

魚類養殖における新たな寄生虫防除技術の開発

I 白点病対策

増養殖環境課 齋田 尚希・谷口 越則

1 背景・目的

海面養殖で問題となる白点病は、原因となる白点虫 *Cryptocaryon irritans* がその生活環の中で養殖魚等の体表や鰓に寄生することで引き起こされる病気である。高知県下では主に野見湾で被害が発生しており、過去には数億円規模の被害も発生している。重度の寄生を受けた魚は、浸透圧調節障害や呼吸機能の低下により死亡する。白点虫の生活環はシスト期、遊走体期、寄生期及び離脱期を繰り返すことで成立する（良永 1998）。また、その生活環の中で1つのシストから最大で1,000匹程度の寄生能力を持つ仔虫（遊走体）を放出する（Digglesi and Adlard 1997）。成育に適した条件下では、1週間前後で生活環が1周し、その度に海水中の白点虫密度が数百倍以上にもなるため、被害が急激に発生する要因となっている。また、海面養殖における白点病に対して有効な薬剤・ワクチン等は開発されていないしたがって、白点病被害を軽減するためには、早期に白点虫の出現を検知し、対策を講じる必要がある。

そこで本研究では、野見湾における白点病被害の軽減を目的とし、人為感染試験や、リアルタイムPCR解析に使用するスタンダード作製等に用いるための白点虫の長期継代法を検討するとともに養殖現場での養殖魚への寄生強度と海水中の遺伝子量の関係の調査した。

2 方法

(1) 白点虫の長期継代法の開発

白点虫の長期継代は2基の200L水槽（図1）を使用し、止水条件で行った。まず、当試験場の魚病診断に持ち込まれ、白点虫の寄生を確認した検体から鰓を切り出し、その鰓と人工産ブリ稚魚（以下モジャコという）を一方の200L水槽に収容し、白点虫の寄生を成立させた。その後、水槽内にガラス製シャーレを設置し、白点虫シストの付着（図2）を確認することで、水槽内で白点虫の生活環が成立していることを確認した。生活環成立後は、水槽内のモジャコが白点病で死亡するまで無給餌・無換水で維持し、モジャコ死亡後に水槽内のガラスシャーレを取り出し、付着しているシストごともう一方の水槽に新たなモジャコとともに収容した。以後はモジャコが死亡するたびに同様の手順で継代を行った。また、水温が低下する冬季にはヒーターを使用し、水温が22℃以下にならないよう調整した。

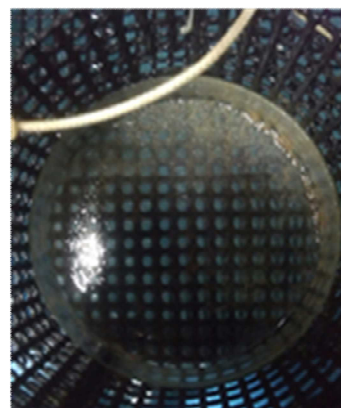
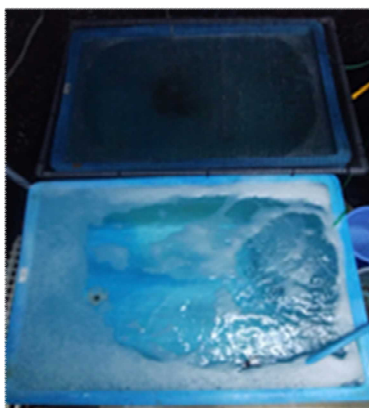


図1 継代用水槽及びシスト回収用ガラスシャーレ

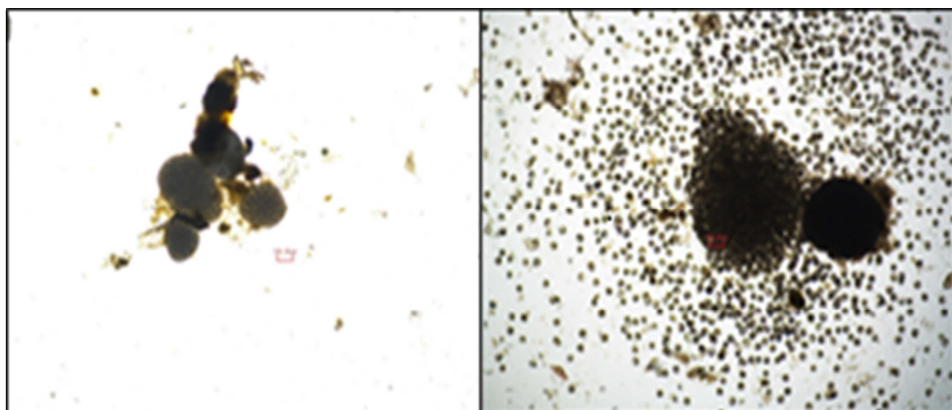


図2 シャーレへの付着シスト及び放出された遊走体

(2) 養殖魚の白点虫寄生数調査

平成 30 年 10 月から 12 月までの期間において、野見湾で養殖されているカンパチ及びマダイを対象に週に 1 回程度の頻度で寄生数調査を実施した（検査個体数；カンパチ 33 尾、マダイ 22 尾、平均魚体重；カンパチ 812g、マダイ 428g）。調査では、個体ごとに鰓を取り出し、ウェットマウントで生物顕微鏡を用いて、100 鰓弁あたりの寄生数を計数した。

(3) 野見湾における海水中の白点虫遺伝子量調査

平成 30 年 10 月から 12 月までの期間において、野見湾の主要カンパチ漁場であるガラク及び主要マダイ漁場であるウマノセ（図 3）の海水をサンプリングし、海水中遺伝子量調査を実施した。白点虫の寄生や魚体からの離脱は夜間から早朝にかけて活発になるため（堅田 2009）、サンプリングは午前 5 時に実施し、水深 0-10m（柱状採水）及び B-1m（底から 1 m 層）からそれぞれ採水し、各 1 L を遺伝子量調査のサンプルとした。今城ら（2016）を参考に、採水した海水から DNA 抽出を行い、リアルタイム PCR 解析装置（BioRad 社製 CFX96Touch）を用いて白点虫遺伝子量（遊走体数換算）を解析した。また、解析結果については当日中に関係者に対して Fax で広報した。

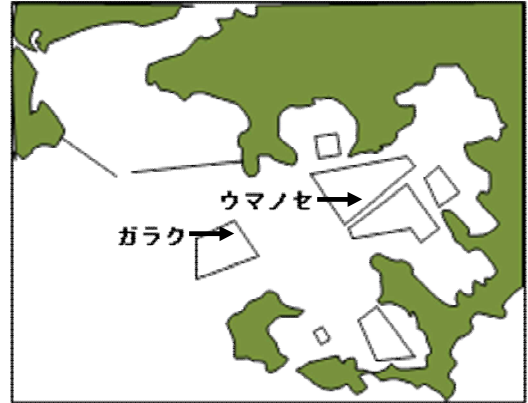


図 3 調査地点

3 結果

(1) 白点虫の長期継代法の開発

目標としていた白点虫の長期継代に成功した。平成 31 年 3 月末時点においても継代を継続している。

(2) 養殖魚の白点虫寄生数調査

調査期間中に合計でカンパチ 33 個体及びマダイ 22 個体について白点虫寄生数調査を実施した。最大寄生数はカンパチで 334 虫体/100 鰓弁、マダイで 4 虫体/100 鰓弁であった。調査期間を通した陽性率はカンパチで 58%、マダイで 5%であった（表 1）

表 1 平成 30 年度における養殖魚の白点虫寄生数調査結果

魚種	検査結果	H30			計
		10	11	12	
カンパチ	白点病 (+)	8	8	3	19
	白点病 (-)	7	1	6	14
	カンパチ 計	15	9	9	33
	陽性率 (%)	53	89	33	58
マダイ	白点病 (+)		1		1
	白点病 (-)	4	9	8	21
	マダイ 計	4	10	8	22
	陽性率 (%)	0	10	0	5
計		19	19	17	55

(3) 野見湾における海水中の白点虫遺伝子量調査

調査の結果、海水から白点虫遺伝子を検出し、平成 30 年 11 月 2 日のガラク B-1 層で最大の遺伝子量となる 2.41 遊走体/L を記録した（図 4）。また、調査対象漁場で平成 30 年 10 月 5 日に白点病被害が発生したが、その 2 日前に海水中から白点虫遺伝子を検出した（図 4）。

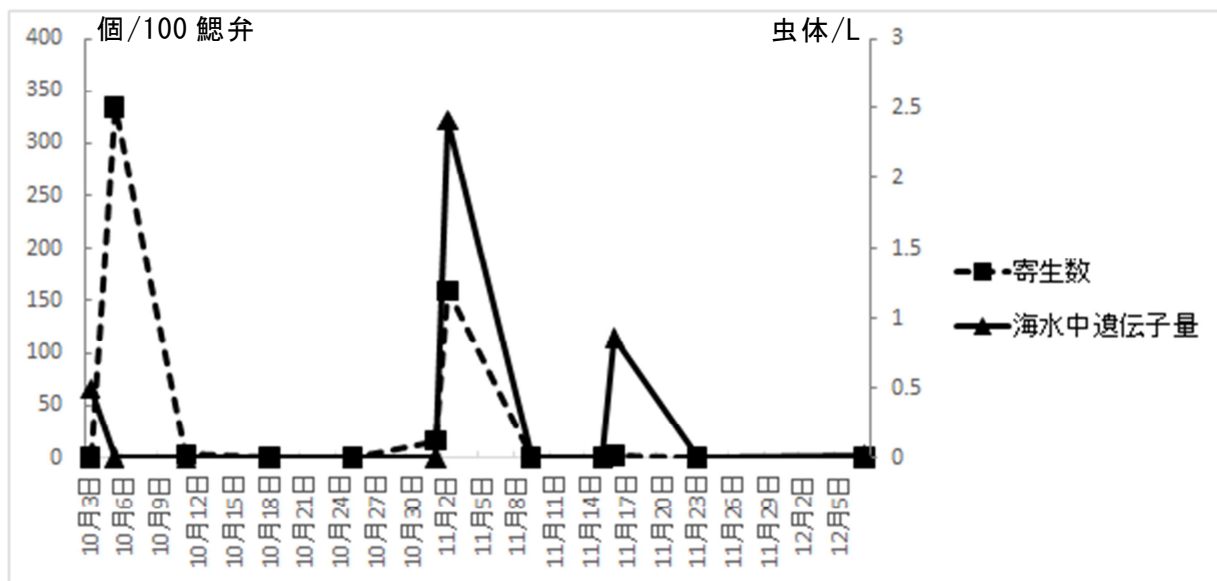


図4 カンパチへの寄生数及び海水中遺伝子量の変化
* 寄生数及び海水中遺伝子量は調査日における最大値

4 考察

(1) 白点虫の長期継代法の開発

水槽1基で白点虫とモジャコを同居飼育していると、白点虫の生活環が回るにつれて、水槽内の白点虫の密度が高まっていき、宿主となるモジャコの急激な死亡が発生する。その結果、宿主内で成長しきれないなど白点虫の生活環が円滑に回らなくなり、継代が困難になることが多い。そこで、水槽2基とガラスシャーレを用い、モジャコの死亡が急激に引き起こされるなど、白点虫の密度が高くなりすぎたと判断した場合は、ガラスシャーレに付着した白点虫シスト数を調整したうえで、別の水槽にモジャコとともに収容することで白点虫密度をコントロールすることが可能となった。これにより、白点虫の生活環が円滑に回るようになり、長期継代が可能となったと考えられる。

また、長期継代中においても、モジャコの死亡状況や死亡したモジャコの検査結果等から推定した白点虫の病害性に変化はみられなかった。これにより、各種の人為感染試験等の実施や、白点虫の感染ステージ別の調査等が可能となった。

(2) 養殖魚の白点虫寄生数調査

白点虫寄生数調査の結果、マダイよりもカンパチへの寄生が多かった(表1)。過去にはマダイでも白点病の被害が発生しているが、近年はカンパチでの被害が多発している。この理由としては、それぞれが飼育されている水深や潮流等の環境要因等が考えられるが、詳細は不明である。今後、魚種間で寄生率に差異がみられる要因について調査する必要がある。

(3) 野見湾における海水中の白点虫遺伝子量調査

今年度の白点虫遺伝子量調査の結果、白点病被害が発生する前に海水中遺伝子量が増加していた(図4)。この結果は昨年度と同様であり(齋田・池部 2018)、海水中の遺伝子量をモニタリングすることで白点病の発生を予察できる可能性が示された。しかしながら、海水中に遺伝子が検出されても魚体への寄生が確認できなかった場合や、その逆の場合もあり、正確な予察技術の開発にはより詳細な調査が必要である。

また、今年度は試験的に海水中の遺伝子量の検出結果を調査当日中に養殖業者等の関係者に広報したが、それに対する関係者の反応は様々であり、実際に被害も発生していることから、広報の方法も検討していく必要がある。

5 参考文献

- B. K. Digglesi, R. D. Adlard (1997) Intraspecific variation in *Cryptocaryon irritans*. The journal of Eukaryotic Microbiology No. 44, 25-32
- 今城雅之、森光一幸、助田将樹、梅崎拓也、門野真弥、合田暉、久保栄作、大嶋俊一郎 (2016) 高知県野見湾における *Cryptocaryon irritans* の TaqMan リアルタイム検出と分子系統解析、魚病研究、51 巻 3 号、105-111
- 堅田昌英 (2009) 海産白点虫 *Cryptocaryon irritans* の動態、和歌山県水産総合研究センター報告書第 1 号、23-29
- 齋田尚希・池部慶太 (2018) 魚類養殖における新たな寄生虫防除技術の開発。平成 29 年度高知県水産試験場業務報告書 115, 93-94
- 良永知義 (1998) 海産白点虫 *Cryptocaryon irritans* の防疫と対策。月刊海洋号外 No. 14, 73-76