

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450284

研究課題名(和文)ハダムシ被害軽減のための新しい防除技術の開発

研究課題名(英文)Development of new culture techniques to reduce skin fluke infection in fish farms

研究代表者

白樫 正 (SHIRAKASHI, Sho)

近畿大学・水産研究所・講師

研究者番号：70565936

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：養殖場で問題となっている寄生虫であるハダムシ(ネオベネデニア)の生態を調べたところ、ハダムシは光刺激を受けて午前中にふ化し、幼生は光に集まる性質があるため、主に明るい日中に表層付近で魚に寄生していることがわかった。そこで養殖生簀を遮光し暗くしたところ、寄生の大幅な軽減に成功した。ハダムシ1匹は1日最大700個程度産卵するため、寄生が重篤になると生簀網には1日1千万個以上の虫卵が蓄積し、その多くは生簀網上部に集中していることが分かった。これらの結果から効果的な虫卵除去法や被害軽減に繋がる飼育技術を提案した。

研究成果の概要(英文)：Skin fluke has been a chronic problem in aquaculture. The present study aims to understand the biology and ecology of *Neobenedenia girellae* and to develop practical methods to prevent infection in fish farms. Larval fluke are positively phototactic and the infection took place during mid-day near the water surface. Shading of culture cage successfully reduced the infection. An adult fluke laid over 700 eggs per day and the eggs accumulated on the culture cages at the maximum rate of over ten million eggs/day. Large proportions of eggs were attached on the upper part of the cages. Using these newly obtained information, we have proposed effective culture techniques to remove eggs from cage and to reduce infection in fish farms.

研究分野：魚病学

キーワード：魚病 寄生虫 生態 養殖 防除

1. 研究開始当初の背景

ハダムシは魚の体表に寄生する単生類で、寄生を受けた魚は成長阻害や二次感染を起こし、重篤な場合は死亡する。日本では海面養殖が始まった 1950 年代から殆どの養殖場で慢性的な問題となっている。特に 90 年代以降は海外から侵入した *Neobenedenia girellae* (以下、本虫) による寄生が蔓延し、多くの養殖場で深刻な問題となっている。本虫についてはその詳細な生態が把握されておらず、生物学的知見も少ない。現在のハダムシ対処法は魚を淡水 (淡水浴) もしくは過酸化水素水 (薬浴) に漬ける寄生後の駆虫に限られている。これらの方法は魚体からの虫体駆除には効果的だが、多大な労力とコストが掛かるため、養殖業者の大きな負担となっているだけでなく、魚にとっても大きなストレスとなる。そのため、養殖現場では新しいハダムシ対策が強く求められている。

2. 研究の目的

本研究ではハダムシによる被害と、現在実施されている駆虫作業を軽減するために、寄生を未然に防ぐ新しい防除法の開発を目的とした。これまで不明な点が多かった *N. girellae* の生態と寄生動態を調べ、それを利用した防除法の開発を目指した。

3. 研究の方法

(1) 本虫の産卵の日周期と光環境による影響を調べるため、被寄生魚を暗黒もしくは室内自然光下に置き、2 時間毎に産出された虫卵を数えた。供試魚にはハダムシを複数実験的に寄生させたカンパチ稚魚と、成虫 1 匹を人為的に移植したブラックモーリーを用いた。また、虫卵を異なる光条件下 (暗黒、自然光、LED 照明) に置き、ふ化の日周リズムについても調べた。併せて、魚体から採取した成虫をシャーレ内でビデオ撮影し、その繁殖行動を調査した。

(2) 本虫の虫卵は生簀網に絡まり易い性質があるため、生簀網上の虫卵の蓄積状況を水深別に調べた。寄生が見られるカンパチ養殖生簀の 4 側面に網を取り付け、2~3 日後に回収し、5cm 四方に蓄積した虫卵を数えた。実験は淡水浴による駆虫作業を行ってから 7、15、17 日目に計 3 回実施した。計数值から、網 4 側面における日間虫卵蓄積率を算出した。

(3) 生け簀の遮光によるハダムシ寄生抑制効果を調べるため、遮光率 99% の遮光幕を張った生け簀 1 基と、通常生け簀 2 基でマサバ稚魚を約 3 ヶ月飼育し、ハダムシの寄生状況を定期的に調べ、比較した。通常生け簀 2 基ではハダムシ寄生が一定レベルに達した時点で淡水浴もしくはプラジクアンテル投薬による駆虫を実施し、駆虫処理をしなかった遮光区ではどの程度駆虫作業が軽減できるか、その効果についても併せて調べた。

(4) 養殖場での寄生は表層付近で最も多い事が分かったため、生け簀を 4m 沈下させる簡易沈下生け簀を設計し、通常生け簀と隣り合わせでカンパチを飼育してハダムシ寄生状況を比較した。実験は奄美大島の養殖場で行った。

(5) 養殖場海域における本虫ふ化幼生の分布状況を調べるため、新しく *Neobenedenia* 特異定量 PCR 系を開発した。PCR の特異性は日本の養殖場でみられる近縁のハダムシ 4 種を用いて検証した。計数した *N. girellae* ふ化幼生とミトコンドリア DNA を対象としたプラスミド希釈列から検量線を得て、ふ化幼生 1 個体のミトコンドリアコピー数を算出した。また、遮光生け簀と非遮光生け簀内の表層海水 2L をフィルター濾過し、定量 PCR に供し、ふ化幼生の密度を比較した。

(6) 本研究の結果から生け簀の遮光と簡易沈下式生け簀を新しいハダムシ防除法として養殖業者に提案し、実際の養殖場での普及状況や実用性についての問題点等について鹿児島県と愛媛県の養殖業者に対してヒアリング調査を行った。

4. 研究成果

(1) *N. girellae* 成虫は光の有無、昼夜を問わず、数分毎に産卵しており、光条件による産卵への影響は認められなかった。成虫 1 個体の産卵数は最大で 1 日 700 個程度で、複数寄生、単数寄生共に産卵数に大きな違いはなかった (図 1)。本虫のふ化のピークは近縁種の *Benedenia seriola* とは異なり、1 日 1 回午前中にあり、光刺激、特に自然光がふ化を誘発することが分かった。また、本虫は、通常ペニスをバグナに挿入して交尾する他のハダムシ種とは異なり、精子が詰まった「精包」を他個体の体表に打ち込むことで授精することが判明した (図 2)。交尾体位は様々で、自らに精包を打ち込む自家授精も可能であるため、1 個体でも増殖可能であることが示された。

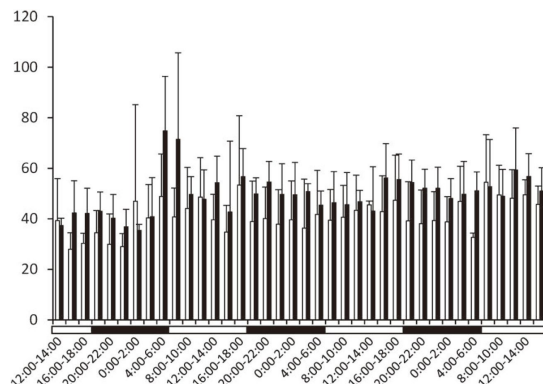


図 1 暗黒下 (黒) と自然光下 (白) における *N. girellae* 産卵数の経時変化。横軸の白黒棒は昼夜を示す。

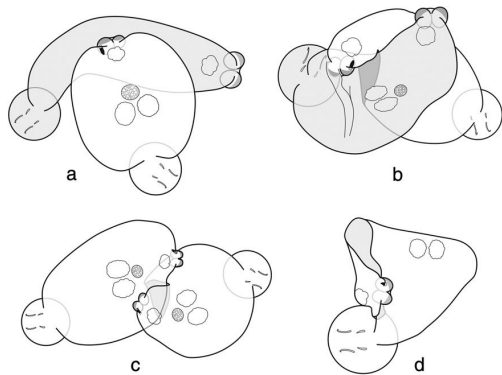


図2 *N. girellae* の交接体位。自家授精するときには体を折り曲げ自らの背部に打ち込む(d)。

(2) 駆虫作業 7 日目でも生け簀網上には虫卵の蓄積がみられたが、その 8 日後に虫卵数は爆発的に増加し、さらに 2 日後には倍増した(図 3)。単純な試算では網 4 側面に 1 日最大 1 千万個以上の虫卵が蓄積することが示された。網上の虫卵の 6~8 割は水面直下の上部に集中していた。これらの結果から、駆虫を一日でも遅らせると膨大な虫卵が漁場に蓄積すること、網上部の虫卵を殺滅するだけでも虫卵数の削減に効果があることが示された。

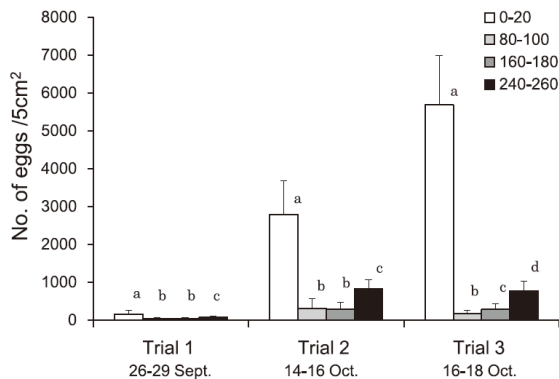


図3 生け簀网上的の虫卵蓄積状況。

(3) 3 ヶ月の飼育期間中、非遮光の通常生け簀では、ハダムシ数が増加し、淡水浴、投薬をそれぞれ 3 回と 6 回実施した。一方、遮光生け簀では 1 度も駆虫をしなかったにも関わらず、期間中の平均寄生数は通常生け簀の半分以下であった。この結果から、生け簀全体を遮光することで、ハダムシの寄生が抑制され、駆虫作業が大幅に軽減出来る可能性が示された(図 4)。

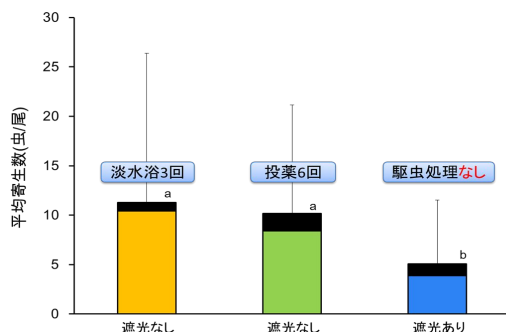


図4 遮光による寄生と駆虫作業軽減効果。

(4) 簡易式沈下生け簀ではサンプリング時以外生け簀を浮かせる事は無く、給餌等の飼育作業に大きな問題は認められなかった。また、魚の成長も良好で、養殖場での実用性が示された。しかし、ハダムシ寄生については通常生け簀と大きな違いは無く、沈下式生け簀の効果は見られなかった。実験場所の透明度、水深別の光密度を測定した結果、当該海域は透明度が高く、表層と 4m での光密度の差が比較的少ない事がわかり、この透明度の高さがふ化幼生の分布が表層に集中しなかった要因と考えられた。

(5) 今回新規に設計したリアルタイム PCR 系では *N. girellae* 以外のハダムシ種の対象 DNA は増幅されず、特異性が示された。ふ化幼生 1 匹は約 2 百万コピーのミトコンドリア DNA を有している事が示された。本系ではふ化幼生 0.5 匹分の DNA でも充分検出できることがわかり、実用性が確認された。養殖場で採取した海水からも陽性反応が得られ、遮光生け簀内の *N. girellae* DNA 量は非遮光生け簀の半分以下であったため、遮光によってふ化幼生の密度が低下することが示された。

(6) 養殖業者に対するヒアリングではハダムシ問題は依然として深刻であり、薬浴・淡水浴は生産コストを圧迫している事が分かった。沈下式生け簀ではハダムシ寄生が少なく、駆虫作業を殆ど実施しなくても済む、との情報が得られた。また生け簀の遮光によるハダムシ寄生が減少し、駆虫頻度が 1/3 程度に軽減される場合もあることが分かった。しかし、魚の收容密度や遮光状態等、条件によっては効果が少ないこと、カンパチ養殖では給餌の際に遮光シートを捲る手間が掛かるといった問題点も認められた。一方、マダイ養殖では遮光生け簀で別種のハダムシ寄生が多いとの情報も得られ、今後ハダムシ種毎に走光性の等、生態を調べる事が重要だと分かった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

平野千早, 石丸克也, 白樫正, 2015. ハダムシ *Neobenedenia girellae* の産卵とふ化の日周リズム. 魚病研究. 50, 23-28. 査読有
DOI: 10.3147/jsfp.50.23

Shirakashi, S., Hirano, C., 2015. Accumulation and distribution of skin fluke *Neobenedenia girellae* eggs on a culture cage. Aquaculture. 443, 1-4. 査読有
DOI: 0.1016/j.aquaculture.2015.02.036

Yamamoto, S., Fukushima, A., Ishimaru, K., Shirakashi, S., 2014. Shading of net cage is an effective control measure against skin fluke *Neobenedenia girellae* infection in chub mackerel *Scomber japonicus*. Fisheries Science. 80, 1021-1026. 査読有
DOI: 10.1007/s12562-014-0781-3

Ogawa, K., Shirakashi, S., Ishitani, H., 2014. Insemination of the monogenean *Neobenedenia girellae* (Capsalidae, Benedeniinae). Parasitology International. 63, 473-478. 査読有
DOI: 10.1016/j.parint.2013.10.009

〔学会発表〕(計 8 件)

Shirakashi, S., Hirano, C., Ogawa K., Reproduction and infectious biology of Capsalid Monogenea *Neobenedenia girellae*, 9th International Symposium of Fish Parasites, 2015 年 10 月 3 日. Valencia, Spain.

平野千早, 石丸克也, 白樫正, ハダムシ *Neobenedenia girellae* の産卵生態と養殖生簀網における虫卵分布, 平成 27 年度日本水産学会春季大会. 2015 年 3 月 29 日, 東京海洋大学.

Shirakashi, S., Hirano, C., Fukushima A., Ogawa K., Shading of culture cage reduces the infection of skin fluke *Neobenedenia girellae*, ICOPAXIII, 2014 年 8 月 12 日, Mexico city, Mexico.

平野千早, 白樫正, 石丸克也, ハダムシ *Neobenedenia girellae* の産卵とふ化の日周リズム, 平成 26 年度日本魚病学会春期大会, 2014 年 3 月 31 日, 函館国際ホテル.

白樫正, 福島敦彦, 石丸克也, 山本眞司, マサバ養殖におけるハダムシ防除法の比較, 平成 26 年度日本魚病学会春期大会, 2014 年 3 月 31 日, 函館国際ホテル.

Hirano, C., Shirakashi S., Development of a new method to reduce *Neobenedenia girellae* infection, Aquaculture conference, 2013 年 11 月 5 日, Gran Canaria, Spain.

白樫正, 小川和夫, ハダムシ *Neobenedenia girellae* の生態, 第 73 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 2013 年 10 月 12 日, 国立科学博物館上野本館.

小川和夫, 白樫正, 石谷浩江, ハダムシ *Neobenedenia girellae* の交接行動, 平成 25 年度日本魚病学会秋期大会, 2013 年 9 月 18 日, 三重大学.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白樫 正 (SHIRAKASHI, Sho)

近畿大学・水産研究所・講師

研究者番号: 70565936

(2) 研究分担者

小川 和夫 (OGAWA, Kazuo)

目黒寄生虫館・館長

研究者番号: 20092174

(3) 連携研究者 (2013-2014)

津田 裕一 (TSUDA, Yuichi)

元近畿大学・水産研究所・博士研究員

研究者番号: 50508322