akigo may be more susceptible to high rearing density and low condition index than in Harugo. If we prevent Akigo from infection with *E. tarda* during the first year after introducing the fish to farms, a condition index of 24 and rearing density of <6.7 kg/m<sup>3</sup> in December may be adequate.

マダイ (*Pagrus major*) のエドワジエラ症は非定型 *Edwardsiella tarda* を原因細菌とする感染症である (楠田ら 1977, 安永ら 1982)。定型 *E. tarda* によるウナギ (*Anguilla japonica*) やヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) などの本症とは異なり、非定型 *E. tarda* に感染したマダイでは感染後数日で腎臓、脾臓、肝臓などに肉芽腫が形成され (Miyazaki and Kaige 1985, Toida et al. 2003, 羽生ら 2014)、典型的な病魚では頭部や体表に膿瘍、発赤、潰瘍が認められる (安永 1977)。本症は水温の高い夏季や秋季に流行することが多く、養殖マダイでは稚魚だけでなく 1-2 歳魚でも発生・死亡するため、経済的損失の大きい疾病となっている (安永ら 1982, 田中 2001, 三重県水産研究所 2009-2014)。

*E. tarda* の生存期間が海水中では 24 時間程度と短く (黒原ら 2009)、冬季での本症の発生がまれであるため (田中 2001, 三重県水産研究所 2009-2014)、夏季や秋季の流行期以外は海水中に *E. tarda* は存在しないと考えられる。

しかし、マダイ養殖場では毎年のように本症が流行しており (三重県水産研究所 2009-2014)、防除策の検討には感染源の特定が必要と考えられる。これまでに自然感染マダイでの保菌状態は詳しく調べられていないが、人為感染マダイでは *E. tarda* 感染後 30 日目の生残マダイであっても肉芽腫内部に生菌が  $10^{7.1-7.8}$  CFU/g と高濃度で残存することから、自然感染マダイでも感染耐過魚が保菌したまま越冬し、その後 *E. tarda* を排菌するという感染耐過魚の潜在的危険性が指摘されている (金井ら 1988, 松岡 2004, 黒原ら 2009, 羽生ら 2014)。したがって、養殖場において感染耐過魚がどの程度保菌し、その後の死亡率にどの程度影響するのか、また、感染耐過魚の保菌率にどのような要因が影響するのかは、本症の感染機構の解明や防除策を検討する上で重要な知見となる。

三重県におけるマダイ養殖では、県外の種苗生産業者から毎年 6 月前後に種苗を導入し、漁場で 1 年半から 2 年間飼育して出荷することが多い。種苗は、種苗生産時

期の違いにより異なる名前で区別され、秋季から冬季生産のものを秋仔、冬季から春季生産のものを春仔と呼ぶ。秋仔は春仔と比べ導入時の魚体が大きいこと、出荷までの飼育期間が短い。また、一般に魚体の大きい種苗はイリドウイルス病による被害が小さいことが知られており(田中ら 1996)、秋仔も経験的に被害が小さいことが知られている。2010年導入の種苗について筆者が養殖業者に聞き取りした結果、こういった秋仔のメリットを反映して導入軒数は春仔より秋仔の方が多かった。しかし、一部の業者は、秋仔はエドワジエラ症による被害が大きく安定生産が難しいと考え、春仔を積極的に導入していることも確認された。イリドウイルス病についてはワクチンが実用化され、飼育管理による予防技術も普及しているため(田中ら 1996, 田中ら 2003, 田中・井上 2005)、イリドウイルス病の防除を理由に秋仔を選択するメリットは近年薄れたと考えられる。一方、エドワジエラ症についてはワクチンが実用化されておらず、また、飼育管理による予防技術も十分検討されているとは言えないため、エドワジエラ症の防除を理由に春仔を選択するメリットは近年高まっている可能性がある。もっとも、本症の発生状況は年変動が大きいことに加え(三重県水産研究所 2009-2014)、大部分の養殖業者は毎年秋仔と春仔のどちらか一方しか導入していないため、通常、養殖業者自身が毎年の飼育成績から種苗タイプと本症の関係を見出すことは難しいと考えられる。また、疾病の流行には飼育密度や給餌方法といった飼育条件も影響すると考えられるため(田中ら 1996, 田中 2001, 田中ら 2003, 田中・井上 2005, 宮崎 2008)、これらが本症の発生に及ぼす影響も考慮して各種苗タイプのメリットを分析する必要がある。

本研究では、マダイ養殖場におけるエドワジエラ症耐過魚の潜在的危険性を把握することを目的に、感染耐過魚の保菌率とその後の死亡率を調査した。また、本症の防除策を検討することを目的に、感染耐過魚の保菌率に種苗タイプと飼育条件が及ぼす影響を分析した。

## 方法

### 調査対象

県外の種苗生産会社(以下、A社)から2010年6月ごろに導入されたマダイ人工種苗0歳魚のうち、県内の3漁場(I, II, III)の秋仔7ロットと春仔5ロットの計

12ロットを調査対象とした(Table 1)。種苗生産時の親魚の使用状況や疾病の発生状況は確認しなかった。導入から保菌調査(後述)までの間のエドワジエラ症の発病歴を聞き取ったところ、5ロットにおいて、本症特有の体表の膿瘍、発赤、潰瘍を示した死亡魚が認められ、本症の発生があったと判断された(Table 1)。残りの7ロットでは発生なしと判断された(Table 1)。なお、本症による死亡は秋季に多く認められ、その累積死亡率は、聞き取りできたロットでは0-10%であった。また、本症が発生したロットでは水平感染防除のため、死亡魚の取り上げが毎日行われた。

### 感染耐過魚の保菌率と成長指標

調査対象の全てのロットが*E. tarda*に感染したかどうかは不明であるが、全ての漁場で本症の発生が確認されたため、本研究では、水温が低下し県内でエドワジエラ症による死亡が認められなくなった導入後1年目冬季の生残魚を感染耐過魚と定義した。これらの保菌率を明らかにするため、2011年1月から2月の間に各ロットから無作為に29-30尾を取り上げ直ちに氷締めし、研究室に持ち帰った(Table 1)。その後、3時間以内に解剖ばさみで開腹して腎臓約0.1gを採取した。この組織を1.5mLチューブとペッスルで強く磨砕し、トリプトソーヤ寒天培地(TSA)に塗抹した。25℃で48時間培養後に出現したコロニー(*E. tarda*に特徴的な灰白色で光沢のある正円型コロニー(若林 2004))の一部を白金耳で釣菌し、抗*E. tarda*血清(日本水産資源保護協会から分与を受けたもの)を用いたスライド凝集法で凝集反応を確認した。反応が認められたものを保菌魚とし、コロニーが認められないものおよび凝集反応が認められなかったものを陰性魚とした。ロットごとに次式により保菌率(%)を算出した。

$$\text{保菌率} = \text{保菌尾数} \div \text{供試尾数} \times 100$$

前述の開腹直前に成長指標として、体重(g)と尾叉長(cm)を測定し、次式により肥満度( $\text{g}/\text{cm}^3 \times 10^3$ )を算出した。

$$\text{肥満度} = \text{体重} \div \text{尾叉長}^3 \times 10^3$$

また、開腹前後に本症の外観症状(頭部や体表の膿瘍、

Table 1. Details of lots examined in the present study

Lot name	Seedling type <sup>*1</sup>	Farm	Disease history <sup>*2</sup>	Detection rate study	
				Sampling date	<i>n</i>
1	Akigo	I	-	Jan 20, 2011	30
2	Akigo	I	+	Feb 16, 2011	30
3	Akigo	I	-	Feb 28, 2011	29
4	Akigo	II	+	Jan 21, 2011	30
5	Akigo	II	-	Feb 9, 2011	30
6	Akigo	II	-	Feb 18, 2011	30
7	Akigo	III	+	Jan 21, 2011	30
8	Harugo	I	-	Feb 7, 2011	30
9	Harugo	I	-	Feb 21, 2011	30
10	Harugo	III	+	Feb 8, 2011	30
11	Harugo	III	+	Feb 17, 2011	30
12	Harugo	III	-	Feb 22, 2011	30

<sup>\*1</sup> Akigo were produced from autumn 2009 to winter 2010, and Harugo were produced from winter 2010 to spring 2010 by a seedling production company. All lots were introduced to farms in June 2010.

<sup>\*2</sup> Positive (+) and negative (-) symbols indicate that edwardsiellosis mortality was or was not observed, respectively, in a given lot, from June 2010 to the sampling date.

発赤、潰瘍)、内臓の異常を目視確認した。

#### 保菌調査後の死亡率

2011年1月から同年12月までの間に本症の外観症状（頭部や体表の膿瘍、発赤、潰瘍）や内臓に肉芽腫が認められた死亡魚の累積尾数および同年1月の飼育尾数（当初飼育尾数）を養殖業者から聞き取り、ロットごとに次式により累積死亡率（%）を算出した。

$$\text{累積死亡率} = \text{累積死亡尾数} \div \text{当初飼育尾数} \times 100$$

なお、養殖業者が目視で本症と診断した死亡魚のうち一部のものについては2011年8月と10月に白金耳を用いた腎臓からの釣菌および前述保菌調査と同じ手法により *E. tarda* を分離・同定し、本症による死亡であることを確認した。ロット1では導入後2年目である2011年9月上旬の台風12号の接近・通過直後に波浪や出水による大量死亡が認められたため、累積死亡率の算出は行わなかった。

#### データ解析

感染耐過魚の保菌と成長指標の関係を確認するため、ロットごとに保菌魚と陰性魚の間で、体重、尾叉長、肥満度の幾何平均を比較した。平均値の差は自然対数変換したデータを用いてロット（Lot）と保菌（Carrier）に関する2元配置分散分析により評価した。感染耐過魚の保菌率とその後の累積死亡率の関係は散布図で確認した。保菌率に影響する要因は、ロジット変換した保菌率を目的変数、種苗タイプ（seedling type：秋仔、春仔を表す名義変数）、養殖場（farm：I, II, IIIを表す名義変数）、発病歴（disease history：あり、なしを表す名義変数）、肥満度（condition index）および飼育密度（rearing density）を説明変数とする重回帰分析で評価した。説明変数の全ての組み合わせについて赤池情報量規準（AIC）を算出し、AICが最小となるモデル（説明変数の組み合わせ）を調べた。ただし、肥満度は十分量給餌が行われたかどうかの指標とするため、ここでは *E. tarda* 陰性魚の幾何平均を用いた。また、飼育密度（kg/m<sup>3</sup>）は12月の分養前の値とし、次式で算出した。

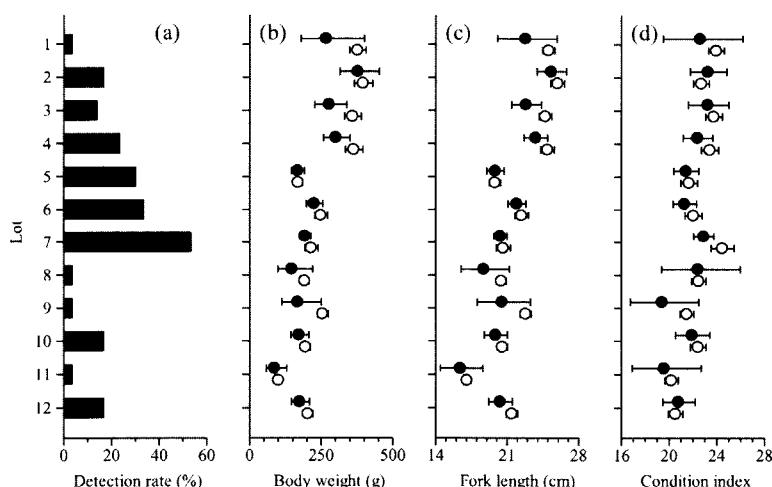


Fig. 1. Detection rate of *Edwardsiella tarda*, body weight, fork length, and condition index in red sea bream (*Pagrus major*). Investigations were conducted in January or February 2011. Solid and open circles: geometric mean in *E. tarda*-positive and -negative fish, respectively. Bars: 95 % confidential interval of log-transformed values converted to raw units using back-transformation.

飼育密度 = 平均体重 × 飼育尾数 ÷ 生簀容積

ここで12月の分養前の飼育密度を用いたのは、養殖現場ではこの密度を目標に導入尾数や給餌計画が決められることが多く、また、本研究のロットでは分養状況よりこの時期の飼育密度が本症流行期のものに比例していたと考えられたためである。ただし、12月の飼育尾数(尾)と生簀容積(m<sup>3</sup>)は養殖業者から聞き取ることができたが、平均体重(kg/尾)の聞き取りは困難であった。そこで、水温が低下し魚の成長が停滞した保菌調査時の平均体重を12月のものと等しいとみなして代用した。

以上の分散分析と重回帰分析には統計ソフト JMP 7.0J を使用し、検定の有意水準は5%とした。分散分析の寄与率(要因効果の全変動に占める割合)の算出は永田(2000)に従った。

## 結果

感染耐過魚の保菌率は3-53%であり、全てのロットから *E. tarda* が検出された (Fig. 1a)。保菌調査時に本症の外観症状(頭部や体表の膿瘍、発赤、潰瘍)を目視確認したところ、供試魚359尾の全てにおいて異常は認められなかった。目視確認できた内臓の異常としては、腎臓または肝臓の肉芽腫と鰾内部の茶色の異物が認められ、それぞれ2尾と5尾であった。全供試魚359尾のうち保菌尾数は65尾であった。そのうちの7尾は前述の目視で異常が認められたものであり、残りの58尾は目視で

外観や内臓に異常が認められない不顕性感染魚であった。

体重、尾叉長および肥満度のいずれの指標においても、分散分析におけるロットと保菌の交互作用は有意ではなく (Table 2-4)、保菌魚と陰性魚の間で指標の大小関係がロット間で異なるという傾向は検出されなかった (Fig. 1b-d)。いずれの指標もロット間で大きな差があり、陰性魚より保菌魚で小さい傾向が認められた (Fig. 1b-d; Table 2-4)。ただし、保菌の寄与率は1%であり、ロット差の12-25%や個体差の74-88%と比べて小さかった (Table 2-4)。

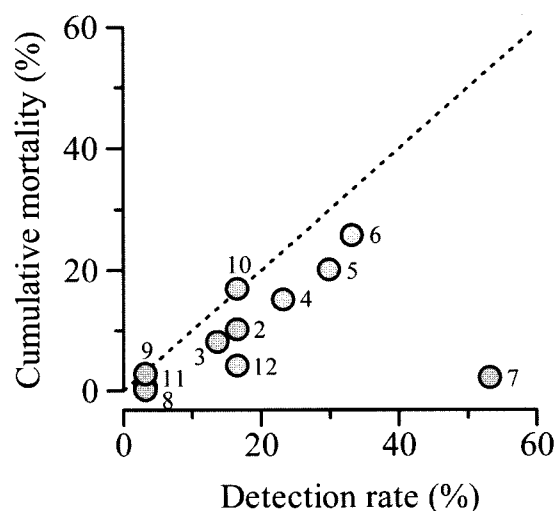


Fig. 2. Relationship between detection rate of *Edwardsiella tarda* and cumulative mortality from edwardsiellosis in red sea bream (*Pagrus major*). Detection rates were investigated in fish kidneys in January or February 2011. Cumulative mortality of fish by edwardsiellosis was monitored from January to December 2011. Numbers correspond to lot names (Table 1). Dotted line represents the 1:1 relationship between detection rate and mortality rate.

マダイ養殖場におけるエドワジエラ症耐過魚の保菌に関する予備的疫学調査

**Table 2.** ANOVA results for body weight

Source	SS	DF	MS	<i>F</i>	<i>p</i>	CR
Lot	17.268	11	1.570	37.29	<0.0001	25
Carrier	0.812	1	0.812	19.28	<0.0001	1
Interaction	0.352	11	0.032	0.76	0.6780	0
Error	14.101	335	0.042			74

SS: sum of squares; DF: degrees of freedom; MS: mean square; CR: contribution ratio (%). Body weight was natural log-transformed. Carrier represents *Edwardsiella tarda*-positive or -negative fish.

**Table 3.** ANOVA results for fork length

Source	SS	DF	MS	<i>F</i>	<i>p</i>	CR
Lot	1.6343	11	0.1486	35.47	<0.0001	25
Carrier	0.0628	1	0.0628	15.08	<0.0001	1
Interaction	0.0337	11	0.0031	0.74	0.7040	0
Error	1.3954	335	0.0041			74

SS: sum of squares; DF: degrees of freedom; MS: mean square; CR: contribution ratio (%). Fork length was natural log-transformed. Carrier represents *Edwardsiella tarda*-positive or -negative fish.

**Table 4.** ANOVA results for condition index

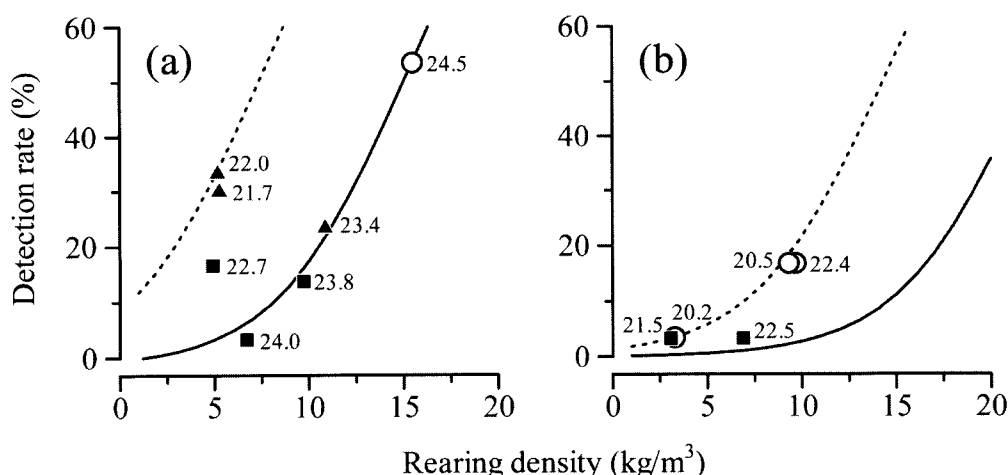
Source	SS	DF	MS	<i>F</i>	<i>p</i>	CR
Lot	0.4111	11	0.0374	6.71	<0.0001	12
Carrier	0.0222	1	0.0222	3.99	0.0465	1
Interaction	0.0394	11	0.0036	0.64	0.7908	-1
Error	1.2938	335	0.0056			88

SS: sum of squares; DF: degrees of freedom; MS: mean square; CR: contribution ratio (%). Condition index was natural log-transformed. Carrier represents *Edwardsiella tarda*-positive or -negative fish.

**Table 5.** Results of regression analysis for detection rate of *Edwardsiella tarda* in red sea bream (*Pagrus major*)

Variable	PRC	SE	<i>t</i>	<i>p</i>	VIF	SPRC
Intercept	13.780	5.788	2.38	0.0448		
Seedling type	2.080	0.554	3.76	0.0056	1.941	0.886
Farm	ns					
Disease history	ns					
Rearing density	0.298	0.076	3.95	0.0042	1.784	0.894
Condition index	-0.761	0.266	-2.86	0.0212	2.989	-0.776

Detection rates were logit-transformed. Variables were selected by Akaike's information criteria. ns: not selected. PRC: partial regression coefficient; SE: standard error; VIF: variance inflation factor; SPRC: standardized PRC. Seedling type: values for Akigo seedlings are shown. Farm: farms I, II, or III. Disease history: whether edwardsiellosis mortality was observed in each lot from June 2010 to January or February 2011. Rearing density and condition index represent values in December 2010, which were calculated based on information obtained from investigating the *E. tarda* detection rate. Condition index represents the geometric mean based on *E. tarda*-negative fish.



**Fig. 3.** Relationship between rearing density of red sea bream (*Pagrus major*) and detection rate of *Edwardsiella tarda* in fish kidneys. (a) Akigo; (b) Harugo. Rectangles, triangles, and circles represent fish farms I, II, and III, respectively. Numerals: geometric mean of condition index in *E. tarda*-negative fish. Detection rates were investigated in January or February 2011. Rearing densities are values for December 2010. Solid and dotted lines indicate detection rates in fish with condition index values of 24 and 21, respectively, estimated by regression analysis.

保菌調査後の本症による死亡は5-12月に認められた。累積死亡率は0-26%であり、保菌率にほぼ等しいか下回った (Fig. 2)。また、全体の傾向から大きく外れたロット7を除けば、保菌率と累積死亡率には正の高い相関が認められた ( $r=0.96$ ,  $n=10$ ,  $p<0.001$ )。

重回帰分析においてAICが最小となったモデルは、種苗タイプ、飼育密度、肥満度を説明変数とするモデルであり (Table 5)、自由度調整済み $r^2$ は0.685であった。このモデルでは種苗タイプ (秋仔を1, 春仔を0とした名義変数) と飼育密度の偏回帰係数 (PRC) が正值となり、肥満度のPRCは負値となった。これらの標準偏回帰係数 (SPRC) の絶対値は0.776-0.894であり、説明変数間で大きな差はなかった。また、AICが最小となったこのモデルを用いて、種苗タイプごとに飼育密度と肥満度による保菌率の推定値をFig. 3に示した。ただし、肥満度については、図が煩雑となるのを避けるため、ほとんどのロットが含まれる範囲の下限と上限に近い肥満度21と24について推定した。

## 考察

### 1. 感染耐過魚の保菌率とその後の累積死亡率

本研究では調査した全てのロットから *E. tarda* が検出された。これらには導入から保菌調査までの間の発病歴がなしと判断されたロットが含まれ、また、大部分の保菌魚では保菌調査時の目視観察では外観や内臓に異常が

認められなかった。 *E. tarda* 人為感染マダイでは、通常、感染後数日目には目視で観察可能な大きさの肉芽腫が確認されており (畑井ら1982, Toida et al.2003, 黒原ら2008, 羽生ら2014)、これは本研究の自然感染マダイのものと大きく異なる。その原因としては、感染後数日目と数か月後とでは症状が異なる可能性のほか、感染強度の違い (畑井ら1982) も考えられる。すなわち、これら人為感染試験の累積死亡率が22-100%であったのに対し、本研究の自然感染マダイでは導入から保菌調査までの間の累積死亡率が0-10%と低く、感染強度が弱かったことが不顕性感染の原因となった可能性が考えられる。また、本研究では、体重、尾叉長、肥満度のいずれも陰性魚より保菌魚で小さかったが、その差は個体差と比べて極めて小さかった。したがって、養殖場においてこれらの成長指標をもとに保菌魚と陰性魚を選別しても偽陰性・偽陽性となる確率が高いと考えられる。このように本症の自然感染マダイでは、感染状況によっては目視では確認できない不顕性感染魚が存在する可能性が高く、成長指標によるこれらの選別も難しいことから、飼育群の保菌リスクの把握には抗体価 (Salati et al 1987, 宮崎 2008) や本研究のような保菌調査が不可欠と考えられる。

感染症の流行では理屈上、保菌魚の発病だけが死亡原因の場合、累積死亡率が保菌率を上回ることはない。また、水平感染が死亡原因の場合、累積死亡率が保菌率を上回ることも下回ることもあるが、累積死亡率が保菌率を上回った場合、少なくとも上回った分については水平

感染が原因と考えることができる。すなわち、累積死亡率が保菌率を大幅に上回ったロットについては水平感染があったと推定できる。本研究の感染耐過魚（導入後2年目の魚）では、累積死亡率が保菌率に近い値を示し、累積死亡率が保菌率を大幅に上回ったロットは認められず、これらの死亡が水平感染によるものとの推定はできなかった。このように本研究において明らかな水平感染が認められなかった理由としては、前述したように感染耐過魚における本症流行の主要原因が保菌魚の発病であることの可能性のほか、水温の影響が考えられる。すなわち、*E. tarda*の増殖至適温度は30℃前後であり（安永ら1982）、本症は水温の高い夏季から秋季に流行するため（田中2001、三重県水産研究所2009-2014）、本症は高水温の年に流行する可能性が高いと推測される。三重県南部に位置する尾鷲湾における定点観測（三重県水産研究所未発表資料）と日本南方海域の海面水温・海流の月概況（気象庁 [http://www.data.jma.go.jp/gmd/kaiyou/data/db/kobe/history/past\\_kobe.html](http://www.data.jma.go.jp/gmd/kaiyou/data/db/kobe/history/past_kobe.html)）によると、三重県南部沿岸における2011年の各月の平均水温は平年（1971-2000年平均値）のそれと比べて、7月と11月に0.5-1℃程度高い傾向があったものの、それ以外の月は平年並みか平年より低かった。つまり、2011年は水温が低めに推移したため、本研究の感染耐過魚における水平感染が例年より小規模にとどまった可能性が考えられる。いずれにせよ、本症の感染機構の解明には、保菌魚の発病とそれらからの水平感染がそれぞれの程度生じているのかを把握する必要があり、それには保菌率と累積死亡率の関係を複数年、とりわけ2011年より高水温の年に調べるのが今後重要となるであろう。

本研究では、全体の傾向から大きく外れたロット7を除けば、感染耐過魚の保菌率とその後の累積死亡率に正の高い相関が認められた。これは、保菌魚の発病と保菌魚からの水平感染のどちらによるものかは不明であるものの、感染耐過魚の保菌がその後の累積死亡率に大きな影響を及ぼすこと、また、導入後2年目での死亡率低減には種苗生産時や導入後1年目での予防が重要であることを示している。なお、例外のロット7では保菌率が53%と高かったため、その後の累積死亡率も高いものになると懸念されたが、実際にはそのような傾向は認められなかった。これは保菌魚であっても本症の防除が可能な飼育条件が存在する可能性を示しており、今後、このロットの詳しい飼育条件を調べることと同様の疫学調査を重

ねることによって有益な防除策が明らかとなる可能性がある。また、保菌率では体内菌濃度を知ることが難しい。そのため、このロットでは保菌率が高かったものの体内菌濃度が低い状態で推移し、発病や水平感染に至らなかった可能性も考えられる。その可能性が高い場合は、導入後1年目の飼育条件を詳しく分析し、体内菌濃度が低くなる条件を特定することが重要となるであろう。

## 2. 感染耐過魚の保菌率に影響する要因

本研究では、秋仔と春仔の感染耐過魚の保菌率を比較し、秋仔で保菌率が高いことを明らかにした。これは一部の養殖業者が“秋仔はエドワジエラ症の被害が大きく安定生産が難しい”とする問題を裏付けるものであり、他の養殖業者においても同様の問題が生じている可能性が高いと考えられる。ただし、県内には毎年、複数の種苗生産会社から種苗が導入されているが、本研究ではA社で生産され2010年6月に導入された種苗しか調査対象としなかった。また、種苗生産時の親魚の使用状況や疾病の発生状況も確認しなかった。そのため、異なる種苗生産会社の秋仔や春仔でも本研究と同様の傾向が認められるのか、同じ種苗生産会社の異なる年の秋仔や春仔でも同様の傾向が認められるのか、さらには、導入時期の異なる秋仔や春仔でも同様の傾向が認められるのか、今後、検討する必要がある。また、通常、導入時の魚体は春仔より秋仔の方が大きいのが、そのことが種苗タイプの差として*E. tarda*の感染に影響を及ぼした可能性も考えられる。さらに、秋仔では種苗生産時期が本症流行期と重複しており、前年の種苗生産時期に感染・保菌した秋仔が漁場に導入され再発している可能性も現時点では調査されておらず、否定できない。これらについても今後調べる必要がある。

本研究では、飼育条件の一つとして飼育密度（kg/m<sup>3</sup>）を取り上げ、これが高いほど感染耐過魚の保菌率が高いことを明らかにした。保菌率はその後の死亡率に大きく影響するため、本症の防除には飼育密度を下げるのが有効と考えられる。また、秋仔を導入している業者においては、導入種苗を魚体の小さいもの（例えば春仔）に変更し、本症流行期の夏季や秋季の飼育密度を低位で維持することも有効と考えられる。ただし、県内のマダイ養殖業者は家族を中心とする小規模経営体が大部分を占め、所有・管理できる生簀のサイズと台数には限界がある。そのため、生簀のサイズ拡大や台数増加により飼育

密度を下げることは容易ではない。また、出荷時の平均体重は、ある程度養殖業者が制御できるものの、市況や水温といった外的要因の影響も大きく、目標値の設定や変更は容易ではない。そのため、導入後1年目における本症の防除策としては、導入時の飼育尾数を適正な尾数まで減らすことが有効と考えられる。現状では、収益確保のため一定数以上の飼育尾数が必要であり、多くの養殖業者は死亡を見越した尾数を導入しているが、飼育密度と魚病被害、収益の関係を考慮し、導入尾数を減らすことによるコスト削減と収益確保を今後検討する必要があるであろう。なお、生簀密度（養殖場面積当たりの生簀台数）が高い養殖場や海水交換率の低い養殖場では環境が悪化しやすい傾向にあるため（羽生ら 2011）、そういった養殖場では、生簀内部の飼育密度が適正であっても疾病の水平感染のリスクが高いものとなる可能性が考えられる。本研究では、こういったリスクを想定して養殖場（farm）の影響を検討したが、重回帰分析では影響が検出されなかった。これは本研究で調査対象とした養殖場の生簀密度が本症の水平感染に大きな影響を及ぼさなかったことを示唆しているが、県内には本研究の養殖場より生簀密度が高く、平均流速が小さいマダイ養殖場が一部存在し、ここでは養殖場の環境悪化に加えてエドワジエラ症による被害も問題となっている（筆者 未発表資料）。また、生簀密度や平均流速のほか、A社以外の種苗の存在、水深、水温、河川水の流入など、養殖場の利用実態や環境特性は様々である。したがって、生簀間の水平感染のリスクについては、今後、こういった環境特性や利用実態の大きく異なる養殖場でも疫学調査を進めて再評価する必要がある。

本研究では、十分量給餌したかどうかの指標として肥満度を取り上げ、肥満度が低いほど感染耐過魚の保菌率が高いことを明らかにした。この原因について本研究では詳しく調べていないが、感染経路として腸管や鰓だけでなく体表も疑われていることから（Ling et al 2001）、(1) タウリン摂取量が不足した魚では体表が薄化する傾向があるため（Kato et al., 2012, 中村ら 2014）、肥満度が低いロットでは、餌不足に伴うタウリン不足により体表が薄化し、*E. tarda* の魚体内への侵入リスクが高かった可能性、(2) 経験的にモイストペレットを給餌したマダイはドライペレットを給餌したマダイと比べ皮膚が強いことが知られており（宮本・土橋 2013）、餌の種類が肥満度や体表の厚さに影響し、保菌率にも影響した可能

性が考えられる。また、(3) 魚体内に侵入した *E. tarda* は食細胞に貪食され、肉芽腫の形成により隔離、殺菌されると考えられているが（Miyazaki and Kaige 1985, 羽生ら 2014）、肥満度が低いロットではこういった生体防御反応の弱い魚が多く、保菌率が高まった可能性、(4) 給餌量が不足し飢餓状態となった魚は死亡魚を捕食することが養殖現場では広く知られており（筆者の見聞による）、*E. tarda* が感染した死亡魚の捕食により、水平感染が拡大した可能性も考えられる。

以上のように、本研究により、感染耐過魚の保菌率には種苗タイプ、飼育密度、肥満度が影響する可能性が示された。養殖マダイの主要産地である西日本沿岸のうち三重県南部沿岸は東端に位置し、他の産地と比べて水温が低くマダイの成長が遅い傾向がある。そのため県内では、春仔より短い飼育期間で出荷できる秋仔は、経営リスクの小さい種苗として養殖業者に好まれる傾向がある。しかし、本研究の重回帰分析により、秋仔は春仔と同じ飼育密度で飼育すると感染耐過魚の保菌リスクが高いものとなる可能性に加え、肥満度の低下（餌不足）による保菌リスクも春仔より高いものとなる可能性が示された。本研究で示したように感染耐過魚の保菌率が高ければその後の死亡率も高いものとなる可能性があるため、県内における秋仔のメリットとデメリットは本症のリスクも踏まえて再検討する必要がある。もっとも、重回帰分析では、秋仔であっても適正な飼育密度で適正量給餌すれば、保菌リスクは春仔と同等に抑えられる可能性も示された。秋仔で保菌率が3%と最も低かったロット1ではそのような飼育管理が実践されたと考えられ、このロットの12月の飼育密度は6.7 kg/m<sup>3</sup>、肥満度は24であった（Fig. 3a）。したがって、県内で秋仔を導入する場合は、この値から逆算した飼育尾数を導入時の目標値とし、肥満度が24となるよう適正量給餌することが本症防除の第一歩と考えられる。また、それらの保菌率とその後死亡率を追跡調査し、本研究で示した目標値が妥当かどうか確認する必要がある。

## 要約

養殖場におけるエドワジエラ症耐過マダイの発病の危険性を把握することを目的に、2011年1月または2月の生残魚（2010年6月に養殖場に導入されたもの）の保菌率とそれらの2011年1月から12月までの累積死亡率を



調査した。その結果、調査した12ロット全てにおいて *Edwardsiella tarda* が検出された（保菌率3%-53%）。これら保菌魚の大部分は不顕性感染魚と判断された。感染耐過魚の保菌率とその後の累積死亡率には正の高い相関が認められ、感染耐過魚の保菌がその後の累積死亡率に大きな影響を及ぼすことが示唆された。導入後2年目での本症による死亡率の低減には、種苗生産時や導入後1年目での防除が重要と考えられる。

導入後1年目における本症の防除策を検討することを目的に、回帰分析により、感染耐過魚の保菌率に種苗タイプ（秋仔〔秋季から冬季に生産された種苗〕と春仔〔冬季から春季に生産された種苗〕）と飼育条件（養殖場、発病歴、飼育密度、肥満度）が及ぼす影響を分析した。その結果、秋仔の保菌は春仔のそれと比べて高密度飼育と低肥満度の影響を受けやすい傾向が認められた。導入後1年目における秋仔での本症防除には、12月時点の飼育密度を6.7 kg/m<sup>3</sup>以下、肥満度を24とすることが望ましいと考えられる。

## 文献

- 羽生和弘・栗山功・井上美佐・土橋靖史 (2011): 三重県南部のマダイ養殖漁場の底質に対する養殖強度と環境特性の影響. 日本水産学会誌, **77** (2), 181-187.
- 羽生和弘・宮本敦史・中井敏博 (2014): *Edwardsiella tarda* 人為感染マダイにおける保菌. 日本水産学会誌, **80** (4), 572-577.
- 畑井喜司雄・小川七朗・安永統男 (1982): 養殖マダイから分離された *Edwardsiella tarda* の病原性について. 長崎県水産試験場研究報告, **8**, 67-73.
- 金井欣也・田脇誠一・内田洋祐 (1988): ヒラメ養殖場における *Edwardsiella tarda* の分布. 魚病研究, **23** (1), 41-47.
- Kato, K., Yamamoto, M., Hung, N. P., Fukuda, H., Biswas, A., Yamamoto, S., Takii, K., Murata, O. and Miyashita, S. (2012): Effect of taurine supplementation on skin thickness and scale detachability in red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture Science*, **60** (1), 59-64.
- 黒原健朗・木村喜洋・関口洋介・川合研児 (2008): エドワジエラ症の感染方法がマダイ *Pagrus major* 体内の原因菌の動態に及ぼす影響. 水産増殖, **56** (4), 551-558.
- 黒原健朗・木村喜洋・関口洋介・川合研児 (2009): エドワジエラ症原因菌の海水中での生存性とマダイ *Pagrus major* に対する毒性. 水産増殖, **57** (2), 227-232.
- 楠田理一・伊丹利明・宗清正広・中島博司 (1977): 養殖チダイから分離された病原性 *Edwardsiella* の性状について. 日本水産学会誌, **43** (2), 129-134.
- Ling, S.H.M., Wang, X.H., Lim, T.M., and Leung K.Y. (2001): Green fluorescent protein-tagged *Edwardsiella tarda* reveals portal of entry in fish. *FEMS Microbiology Letters*, **194**, 239-243.
- 松岡学 (2004): 実験感染ヒラメにおける *Edwardsiella tarda* の排菌. 魚病研究, **39** (1), 9-13.
- 三重県水産研究所 (2009-2014): 魚病診断結果. 三重県水産研究所事業報告, 平成20年度-平成24年度, 志摩.
- 宮本敦史・土橋靖史 (2013): ドライペレットからモイストペレットへの転換によるマダイ養殖飼料コストの削減効果. 三重県水産研究所研究報告, **22**, 25-29.
- 宮崎統五 (2008): 飼育条件の早期改善によるヒラメのエドワジエラ症死亡率の低下. 魚病研究, **43** (4), 164-166.
- Miyazaki, T., and Kaige, N. (1985): Comparative histopathology of edwardsiellosis in fishes. *Fish Pathology*, **20** (2-3), 219-227.
- 永田靖 (2000): 入門 実験計画法. 日科技連出版社, 東京.
- 中村砂帆子・宮本敦史・土橋靖史 (2014): 魚粉代替原料を用いた低魚粉飼料がマダイの成長と体表組織の厚さに与える影響. 三重水産研究所研究報告, **23**, 11-17.
- Salati, F., Hamaguchi, M., Kusuda, R. (1987): Immune response of red sea bream to *Edwardsiella tarda* antigens. *Fish Pathology*, **22** (2), 93-98.
- 田中真二 (2001): 三重県の海産魚養殖における魚病発生の変遷. 三重県水産技術センター研究報告, **9**, 15-33.
- 田中真二・青木秀夫・井上美佐・栗山功 (2003): マダイイリドウイルス病に対する絶食の有効性. 魚病研究, **38**(2), 67-69.
- 田中真二・青木秀夫・清水康弘・今西禎雄・岡本至 (1996): 養殖マダイのイリドウイルス感染症の発生条件と対策について. 三重県水産技術センター研究報告, **6**, 55-61.
- 田中真二・井上美佐 (2005): マダイのマダイイリドウイルス病に対する低密度飼育の有効性. 魚病研究, **40**(4), 181-186.
- Toida S., Kanai, K., Yoshikoshi, K. (2003): The kinetics of leukocytes and histopathology of red sea bream in artificial

infection of *Edwardsiella tarda*. *Fish Pathology*, **38** (4),  
137-142.

若林久嗣 (2004): エドワジエラ症 . 魚介類の感染症・寄生虫病 . 厚生社厚生閣, 東京 . 188-196.

安永統男 (1977): 膿瘍・結節を伴う養殖マダイの新疾病の原因菌 . 長崎県水産試験場研究報告, **3**, 1-4.

安永統男・小川七朗・畑井喜司雄 (1982): 数種の海産養殖魚から分離された病原性 *Edwardsiella* の性状について . 長崎県水産試験場研究報告, **8**, 57-65.