

# 魚類養殖における寄生虫の新たな防除技術の開発

増養殖環境課 谷口 越則

## 1 背景・目的

海面養殖では、寄生虫症による漁業被害が頻発しており、その中には魚体に対し致死性を有するもの（白点病、心臓ヘネガヤ症など）と、商品価値を低下させるもの（べこ病、ディディモシスチス症など）などがある。特に本県では、ブリ属における白点虫とべこ病、マダイにおける心臓ヘネガヤ症の感染が問題となっている。

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り、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。高知県内では主に野見湾で問題となっており、過去には十数億円規模の被害も発生している。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個体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、そのたび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、出現海域から養殖小割を移動させるなどの対策を講じる必要がある。

べこ病は、ブリ稚魚（以下「モジャコ」という。）で以前から知られており、微孢子虫ミクロスポリジウム・セリオレ *Microsporidium seriolae* がモジャコの筋肉中でシストを形成する病気である。通常は成長とともに治癒するが、重篤な場合は感染魚の死亡や、筋肉中にシスト痕が残存することによる商品価値の低下を招く（横山 2017）。近年、西日本の各地で重篤なべこ病が頻発しており、その対策が求められている。しかしながら、病原体である微孢子虫の生活環には不明な部分が多く、感染経路も判明していないため、抜本的な対策は確立されていない。

近年、べこ病に対して、フェバンテルを主成分とした水産用医薬品（以下「フェバンテル」という。）の投薬効果が確認された。しかし、フェバンテルの投薬効果はシスト形成の阻害であり、べこ病そのものを治癒するものではない。そのため、効果的な投薬を実施するには、モジャコがべこ病に感染してシストを形成するまでに、べこ病に感染していることを確認する必要がある。

心臓ヘネガヤ症は、原因となる粘液胞子虫の *Henneguya pagri* が心臓に寄生し、鰓や内臓の貧血、囲心腔内の出血のほか、動脈球の肥大を呈する病気である。動脈球内で胞子を形成し、増殖した大量の胞子が毛細血管を閉塞させ、うっ血することなどにより、重篤な場合は感染魚の死亡を引き起こす。近年、西日本の各地で心臓ヘネガヤ症の発生が頻発しており、その対策が求められている。しかしながら、べこ病と同様に当該疾病の原因虫の生活環は不明な部分が多く、感染経路も判明していないため、抜本的な対策は確立されていない。当該疾病への対策として水産用医薬品の研究が進められているものの、効果のあるものは確認されていない。

そこで本研究では、これまでに確立したリアルタイム PCR による検出法を用いて、白点虫及びべこ病病原体の遺伝子量を調査し、感染動態の把握及び早期検知技術の開発を試みた。さらに、白点虫については、昨年度に引き続き、養殖魚の寄生数調査とリアルタイム 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を行った。加えて、養殖生簀周辺に生息する天然魚の白点虫感染の有無を調査し、養殖魚との関連性を調査するとともに、リアルタイム PCR 解析用の海水サンプリングを高頻度に行うための定時採水器の作製を試みた。べこ病については、養殖魚における問題として大きく取り上げられているものの、天然魚における感染状況を調査した報告はほとんどない。当該疾病の感染環は明らかとなっていないことから、天然魚における発症や感染の状況を把握することで、生息環境の違いによる感染の有無や感染時期を推定できる可能性がある。そこで、天然海域に生息するブリにおける感染状況を把

握するため、定置網で漁獲されたブリについてべこ病病原体の遺伝子量及びシスト形成の有無を調査した。心臓ヘネガヤ症については、中間宿主の探索として、環形動物を対象としたリアルタイム PCR による病原体遺伝子の検出を試みた。

## 2 方法

### (1) 白点虫

#### 1) 白点虫の長期継代

齊田 (2019) の報告に従って継代した。

#### 2) 養殖魚の白点虫寄生数調査

2020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として週に1回程度の頻度で白点虫の寄生数調査を実施した(検査個体数;カンパチ23尾、マダイ26尾、平均魚体重;カンパチ1062.7g(497.2~3308.4g)、マダイ699.2g(351.6~1247.8g))。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数えた。

#### 3) 野見湾における海水中の白点虫遺伝子量調査

2020年10月1日から12月3日までの期間において、野見湾の主要なカンパチ養殖漁場であるガラク及び主要なマダイ養殖漁場である馬の背で遺伝子量の定量を行った。また、定時採水器を設置した11月11日からは大室戸、11月18日からは白浜を調査対象に追加した(図1)。海水は1週間に1回の頻度(12月1日から3日の期間は毎日)でサンプリングし、海水中の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時に実施した。水深0-10m(柱状採水)と底上1m(以下「B-1m」という。)からそれぞれ採水し、各1Lを遺伝子量調査のサンプルとした。採取した海水は、今城ら(2016)を参考に孔径0.45 $\mu$ mのメンブレンフィルターで濃縮濾過し、フィルターからDNA抽出キット(QIAGEN社製DNA Mini Kit)でDNA抽出を行い、リアルタイムPCR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。解析結果は当日中に関係者に対してFAXで広報した。

#### 4) 野見湾における天然魚の白点虫寄生数調査

2020年9月11日、9月28日及び10月20日に、野見湾のカンパチ養殖用小割生簀周辺に生息する天然魚を釣獲し、白点虫の寄生数調査を実施した。検査した種と個体数は、ブリ49尾、コショウダイ1尾、コロダイ2尾、ヘダイ1尾、マダイ1尾、マゴチ1尾、マルコバン1尾、ボラ1尾であった。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数えた。

#### 5) 定時採水器の作製

これまで、3)に記すように海水のサンプリングを午前5時に行っていたため、夜間の航行に伴う危険や早朝業務の負担が問題であった。そこで、これらの問題を解決するために、定時に自動で採水する装置の開発を試みた。コストやメンテナンスのしやすさを考慮し、資材は主にホームセンターで販売されているものを使用した。

### (2) ベこ病

#### 1) 入野漁港における海水及びモジャコのべこ病病原体遺伝子量調査

2020年3月29日から5月中旬にかけて、もじゃこ漁で漁獲されたモジャコが入野漁港で蓄養されていたことから、同漁港での蓄養前と蓄養中における海水及びモジャコを採取し、べこ病病原体の遺伝子の定量を行った。採取は高知県漁協入野支所所属でモジャコの蓄養を行う漁業者に依頼した。海水は蓄養場の表層水1Lをポリ瓶で採取し、モジャコは蓄養中のものをチャック付ポリ袋に収容して、それぞれ高知県漁協入野支所で冷凍保管した。保管した海水は流水で解凍後、速やかに孔径1.0 $\mu$ mのメンブレンフィルターで濃縮濾過し、フィル

ターから DNA 抽出キット (QIAGEN 社製 DNA Mini Kit) で DNA 抽出を行った。保管したモジヤコは流水で解凍後、速やかに剖検によりシストの有無を確認した後、第一背鰭基部の背肉の一部を採取し、海水と同様の DNA 抽出キットを用いて DNA 抽出を行った。得られた DNA 抽出物について、リアルタイム PCR 解析装置を用いてべこ病病原体遺伝子量 (コピー数) を解析した。

## 2) 天然海域に生息するブリのべこ病感染状況調査

県東部の椎名大敷組合 (室戸市) 及び奈半利町大敷組合 (奈半利町)、県西部の以布利大敷組合及び窪津大敷組合 (共に土佐清水市) で漁獲されたブリ当歳魚について、剖検によるシスト形成の有無を調べるとともに、1) と同じ方法でリアルタイム PCR 装置を用いて魚体中のべこ病病原体遺伝子の保有状況を調査した。

## (3) 心臓ヘネガヤ病

### 1) 中間宿主の探索

心臓ヘネガヤ症の感染環は明らかとなっていないものの、原因種と同属である食中毒感染症の原因種の *Kudoa septempunctata* は、環形動物 (ゴカイ類など) と魚類に交互感染することが明らかとなっている。心臓ヘネガヤ症原因種についても同様の感染環をもつ可能性が考えられることから、環形動物を調査対象とした。対象種はイソゴカイとし、2020 年 7 月から 2021 年 3 月まで月 1 回、大潮の干潮時に浦ノ内湾の天皇州で採取した。対象種の頭部から約 1cm を切り取り、DNA 抽出キット (QIAGEN 社製 DNA Mini Kit) で DNA 抽出を行った。得られた DNA 抽出物について、リアルタイム PCR 解析装置を用いて心臓ヘネガヤ症病原体遺伝子の保有状況を調査した。

## 3 結果

### (1) 白点虫

#### 1) 白点虫の長期継代

白点虫の継代は、2017 年 10 月から継続している。

#### 2) 養殖魚の白点虫寄生数調査

調査期間中の最大寄生数はカンパチで 49 虫体/100 鰓弁、マダイで 1 虫体/100 鰓弁であった (図 2)。調査期間を通じた陽性率はカンパチで 57%、マダイで 8%であった (表 1)

#### 3) 野見湾における海水中の白点虫遺伝子量調査

10 月 1 日から 12 月 3 日までの調査期間をとおして、海水から白点虫遺伝子を検出した。最大の遺伝子量は 11 月 18 日のガラク 0-10m 層の海水から検出された 35.21 遊走体/Lであった (図 3)。

#### 4) 野見湾における天然魚の白点虫寄生数調査

寄生が確認された魚種はブリのみで、その他の魚種で寄生は確認されなかった (表 2)。また、ブリにおいてはエラムシ (*Heteraxine heterocerca* 及び *Zeuxapta japonica*)、ハダムシ (*Benedenia seriola* 及び *Neobenedenia girellae*) 及び住血吸虫 *Paradeontacylix buri* の寄生が見られた。

#### 5) 定時採水器の作成

構造を図 4 に示す。車用バッテリーの電力をインバータで変換し、プログラムタイマー (タイマー式通電装置) で定時 (午前 5 時) に通電することで、接続するはんだゴテの電熱部に巻き付けたビニール紐が熱で焼き切られ、採水装置を海水中に落下させる仕組みとした。0-10m 層の採水は、①洗濯用ホースの片端に錘と逆止弁を取り付け、もう片端の口を海面より上に固定。②錘と逆止弁を取り付けた端側のみ、はんだゴテに巻き付けたビニール紐に縛り、定時に海中に落下することで、採水する仕組みとした。B-1m 層の採水は、①あらかじめ北原式採水器を海中の B-1m 層に垂下する。②メッセンジャーをはんだゴテに巻き付けた

ビニール紐に縛り、定時に海中に落下することで採水する仕組みとした（図5）。

## （2）べこ病

### 1）入野漁港における海水及びモジャコのべこ病病原体遺伝子量調査

モジャコの蓄養前から出荷までの期間をとおして、海水中からべこ病病原体の遺伝子は検出されなかった。モジャコについては、導入初期である3月29日から4月5日にかけては剖検によるシスト、遺伝子ともに検出されなかった。4月6日に初めて遺伝子が検出されたものの、4月末まで検出率は低く、剖検によりシストは確認されなかった。しかし、5月に入ると、遺伝子の検出率が急増し、剖検でもシストの形成が確認された。

### 2）天然海域に生息するブリのべこ病感染状況調査

6月2日から7月2日の期間に漁獲されたブリ当歳魚320尾について、剖検によるシストは1尾から、べこ病病原体の遺伝子は41尾から検出された。時期や地域により採取数に偏りがあるものの、天然魚においてもべこ病に感染していることが確認された（表3）。

## （3）心臓ヘネガヤ病

### 1）中間宿主の探索

2020年7月から2021年3月において、天皇州に生息するイソゴカイ90サンプルを分析した結果、心臓ヘネガヤ症病原体の遺伝子は検出されなかった。

## 4 考察

### （1）白点虫

#### 1）白点虫の長期継代

昨年度と同様であるため、省略する。

#### 2）養殖魚の白点虫寄生数調査

野見湾の養殖業者への聞き取りによると、カンパチで白点虫の寄生が最大数確認された11月10日の調査結果をもって避難漁場へ移動を開始し、被害は確認されなかった。本年度は、白点虫の寄生が重度となる前に避難したことが、被害の防止につながったと考えられた。今後も、寄生数の調査と迅速な広報を継続していく必要がある。

#### 3）野見湾における海水中の白点虫遺伝子量調査

白点虫遺伝子量調査の結果、養殖魚の白点虫寄生数調査において鰓弁から白点虫が確認される前に海水中の遺伝子量が増加していた（図2、3）。また、海水中の遺伝子量が増加した後、1週間以内に魚体で白点虫の寄生が確認される傾向が見られた。これまでの報告（齊田 2019、齊田・谷口 2020）と同様に、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。2018年度及び2019年度は、魚体で白点虫の寄生が確認された後に海水中の遺伝子量の上昇がみられたものの、本年度は魚体への寄生が確認される前に遺伝子量の増加を確認できた。これは、白点虫が魚体に寄生する可能性が高まると考えられる台風による海水の擾乱や、水温低下による鉛直混合前に調査を開始したためと考えられた。また、魚体への白点虫の寄生を確認する前に遺伝子量の増加を周知したことが、被害軽減に向けた避難の基準として有効であったと考えられた。今後は、分かりやすく速やかに対応を促す広報に向けて、検出される遺伝子量について危険とされる一定の基準を整備するため、データの蓄積に継続して取り組む必要がある。

#### 4）野見湾における天然魚の白点虫寄生数調査

天然魚の白点虫寄生数調査の結果、10月20日に釣獲されたブリでのみ白点虫の寄生が確認された。これは、2）の調査において、養殖されたカンパチで初めて寄生が確認された時期（図2）と同様であった。また、釣獲されたブリは養殖小割で給餌されるタイミングに、小割周辺に蟻集する様子が目撃されており、多くの漁業者や遊漁者により採捕されていた。さらに、釣獲されたブリからハダムシ、エラムシ及び住血吸虫が確認されたことから、これ

らの天然魚が寄生虫疾病を媒介している可能性が考えられた。養殖小割の給餌は、野見湾内の各漁場で行われており、天然のブリは給餌の行われている漁場を往来している。そのため、白点虫のみならず、さまざまな寄生虫疾病に感染したものと考えられた。これらのことは、養殖小割周辺の天然ブリを調査することで、寄生虫疾病の流行を察知できる可能性を示しており、経時的に寄生虫の感染動向を調査することによって、被害の軽減につながることを期待される。

## 5) 定時採水器の作製

作製した採水器は、稼働に問題は見られなかったものの、バッテリーからインバータへの通電が常時行われる仕組みであり、3日でバッテリー容量を使い切ることが明らかとなった。これは、バッテリーの容量をインバータに記載されている稼働に必要な消費電力で除することで算出した日数と同程度であった。今後は、バッテリー容量を計算して運用するとともに、バッテリーからインバータまでの間の通電をプログラムタイマーでコントロールする仕組みを導入する必要がある。本装置の作製により、他海域での運用や白点虫調査以外への応用も期待されるため、普及が望まれる。

## (2) ベコ病

### 1) 入野漁港における海水及びモジャコのベコ病病原体遺伝子量調査

昨年度の報告と同様に、海水中からベコ病病原体遺伝子は検出されなかったものの、魚体からはベコ病のシスト形成前にベコ病病原体遺伝子を検出することができた。この結果から、魚体におけるベコ病病原体遺伝子のスクリーニング検査手法は確立できたと考えられた。次年度からは検査頻度を高め、より早期に感染の有無を察知できる体制の整備が必要である。

### 2) 天然海域に生息するブリのベコ病感染状況調査

定置網で漁獲されたブリからベコ病病原体遺伝子及びシストが確認された。この結果は、天然海域で感染が成立していることを示唆している。一方、定置網で漁獲されたブリは6月2日から7月2日の間に採捕されており、モジャコの蓄養時期である5月中旬より後であった。もじゃこ漁で漁獲されたモジャコはある程度の減耗を前提とし、出荷予定数より多く採捕されている。出荷時点で余剰となったモジャコは天然海域へ放流される場合がある。2020年度は、土佐湾内でモジャコを放流した地域があり、放流された群れの一部が定置網で採捕された可能性もある。したがって、天然海域で感染が成立していると断定するにはいたらなかった。今後も継続して調査を行うことで、蓄養後に放流されたモジャコの有無と感染状況の関係性が明らかとなり、感染が成立する海域の特定にもつながると考えられる。

## (3) 心臓ヘネガヤ病

### 1) 中間宿主の探索

天竺州に生息するイソゴカイからは、心臓ヘネガヤ症病原体遺伝子を検出することはできなかった。養殖小割の資材などに生息する生物が中間宿主となっている可能性が考えられたため、サンプリング対象種や調査時期などを検討する必要がある。

## 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
- 松岡 学 (1995) 愛媛県下の養殖海産魚における細菌性疾病以外の疾病の発生状況、水産増殖、43巻5号、535-541
- 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（2019）魚類養殖における新たな寄生虫防除技術の開発．平成30年度高知県水産試験場業務報告書 116, 63-66

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

横山博（2017）総説べこ病、魚病研究 No.52（4）、181-185

齋田尚希、谷口越則（2020）魚類養殖における新たな寄生虫防除技術の開発．令和元年度高知県水産試験場業務報告書 117, 81-85

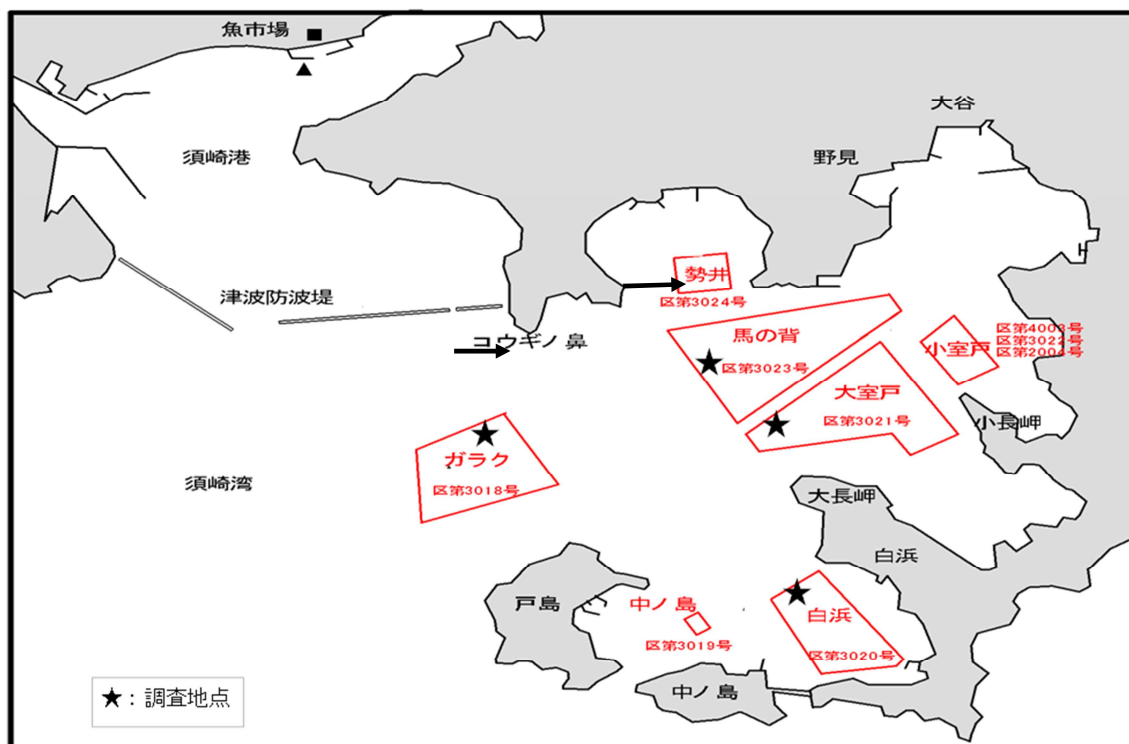


図1 野見湾における海水中の白点虫遺伝子量調査の調査地点

表1 2020年における養殖魚の白点虫寄生数調査結果

魚種	検査結果	2020年			計	
		10月	11月	12月		
カンパチ	白点病 (+)	4	9	0	13	
	白点病 (-)	7	3	0	10	
		尾数	11	12	0	23
		陽性率 (%)	36%	75%	-	57%
マダイ	白点病 (+)	0	2	0	2	
	白点病 (-)	16	7	1	24	
		尾数	16	9	1	26
		陽性率 (%)	0%	22%	0%	8%

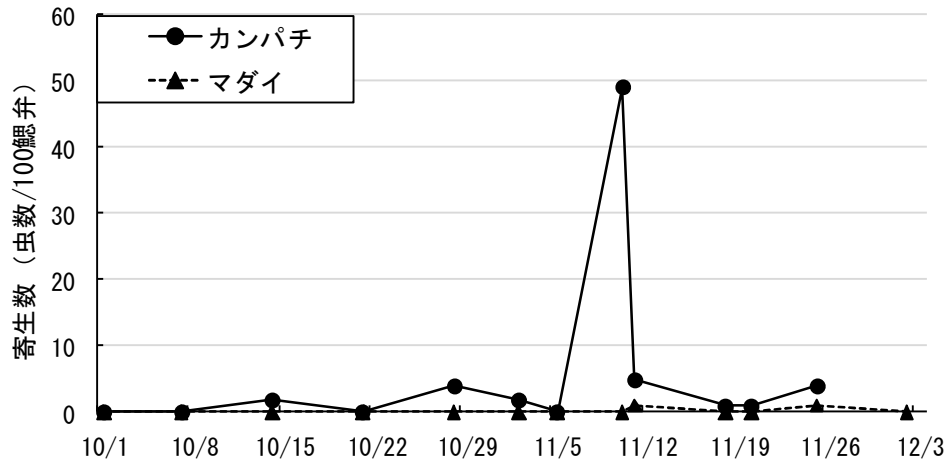


図2 カンパチ及びマダイへの白点虫寄生数  
\* 寄生数及び海水中遺伝子量は調査日における最大数

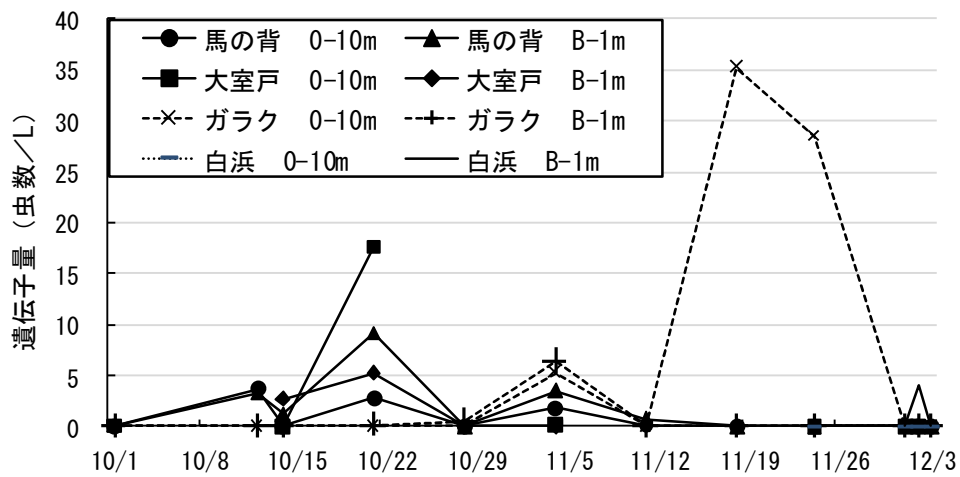


図3 各調査地点の白点虫遺伝子量の推移

表2 野見湾における天然魚の白点虫寄生状況

日付	ブリ	コショウダイ	コロダイ	ヘダイ	マダイ	マゴチ	マルコバン	ボラ
9月11日	0/6		0/1	0/1		0/1		
9月28日	0/28							
10月20日	6/15	0/1	0/1		0/1		0/1	0/1
合計	6/49	0/1	0/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1

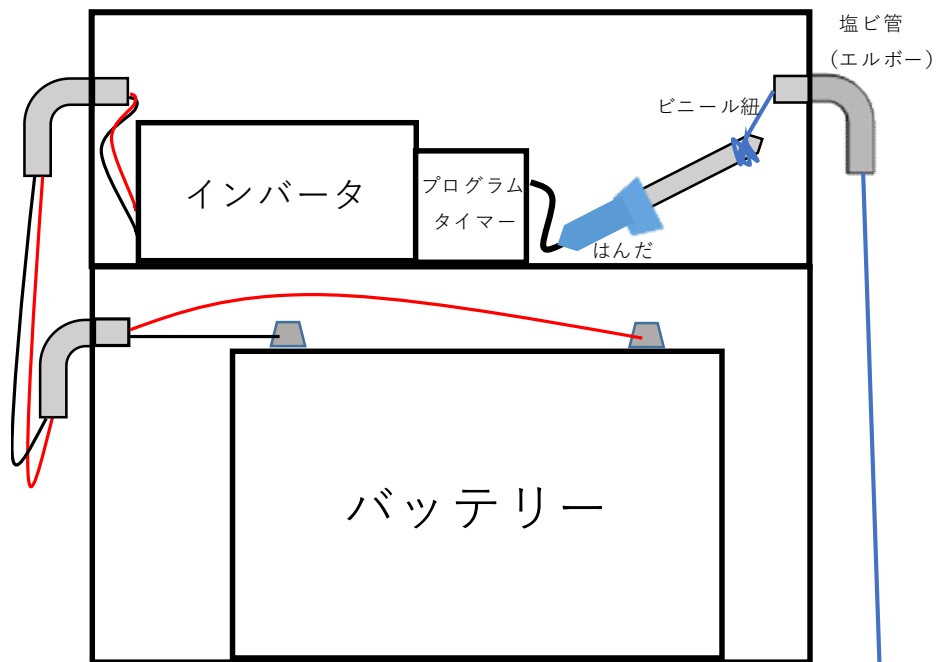


図4 定時採水器の構造

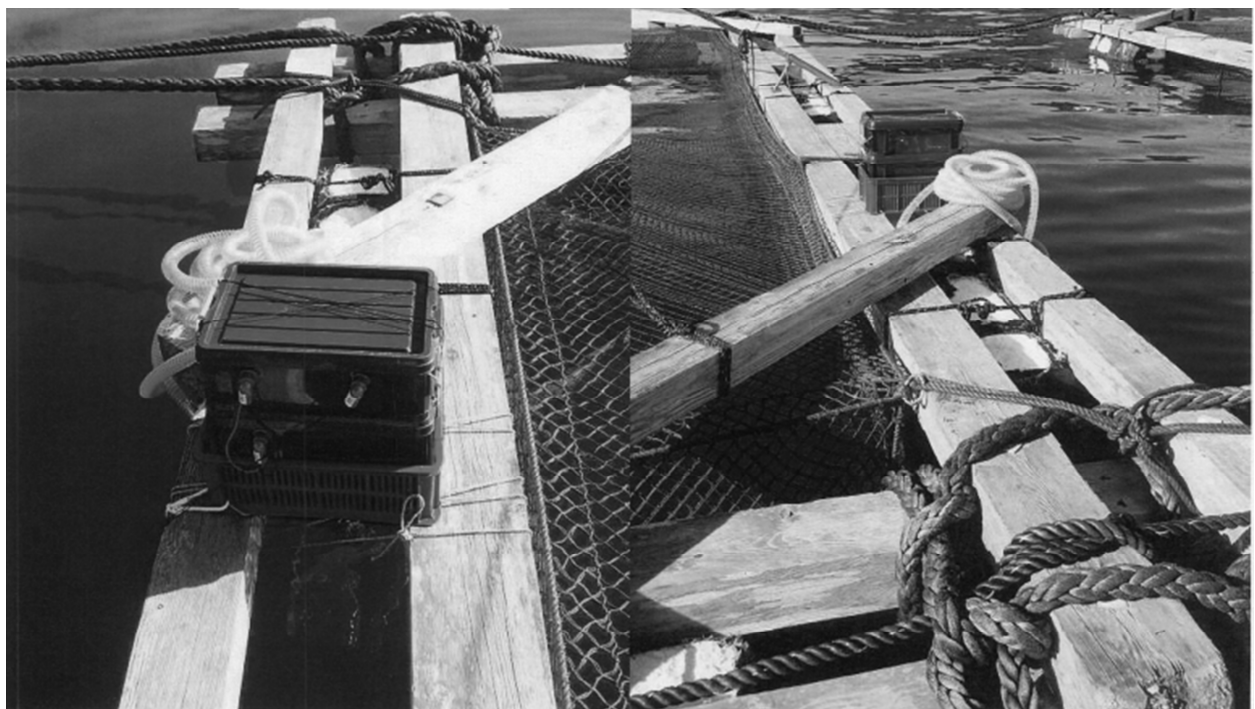


図5 設置した定時採水器



表3 定置網で漁獲されたブリのペコ病遺伝子保有調査結果

単位:陽性数/検査個体数

日付	椎名大敷	木下大敷	以布利大敷	窪津大敷
6月2日	0/10			
6月4日			0/30	
6月5日	1/10			
6月8日				0/4
6月9日				0/4
6月12日	1/10			
6月15日	2/10			
6月17日	1/20			
6月18日	0/18			
6月25日	10/20			
6月26日	7/21			
6月29日		6/45		
6月30日	3/10			
7月2日		11/108		

\*6/25の椎名大敷のサンプルからシストを確認