

5. 魚病対策技術開発事業

杉原志貴・松倉一樹・宮原治郎・宮木廉夫・平野慶二

この事業の目的は、県内の養殖業者に対して最も被害を及ぼしている魚病や他県でまん延して大きな被害を与えているような魚病などの診断・治療・防疫技術の開発を行い、その技術を迅速に普及し、魚病に関する情報の交換をスムーズに行う体制を充実強化するものである。

I. 総合推進対策

養殖衛生に関する情報収集、関係機関との情報交換および防疫対策技術の普及等を目的とし、全国会議への出席(表1)、地域合同検討会への出席(表2)、県内防疫対策会議の開催(表3)を実施した。

表1 全国会議

開催時期	開催場所	主な議題
28年12月7～8日	三重県	・話題提供
29年3月10日	東京都	・水産防疫対策の概要 ・水産防疫対策事業の結果概要 ・薬事関係のトピックス ・平成29年度予算の概要 ・その他

表2 地域合同検討会

開催時期	開催場所	主な議題
28年10月13～14日	大分県	・各県魚病発生状況 ・症例検討, 研究発表, 話題提供 ・総合討議 ・その他
29年2月15～16日	愛媛県	・各県魚病発生状況 ・技術講演 ・話題提供, 研究発表 ・総合討議 ・その他

表3 県内防疫対策会議

開催時期	開催場所	主な議題
28年12月12～13日	長崎市	・魚病関連会議等の情報について ・魚病発生状況および魚類養殖指導上の問題点 ・話題提供, 事例紹介 ・総合討議 ・マダイ, プリのVHS目視検査について
29年3月7日	長崎市	・水産用ワクチンの使用状況について ・水産用ワクチンの指導体制について ・長崎県魚類養殖防疫協議会規約の一部改正について ・その他

II. 養殖衛生管理指導

1. 水産用医薬品の適正使用指導

水産用医薬品等の使用の適正化を図るため、随時指導を行った。

2. 適正な養殖管理・ワクチン使用の指導

適正な養殖管理、防疫対策と水産用ワクチンの適正使用を図るため、養殖衛生講習会(表4)を開催した。

また、診断技術向上のため、魚病診断技術講習会(表5)を開催した。

III. 養殖場の調査・監視

養殖業者に対し医薬品使用状況の調査を行うとともに、医薬品等の使用歴のある養殖魚のうち、出荷前のもについて簡易検査法により医薬品残留検査を行った。マダイ20検体、トラフグ10検体、ブリ2検体、クロマグロ5検体を検査した結果、全ての検体から薬品は検出されなかった。

IV. 疾病対策

水産業普及指導センターと連携し、県内で発生した197件の魚病について付表4-1～3のとおり診断および被害調査等を実施した。

表4 養殖衛生講習会

開催時期	開催場所	対象者(人数)	内容
28年7月8日	佐世保市	養殖業者等 (計35名)	白点病と吸虫性旋回病について
28年7月22日	佐世保市	養殖業者 (計14名)	白点病と吸虫性旋回病について

表5 魚病診断技術講習会

開催時期	開催場所	対象者(人数)	内容
28年10月3日	総合水試	普及員 (計2名)	魚病診断について
28年10月5日	総合水試	普及員 (計2名)	魚病診断について
28年12月13日	総合水試	普及員 (計1名)	魚病検査実習

V. 細菌性疾病の防除技術開発に関する基礎研究

杉原志貴・金井欣也*

予防策がなく、被害的にも多い疾病については、ワクチンや治療薬等の防除技術の開発が必要と考えられる。また、ワクチン開発のためには病原菌の性状や対象魚の免疫機構等の基礎的研究が必要である。本課題では、ワクチン等の技術開発に向けての基礎資料とするために、細菌性溶血性黄疸を対象疾病として以下の研究を行った。

1. 細菌性溶血性黄疸に関する研究

細菌性溶血性黄疸はブリで発生するが、カンパチでの発生の報告はない。本研究では、原因菌(黄疸症菌)の病原機構を解明することを目的に、黄疸症菌のブリおよびカンパチに対する病原性、両魚種血清の殺菌作用に対する抵抗性、溶血性、赤血球凝集能を調べた。

病原性試験では、L-15 培地培養菌を遠心分離で集菌して10倍に濃縮した菌懸濁液とその10倍階段希釈系列をブリおよびカンパチ稚魚の尾部血管に接種し、2週間流水飼育して発病および死亡経過を観察した。血清の殺菌試験では、両魚種の新鮮血清および非働化血清(48°C, 30分加熱処理)に培養菌液を添加後、1, 3, 6時間後に一部を取り、L-15 培地を分注したマイクロプレートでそれぞれ10倍階段希釈系列を作製し、7日間培養後、600nmで濁度を測定して菌の発育状況を観察した。溶血性試験では、ヘパリン入りの注射筒で採取した血液に、50倍濃縮菌懸濁液を添加して室温で8時間培養後、遠心分離して溶血の有無を観察した。赤血球凝集試験では、マイクロプレートで50倍濃縮菌懸濁液の2倍階段希釈系列を作製し、各ウェルに3%赤血球浮遊液を添加し、冷蔵庫で3時間静置後、凝集の有無を観察した。

病原性試験では、カンパチは10倍濃縮菌懸濁液接種区で遊泳が若干緩慢になる個体が見られたが、いずれの菌濃度でも貧血や黄疸は観察されず死亡魚も出現しなかった。ブリでは10倍濃縮菌懸濁液からその1000倍希釈菌液まで死亡が見られ、すべての死亡魚に、体色の黄

化、鰓の褪色、脾臓の腫大が認められた。

ブリおよびカンパチの新鮮血清と非働化血清ともに殺菌作用が認められた。また、カンパチの血清では、血清の希釈度が低いウェルで菌の増殖抑制が観察された。ブリ、カンパチともに溶血および赤血球凝集は観察されなかった。

病原性試験の結果から、カンパチはブリよりも黄疸症菌に対する感受性が1,000倍以上低いと考えられた。カンパチの感受性が低い理由を明らかにする目的で、血清の殺菌作用、溶血性、赤血球凝集能について調べた結果、両魚種の新鮮血清および非働化血清ともに殺菌作用が認められたことから、補体以外の殺菌性物質の関与が示唆された。また、カンパチには殺菌物質のほか、発育阻害物質があることが示唆された。溶血性および赤血球凝集能については、本病が溶血性黄疸であり、顕微鏡観察で赤血球に黄疸症菌が付着しているのが観察されることから、今回、両性状が観察されなかった理由について今後検討する必要がある。

なお、実験に使用したブリは、国立研究開発法人水産研究・教育機構西海区水産研究所五島庁舎で生産されたものである。

まとめ

- 1) カンパチはブリに比べて黄疸症菌に対する感受性が低かった。
- 2) ブリおよびカンパチ血清の黄疸症菌に対する発育阻害活性に差が見られた。

(担当 杉原)

VI. 寄生虫性疾病の対策検討

クロマグロやトラフグ養殖で問題となっている寄生虫性疾病について、侵入時期や感染経路等解明されていない部分が多く基礎的研究が必要であることから、以下の研究を行った。

1. クロマグロ住血吸虫に関する研究

県内養殖場での住血吸虫の寄生動向調査 県内のクロマグロ養殖場での住血吸虫の寄生状況や流行時期等を把握するために、クロマグロ養殖場で継続的に斃死魚をサンプリングし、住血吸虫の周年の動向を調査した。

* 長崎大学水産学部

中間宿主フサゴカイに移植した住血吸虫幼生の動態

クロマグロ住血吸虫幼生の中間宿主内での動態を調べるために、クロマグロ住血吸虫 *Cardicola opisthorchis* に感染しているフサゴカイから住血吸虫のスポロシストを取り出し、それを非感染フサゴカイに移植して、増殖動態を観察した。移植後、スポロシストが娘スポロシストを産出して増殖し、スポロシスト数は移植51日後に最高138個にまで達した。また、移植38日後から、フサゴカイ内において、セルカリアを含有しているスポロシストが出現し、移植57日後にはフサゴカイ体外へセルカリアが放出された。

詳細は、*Parasitology International* 66 (2017) 839-842. Transplantation of *Cardicola opisthorchis* (Trematoda: Aporocotylidae) sporocysts into the intermediate host, *Terebella* sp. (Polychaeta: Terebellidae). にて報告した。

高水温期における感染源について 過年に実施した養殖生簀ロープ(水深1~2m)における *C. opisthorchis* 幼生と中間宿主の周年の出現状況調査では、高水温期には中間宿主フサゴカイの生息数および住血吸虫感染率は低くなる傾向が見られた。今回、高水温期の感染源が比較的深い場所にある可能性を検証するため、生簀網底(水深15m)の付着物を調査した結果、中間宿主フサゴカイが145個体得られ、そのうちの25%が *C. opisthorchis* に感染していたことから、高水温期の感染源は生簀網底の付着物であることが判明した。

養殖場における住血吸虫2種の出現状況 平成23~26年度に住血吸虫検査として水産試験場に持ち込まれたクロマグロ1,071検体を検査した結果、40%から *C. opisthorchis* が、16%から *C. orientalis* が検出され、持ち込まれた検体の99%以上が5kg未満であった。

人工種苗沖出し後の住血吸虫2種の寄生動向 人工種苗を住血吸虫症の既発生養殖場に沖出しし、経日的に体各部位の住血吸虫出現状況を調査した。その結果、人工種苗沖出し翌日には2種の住血吸虫が体各部位からPCRで検出され、42日後に心臓に *C. opisthorchis*

成虫が出現し、その2日後に虫卵が放出されているのが観察された。

これまでの研究結果からの考察 クロマグロ住血吸虫 *C. opisthorchis* は、天然種苗とともに養殖場内へ侵入し、養殖生簀内のクロマグロとフサゴカイ間で感染を繰り返す。そこに未感染種苗を導入すると1日以内に住血吸虫に感染し、感染した住血吸虫は40日前後で成虫となり虫卵を放出する。また、クロマグロは5kgを超えると住血吸虫が寄生していても斃死しなくなる。これらのことから、治療のための投薬は、種苗を導入した直後と、体重が5kg程度に成長するまでの間、30~40日間隔で行うのが有効と考えられた。また、中間宿主フサゴカイは養殖生簀付着物に生息していることから、網掃除をして生簀の付着物を除去することが住血吸虫症による被害の低減につながると考えられる。

2. トラフグの粘液胞子虫性やせ病に関する研究

抗病性家系の探索① やせ病に対して抗病性が高い可能性がある親魚候補から種苗生産された8系統の当歳トラフグを用いて攻撃試験を2回実施した。その結果、抗病性が高い家系を見出すことはできなかったが、生き残った個体が抗病性を有している可能性があるため、今後、これらの個体を親魚候補として育成する。

抗病性家系の探索② ①とは別の親魚の組み合わせにより13系統の種苗を生産し、攻撃試験を実施中である。

まとめ

- 1) クロマグロ住血吸虫 *C. opisthorchis* の対策には、天然種苗導入時と、魚体重が5kg程度に成長するまで30~40日間隔で投薬することが有効と考えられた。
- 2) 収集した粘液胞子虫性やせ病の抗病性親魚候補トラフグから種苗生産し、攻撃試験を実施したが、抗病性が高い家系は見出せなかった。今後は、生き残った個体を抗病性が高い個体候補として育成する。

(担当: 杉原)