

6.魚病対策事業

(1) 担当：丹下菜穂子・倉長亮二・松田成史（生産技術室）

(2) 実施期間：H19年度～（平成21年度予算額：1,549千円）

(3) 目的・意義・目標設定：

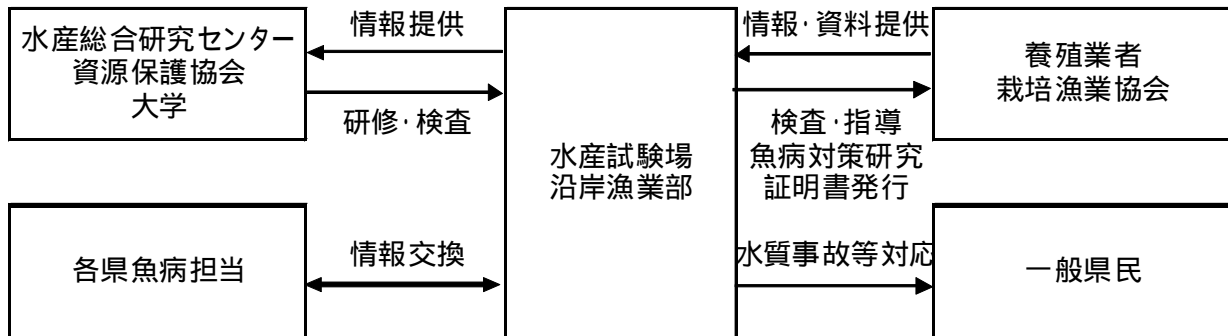
持続的養殖生産確保法，薬事法，食品衛生法などにに基づき検査等行う。

巡回指導や魚病検査を行い，魚病被害を低減させる。

疾病の検査証明書を発行する。

水産物の生産過程で問題となっている疾病の対策を行う。

(4) 事業展開フロー



(5) 取り組みの成果

【小課題 - 1】：巡回指導・魚病指導・魚病検査・薬剤残留検査・魚病対策

1) 目的

養殖場の巡回指導，魚病検査を行い，魚病の被害を防ぐ。また，天然魚についても必要に応じて検査を行い，被害の蔓延防止対策の基礎とする。養殖生産魚について，薬剤残留検査を行い，食の安全を確保する。種苗生産期の疾病として問題となっているものの解決策を検討する。

2) 方法

巡回指導・魚病指導：県内養殖業者を巡回，もしくは勉強会を開催し，疾病の発生について注意を促すと同時に，適正な薬剤使用を指導した。

魚病検査：養殖・天然域で斃死，衰弱した水産物の疾病について検査を行い，対処方法を指導した。

検査証明書の発行：鳥取県栽培漁業センター手数料条例に従い，活魚取引上必要な検査証明書を発行した。

薬剤残留検査：薬剤を使用した養殖業者の出荷予定魚に使用薬剤が残留していないか検査する。検査は畜水産食品中の残留抗生物質簡易診断法（改訂）に従った。

魚病対策：内水面魚病対策として，（ ）銅イオンウールを利用した飼育における濁水時の影響，海面魚病対策として，（ ）平成21年5月に発生したヒラメスクーチカ症について，（ ）スクーチカ症発症ヒラメ群における体組織別原因織毛虫(*Miamiensis avidus*)の検出について調査した。

3) 結果

巡回指導・魚病指導

平成21年4月から平成22年3月末日までの指導項目別魚種別延べ指導件数を図1に示した。巡回によるものと講習会によるものがほぼ同じ件数で電話での相談によるものが若干数あった。魚種別延べ指導件数を図2に示した。近年，ホンモロコ業者が増加しており（現在54者），その割合も大きくなっている。ホンモロコの病気は外部寄生虫（ギロダクチルス症，キロドネラ症等）によるものと細菌性疾病（運動性エロモナス症）がほとんどで，原因として地域および飼育環境に適した飼育技術が確立していないことと，飼育管理技術が徹底していないことが考えられる。今年度はアオミドロや外的生物（ゲンゴロウ，ヤゴ，オタマジャクシ等）といった稚魚期の生き残りに影響する要因が見出された。サケ科魚類では魚病の問題と併せて生産魚の販路が少なくなっているという話が

多く廃業に至るケースもあった。

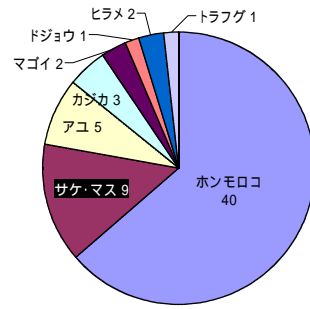
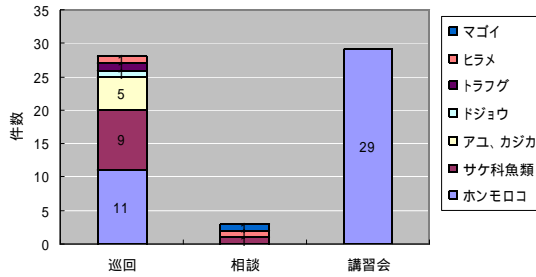


図1 平成21年度指導項目別魚種別延べ指導件数

図2 平成21年度魚種別延べ指導件数

魚病検査

H21年度の魚病診断状況を表1に示した。

表1 平成21年度疾病診断状況

| 内水面魚種 | | | H21 | | | | | | | | | | H22 | | | 合計 |
|----------|---|------|---------|---|---|---|---|---|----|----|----|---|-----|---|---|----|
| 魚種 | 魚病名 | 区分 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | | |
| ヤマメ | 冷水病 + せつそう病 | 養殖 | | | 1 | | | | | | | | | | 1 | |
| | 白点病 + 冷水病 | 養殖 | | | | 1 | | | | | | | | | 1 | |
| ニジマス、マゴイ | 窒素ガス病 | 養殖 | | | | 1 | | | | | | | | | 1 | |
| アマゴ | 冷水病 | 養殖 | | 1 | | | | | | | | | | | 1 | |
| アユ | 冷水病 | 養殖 | | | | 1 | | | | | | | | | 1 | |
| | 冷水病 | 天然水系 | | | | 1 | | | | | | | | | 1 | |
| コイ・ニシキゴイ | コイヘルペスウイルス病 | 個人池 | | | | | 2 | 2 | | | | | | | 4 | |
| フナ、マゴイ | 運動性エロモナス症 | 天然水系 | | | | | | 1 | | | | | | | 1 | |
| ウグイ | 運動性エロモナス症 | 天然水系 | | | | | | | | 1 | | | | | 1 | |
| ホンモロコ | 運動性エロモナス症 | 親魚養成 | | | | | | | | | | 1 | | | 1 | |
| | 精巣の腫大 | 親魚育成 | | | | | | | | | | | 1 | | 1 | |
| | | | 内水面魚種合計 | | | | | | | | | | 14 | | | |
| 海面魚種 | | | H21 | | | | | | | | | | H22 | | | 合計 |
| 魚種 | 魚病名 | 区分 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | | |
| アユ | 脊索白化症 | 種苗生産 | | | | | | | | | | 1 | | | 1 | |
| | ピブリオ病 (<i>V. anguillarum</i>) | 種苗生産 | | | | | | | | | | 1 | 1 | 1 | 3 | |
| | 鰓フロック | 種苗生産 | | | | | | | | | | 1 | | | 1 | |
| | 運動性エロモナス症 | 親魚育成 | | | | | 1 | | | | | | | | 1 | |
| | スクーチカ症 | 親魚育成 | | | | | | | 1 | 1 | 2 | | | | 4 | |
| アユカケ | イクチオボド症 | 親魚育成 | | | | | 1 | | | | | | | | 1 | |
| | <i>Photobacterium damsella subsp damsella</i> | 親魚育成 | | | | | | | | | | 1 | | | 1 | |
| | 感染症 | 親魚育成 | | | | | | | | | | | | | 1 | |
| | 不明病 (生理障害) | 親魚育成 | | | | | | | | | | | | 1 | 1 | |
| カサゴ | ミクロコチレ症 | 種苗生産 | | 1 | | | | | | | | | | | 1 | |
| | スクーチカ症 | 養殖 | | | | | | | | | | | | | 0 | |
| | 不明 | 種苗生産 | | | | | 1 | | | | | | | | 1 | |
| クロアワビ稚貝 | スクーチカ症? (分離繊毛虫がPCRで <i>M. avidus</i> +) | 種苗生産 | | | | | | | | | | 1 | | | 1 | |
| | スクーチカ症 | 種苗生産 | | 1 | | | | | | | | | | | 1 | |
| ヒラメ | トリコジナ症 | 養殖 | | | 1 | | | | | | | | | | 1 | |
| | 餌料の腸詰まり | 養殖 | | | | | | | | | | 1 | | | 1 | |
| | イクチオボド症 + 線虫寄生 | 養殖 | | | | | | | | | | | 1 | | 1 | |
| トラフグ | 肝機能障害 | 養殖 | | | | | | | 1 | | | | | | 1 | |
| マダイ | 白点病、冷水性ピブリオ病? | 畜養 | | | | | | | | | | 1 | | | 1 | |
| キジハタ | ハダムシ | 親魚養成 | | 1 | | | | 1 | | | | | | | 2 | |
| バイ | フランシセラ属の細菌感染症 | 種苗生産 | | | | 1 | | 2 | | | | | | | 3 | |
| | 不明病 (殻脱ぎ症) | 種苗生産 | | | | | | | | | | 1 | 1 | 1 | 3 | |
| | | | 海面魚種合計 | | | | | | | | | | 30 | | | |

特記事項は以下のとおりである。

内水面魚種：) H21年8月に八頭町の個人池でコイヘルペスウイルス病の発生があり、死亡ゴイが発見された集落の11軒で全数処分を行った。) H21年9月に東郷池でコイ、フナで運動性エロモナス症による大量斃死があった。なお、昨年度日野川で初めて確認されたアユのエドワジェラ・イクタルリ感染症については魚病被害が少ないことから今年度はモニタリングを行わなかった。

海面魚種：) 栽培漁業センターのヒラメ種苗生産で2年ぶりにスクーチカ症が発生した。センター内の飼育魚ではアユカケおよびカサゴでもスクーチカ症の発生が見られ、センター内の給水

(特に井戸海水)由来の発生が疑われる。)H22年1月以降,アユ種苗生産で脊索白化症およびピブリオ病が発生した。前者は水産総合研究センター養殖研究所により感染症ではなく環境性要因(栄養失調,紫外線,塩分濃度,毒物等)によるものと診断され,後者は投薬により対処した。)クロアワビやバイ種苗生産で原因不明の生産不調があり,飼育水中から繊毛虫を分離し,一部魚類のスクーチカ症の原因種*M. avidus*であることが分かったが病原性の確認は出来なかった。バイについては養殖研究所により一部フランシセラ属の細菌感染症であると診断された。

検査証明書の発行

表2にH21年度の検査証明書の発行状況を示した。コイヘルペスウイルス病(KHVD)2件について検査証明書を発行した。アユ冷水病およびSVCについては検査依頼が無かったため,今年度の発行実績は無かった。

表2 検査証明書発行実績

| 魚種 | 疾病 | 件数 | 証明書発行枚数 | 証紙徴収額 |
|-------|------|----|---------|--------|
| ニシキゴイ | KHDV | 2 | 5 | 29,500 |
| 合計 | | 2 | 5 | 29,500 |

薬剤残留検査

フロルフェニコールの使用履歴があるA養魚場のイワナ3個体について検査を行った結果,いずれの個体からも残留薬剤は検出されなかった。

魚病対策

銅イオンウールを利用した飼育における湯水時の影響

背景

09年6月に県内の養殖場でヤマメ当歳魚の大量斃死があった。

この養魚場では08年9月から銅イオンウール(日本スチールウール株式会社製)をメーカー推奨量袋に入れ,各池に吊るして飼育していた。今回の飼育群は産卵孵化時から銅イオンウール入りの水槽で管理されていた。これまで水カビ病の発生はなく,5月までは他の魚病の発生もなく順調に飼育されていたが,6月以降水温が15度前後に上昇し,水量が減ってきたのを機に飼育池5基のうち3基で大量斃死が始まった。

6月5日に瀕死魚(75-108mm)と飼育池2基の飼育水を採取した。魚病検査で冷水病とせっそう病の混合感染が確認され,飼育水の銅濃度はそれぞれ0.066mg/l(水産用水基準の73.3倍),0.106mg/l(同基準の117.8倍)だった。

今回は,魚病以外に銅イオンウールの使用上の問題を検証するため,湯水による飼育水中の銅濃度の変化と飼育魚への影響を調べた。

材料および方法

供試魚として水産試験場で飼育されているホンモロコ1歳魚(平均全長71.23mm,平均体重3.195g)を使用した。供試魚群はあらかじめ菌分離およびPCR検査により冷水病およびせっそう病ではないことを確認した。

飼育水槽はアクリル製30L容キューブ水槽を用いた。表3に試験区および対照区の設定を示した。試験区は6区設定し各試験区に14.4g,ないしは28.8gの銅イオンウールを収容し,試験区の注水量を0.3,0.6,0.9および1.8L/minとした。対照区は試験区の最少量と同量(0.3L/min)の注水のみとした。銅イオンウール使用時のメーカー推奨量は「毎分流量×8~12(g)」となっており,この計算式の8~12を銅イオンウール量係数=銅イオンウール量(B)/注水量(L/min)(A)とした。試験区1がメーカー推奨量に当たる。各区とも2水槽ずつ設置し,各水槽に供試魚を20尾ずつ収容し,エアレーション,無給餌で飼育し,死亡魚が出た水槽は全滅するまで飼育を続けた。なお,飼育水中の銅濃度はポータブル銅濃度計(ハック・カンパニー)で測定した。

表3 試験区および対照区の設定

| 試験区 | 注水量 A(L/min) | Cu ²⁺ ウール 量B(g) | Cu ²⁺ ウール 量係数 B/A |
|-----|-----------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 1.8 | 14.4 | 8 |
| 2 | 1.8 | 28.8 | 16 |
| 3 | 0.6 | 14.4 | 24 |
| 4 | 0.9 | 28.8 | 32 |
| 5 | 0.3 | 14.4 | 48 |
| 6 | 0.3 | 28.8 | 96 |
| 対照区 | 0.3 | 0 | 0 |

表4 試験区別平均銅濃度

| 試験区 | Cu ²⁺ ウール 量係数 B/A | 銅濃度(ppm) | | |
|-----|------------------------------------|----------|------|------|
| | | 平均 | 最小値 | 最大値 |
| 1 | 8 | 0.015 | 0.01 | 0.02 |
| 2 | 16 | 0.048 | 0.04 | 0.06 |
| 3 | 24 | 0.058 | 0.03 | 0.10 |
| 4 | 32 | 0.100 | 0.08 | 0.11 |
| 5 | 48 | 0.117 | 0.05 | 0.25 |
| 6 | 96 | 0.308 | 0.22 | 0.45 |
| 対照区 | 0 | 0.000 | 0.00 | 0.00 |

結果

飼育水の水温は注水量が少なくなるにつれて高くなったものの、概ね 18.0-20.9 で推移した。表 4 に試験区別銅濃度と図3に銅イオンウール量係数と平均銅濃度の関係を示した。飼育水の平均銅濃度と銅イオンウール量係数はほぼ正比例し、係数の増加とともに銅濃度が高くなった。

図 4 に試験区 2, 4 および 6 の入槽 3 時間後の供試魚の遊泳状況を示した。

試験区 2 および対照区は魚が底面で落ち着いて

遊泳していたが、試験区 4 では底面から水面にかけて魚が満遍なく広がって遊泳し、試験区 6 ではほとんどの魚が水面で遊泳していた。試験区 6 の魚の動きは特に激しく酸欠状態のときにも似ていた。図 5 に試験区別ホンモロコの死亡状況を示した。試験区 6 では実験開始から 3 時間以内に死亡が始まり、24 時間以内に全滅した。試験区 4, および 5 でも実験開始から 18 時間以内に死亡が始まり、48 時間以内に死亡率が 95 % 以上に達し、66 時間以内に全滅した。試験区 1, 2, 3 および対照区では 66 時間以内での死亡は見られなかった。死亡魚は口または鰓や胸鰭を開いた状態で死後硬直しており、多くの個体の腹部に筋肉出血が見られた(図 6)。

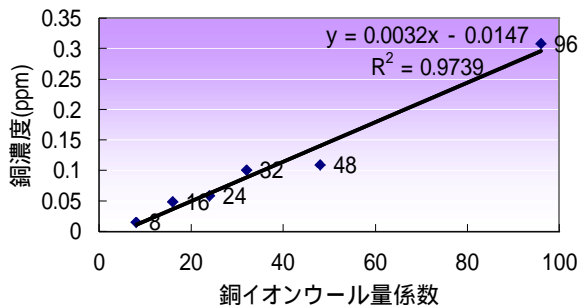


図3 銅イオンウール量係数と平均銅濃度の関係

考察

今回の実験で飼育水中の銅濃度は、銅イオンウール量係数から単純計算して考えるとメーカー推奨量(試験区 1)に対して試験区 2 から 6 までは 2 倍, 3 倍, 4 倍, 6 倍, 12 倍になったと推定される。その結果、試験区 6 では 24 時間以内に全滅し、試験区 4 および 5 でも 48 時間以内に 95%以上が死亡し 66 時間以内に全滅した。また試験区 3 も継続飼育したところ実験開始後 6 日目に死亡が確認され 8 日目までの死亡率は 27.5%になった(図5)。これらのことから飼育水中の銅濃度の上昇はホンモロコの生残に影響をおよぼすことが分かった。メーカー推奨量の銅イオンウールを使用した場合、飼育水の流量が濁水等により 1/2 に減少しても当面、飼育魚に影響は出ないが、1/3 に減ると影響が始め、1/4 以下に減ると急激に死亡のリスクが高まることが予想される。

試験区別ホンモロコの死亡状況と銅濃度の変化を図 7 に示した。各試験区の平均銅濃度の推移はどの区でもまず魚を入槽すると一旦下がり、試験区 3 から 6 については死亡により生残魚が減ると上がるという傾向が見られ、生魚体がある程度の銅を体内に吸収していることが示唆された。また、飼育魚の生残を分ける銅濃度は 0.05ppm から 0.10ppm の間にあると考えられ(図3)、その濃度は飼育魚が何らかの理由で大量斃死した場合、急激に上がることも予想され、飼育水中の銅濃度を安定させるためには流量が一定であることが必須である。

以上のことより、銅イオンウールの使用に際しては飼育水の流量に対して適正な量を使用することが重要で、濁水時や大量斃死時は速やかに銅イオンウールを飼育水から引き上げる対処が必要と考えられた。

試験区 2

試験区 4

試験区 6

対照区

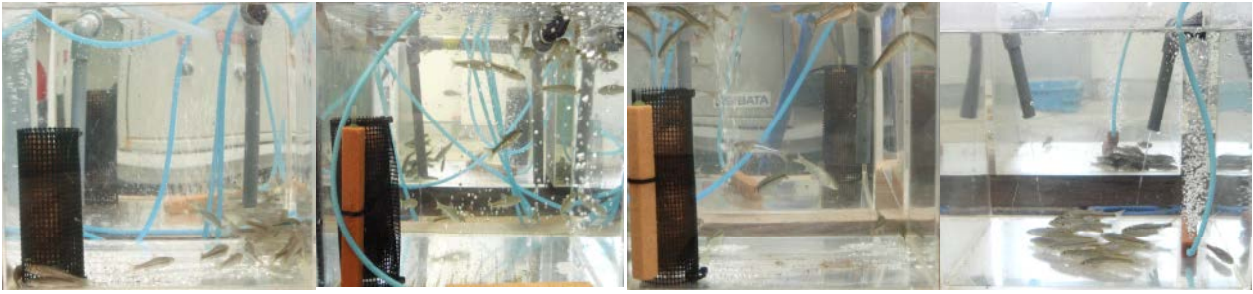


図4 試験区別ホンモロコの遊泳状況（入槽3時間後）

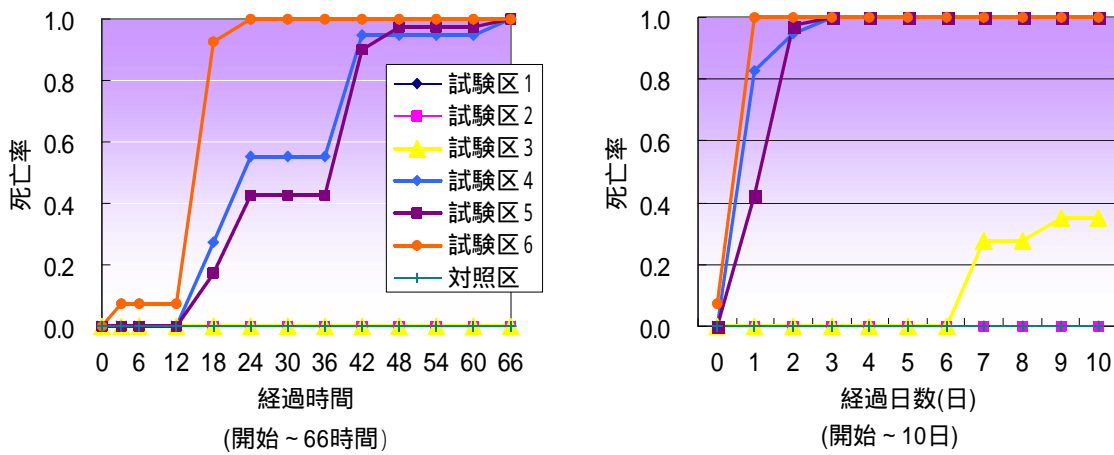


図5 試験区別ホンモロコの死亡状況



図6 死亡魚の外観

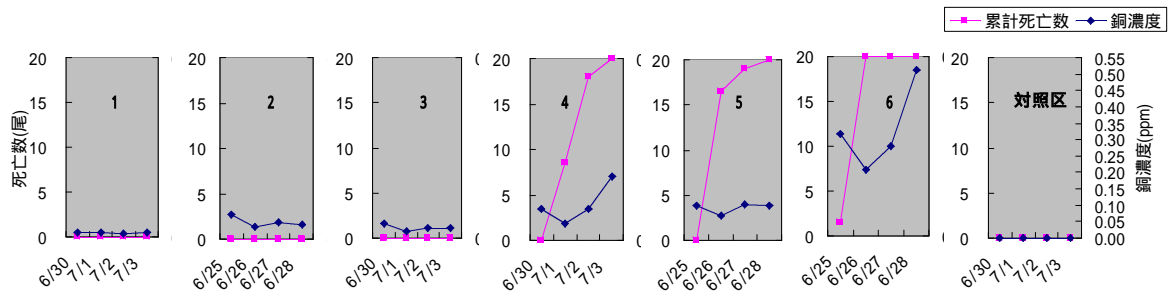


図7 試験区別ホンモロコの死亡状況と銅濃度の変化
スクーチカ症対策関連試験

）ヒラメスクーチカ症原因繊毛虫の検出方法の改良等について

背景

韓国，日本国内で発生 of スクーチカ症は *Miamiensis avidus* がメインの原因種であり，*M. avidus* は近縁の *Pseudomonas persarinas*, *P. hargisi*, *Uronema marinum* に比べ病原性が高いことが判明している．現在，国内で魚類の外部寄生虫対策に利用可能な化学療法剤および有効なワクチンはないため，本症対策には診断が重要であることからこれまでに *M. avidus* を特異的に検出するPCRを開発した．そのPCRで診断した結果，鳥取をはじめ，愛媛および福井での事例についても本種が原因であった．今回は飼育水，配管中の残り水からも *M. avidus* を検出できる方法を検討した．

材料, 方法

供試繊毛虫株

【JF05To株】鳥取県栽培漁業センターで発生したスクーチカ症のヒラメ脳をEPC細胞に接種して25℃で培養・増殖後，液体培地YEHS：ラブレコパウダー2%，Yeast ex.0.5%，ブドウ糖0.5%，食塩0.8%，馬血清5%）を使って18℃で継代培養したもの．

DNA 抽出

10⁵ cells/ml の *M. avidus* 培養液を濾過海水（0.45 μm）で10倍段階希釈し，（方法A）900 μL の希釈液に500 μL のグリセロールを加える．（方法B）900 μL の希釈液に20 μL のEPC分散液（21,000 cells）を加え25℃で一晩培養．これらを14,000rpm（25,000 × g），4℃で5分遠心し，上清を除去し，200 μL のPBS（-）を加えてホモジナイズし，DNeasy Blood & Tissue Kit（QIAGEN）を使ってDNAを抽出し，50 μL のAE buffer に溶解した．

PCR 反応

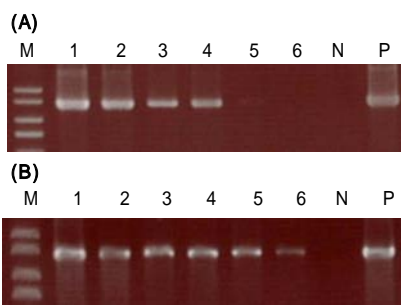
| 反応組成 (Total vol.:20 μl) | | PCR Cycle | | |
|--------------------------|---------|-----------|--------|-------------|
| 10 × PCR buffer | 2.0 μl | 95 | 5min | preheating |
| 2.5mM dNTP Mixture | 1.6 μl | 95 | 1min | 40cycles |
| F primer MA-F(10 μM) | 1.0 μl | 58 | 1min | |
| R primer MA-R(10 μM) | 1.0 μl | 72 | 1.5min | |
| TaKaRa Ex Taq HS(5U/ μl) | 0.1 μl | 72 | 5min | final cycle |
| DW | 13.3 μl | 4 | | |
| Template DNA(< 200ng) | 1.0 μl | | | |

F primer : MA-F 5'-GTA ACT GAT CGA ATC TCT TCA C-3' (22mer)

R primer : MA-R 5'-TTC CCG TTC ACG CAA GCG T-3' (19mer)

結果

表5 海水中の *M. avidus* のPCR検出限界



| | Dilution rate | Cell concentra | PCR | |
|---|------------------|---------------------|---------|-----|
| | | | (A) | (B) |
| 1 | 10 ⁰ | 10 ⁵ /ml | + | + |
| 2 | 10 ⁻¹ | 10 ⁴ /ml | + | + |
| 3 | 10 ⁻² | 10 ³ /ml | + | + |
| 4 | 10 ⁻³ | 10 ² /ml | + | + |
| 5 | 10 ⁻⁴ | 10 ¹ /ml | +(weak) | + |
| 6 | 10 ⁻⁵ | 10 ⁰ /ml | - | + |

図8 海水中の *M. avidus* のPCR検出限界 (A)グリセロール添加，(B)EPC細胞添加

海水中に懸濁した *M. avidus* の希釈サンプルに何も添加しないでDNAを抽出した場合、PCRの陽性反応は 10^5 細胞/mLのサンプルからしか得られなかった（データは省略）。これは、回収したペレットが崩れやすいことから、上清を除去する際に *M. avidus* の細胞を一緒に捨ててしまい、結果としてDNA回収率が低くなることに起因すると考えられた。図8および表5に海水中の *M. avidus* のPCR検出限界を示した。グリセロールを添加することにより遠心後のペレットが強固になりDNA回収率が高くなったことから、検出感度は10細胞/mLのサンプルまで 10^4 倍向上した。また、サンプルにEPC細胞の分散液を添加し一晚培養することにより1細胞/mLのサンプルからも反応が得られ、検出感度はさらに10倍向上した。

）平成21年5月に発生したヒラメスクーチカ症について（症例）

発生状況

平成21年5月、栽培漁業センターで井戸海水（15℃）で育成中のヒラメ稚魚（日齢120）にスクーチカ症が発生した。2月20日から徐々に淡水を加えられ、塩分10-15‰程度で一日4-5回転の換水で飼育されていた。

5月11-12日頃から死に始め、口吻の発赤、体表面の発赤といったスクーチカ症が疑われる症状が見られたが、以前メイタガレイ親魚で見られたような体表の潰瘍は見られなかった。当初滑走細菌症を疑い、5月13-15日にニフルスチレン酸ナトリウム浴を行ったが15-16日にかけて死亡数が多くなった。18日に鰓および脳の検鏡およびPCR検査で診断した。その後、水槽底面に砂を敷き、異常魚を除去し、換水率を上げたが状況がよくなり処分した。

発生の原因について

配管を通じ、飼育水から原因種が供給されたと考えられる。近年、汽水状態にすることにより、より発生のリスクが高まることが報告されており、汽水飼育も影響していると考えられた。また、滑走細菌症を疑って薬浴をしたことにより状況がさらに悪化したと考えられる。

）スクーチカ症発生群の体組織別 *M. avidus* の検出

材料および方法

）のヒラメスクーチカ症自然発症群から20尾を無作為に抽出し、外的症状があるものとなないものに分けてそれぞれ、体表粘液、脳、鰓および筋肉をサンプリングし、DNA抽出してPCRを行った。

結果

結果を要約すると、外的症状がある群の方が無い群よりも検出率は高かった。いずれの群も脳の検出率が他の組織に比べて高かった。外的症状が無くても脳への寄生がいち早い傾向が伺えた。詳細な結果については論文投稿中である。

4）全体の考察（成果）

内水面養殖業で近年利用者が増加している（全国で112者：日本スチールウール株式会社提供資料）銅イオンウールは水カビ、鰓病等の予防に効果があるとされているが、今回の実験により湯水時には飼育水中の銅濃度が上昇し、その魚毒性により飼育魚が死亡する可能性が示唆されたため、利用者には注意を促す必要がある。スクーチカ症対策関連試験では、原因繊毛虫の海水からの検出を検討し、DNA抽出時にグリセロールあるいはEPC細胞を添加することにより検出感度を向上させることが可能となった。

5）残された問題点及び課題

近年、サケ・マスやコイ等の以前から行われている養殖業は、生産および販売が順調な業者とそうでない業者の生産規模（量、額）に大きな差があり、抱えている問題も個々の事情で異なるため同様に指導することが困難であるため講習会は行っていない。しかし両魚種とも使用可能な薬剤が多く、問題となる疾病が多発する魚なので、もう少し巡回頻度を多くして注意する必要がある。ホ

ンモロコ生産業者に対する指導の機会が増えているが、採算に見合う生産業として成立させていくためには、魚病対策よりは基本的な飼育管理技術に重点が置いた密な指導が必要である。スクーチカ症の原因種の迅速な検出により飼育系統のどの部分にスクーチカ症のリスクがあるのかを早期に見極め、消毒、移槽、濾過器や海水のUV処理装置の設置等の対策を講じることによりスクーチカ症発生の損失を減じることが出来ると考えられる。しかし、発生を未然に防ぐためにはワクチン開発が課題でありそのための基礎データ収集が必要である。