

## バクテリオファージを用いたエドワジエラ症モニタリングの試み

遊子漁協青年漁業者協議会

梶原 永裕

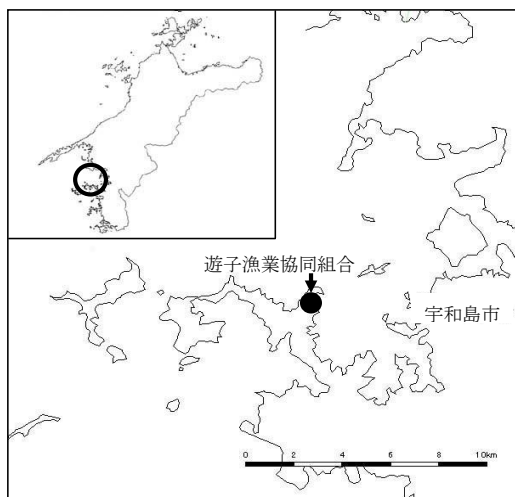


図 遊子漁業協同組合の位置

### 1. 地域の概要

宇和島市は、愛媛県の南西部に位置し、年平均気温は16～17℃で四季を通じて温暖である（図）。

遊子地区は、宇和島市の三浦半島の中央に位置し、リアス式海岸や斜面を利用した段々畑など、美しい景観が残っている。

### 2. 漁業の概要

遊子地区は、リアス式の海岸線、60m を超す水深、速い潮流など養殖業を行うのに最適な環境に恵まれており、魚類養殖や真珠養殖が盛んに行われている。特に魚類養殖は43の経営体でブリ・マダイ・シマアジなどを中心に、毎年250万匹以上を生産している。

### 3. 研究グループの組織と運営

遊子漁協青年漁業者協議会は、昭和46年に「遊子漁協漁業後継者会議」として発足し、県下では最も古い歴史を持つ青年漁業者団体である。平成16年4月1日より「遊子漁協青年漁業者協議会」と名称変更し、現在に至っている。

現在、会員25人で、魚類部会と真珠部会の2つの部会に分かれ活動を行っている。主な活動として、海域清掃活動、各種地域行事の参画、研修会の実施等がある。

### 4. 研究課題選定の動機

愛媛県のマダイ養殖生産額は約242億円で全国1位であり（平成26年愛媛県農林水産統計）基幹産業として重要な役割を担っている。しかし、近年マダイのエドワジエラ症による被害が増加し、被害額は4億円以上に達している（平成26年、愛媛県調査）。本病は慢性化すると治療が困難なため、被害を抑えるためには病気の発生を出来るだけ早く検知し対策を講ずることが重要である。

バクテリオファージ（以下、ファージ）とは、細菌を宿主として増殖するウイルスであり、一般的にファージは宿主細菌と同所的に存在すると考えられている。

本事業では、海水中のファージの増減を調査することで、エドワジエラ症の早期発見が可能ではないかと考え、その有効性について検証した。

## 5. 活動の経過と成果

### ファージの検出方法

0.45  $\mu$ M でろ過した海水 50mL にエドワジエラ菌液（指示菌株）12mL を加え、BHI 寒天培地 50mL を混合し、4.5mL ずつシャーレに分注した。1日培養後に、写真のような溶菌斑（プラーク）を計数し、ファージ量（PFU）を定量した。海水 50mL 中にプラークが確認されないときはファージ陰性とした。

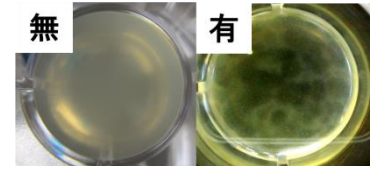


写真 プラーク形成の例

### (1) ファージの水平および垂直分布調査

ファージに最適な採水場所と水深を決定するため、マダイ養殖いけす付近のファージの水平および垂直分布を調査した。

マダイ養殖いけす（12m×12m×8m）の中心を原点とし、水平方向に 6m、12m、18m、24m、30m および 45m、またこれらの地点から垂直方向に水深 0m、4m、8m および 16m から採水し、ファージの定量を行った。なお、この調査はエドワジエラ症の発生が多い 8 月および 9 月に実施した。

結果を表 1 に示す。8 月の調査では、いけす中央からの距離にかかわらず水深 0m および 16m でファージ量は少なかった（0～10PFU/50mL,）。一方で 4m および 8m ではファージ量が多く、いけすから離れるにつれて減少する傾向にあった。また 9 月の調査では水平 6m 地点でのみファージの垂直分布調査を行った。その結果、水深 8m で 475PFU/50mL と最も多かった。

以上のことから、ファージ検出には、いけす近くの水深 4～8m 付近が適していることが分かった。

表1 マダイ養殖場におけるファージの水平および垂直分布(PFU/50mL)

調査月	水深	いけす中央からの距離(m)						
		0m	6m	12m	18m	24m	30m	45m
8月	0m	5	5	5	0	5	5	5
	4m	0	0	115	35	5	5	5
	8m	250	0	50	45	30	5	25
	16m	N.D.	0	5	5	5	10	5
9月	0m	N.D.	95	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	4m	N.D.	135	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	8m	N.D.	475	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	16m	N.D.	0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.: 未実施

### (2) 年ごとのファージ量比較

エドワジエラ症の発生が多い年、少ない年でファージ量の比較を行った。マダイ養殖場で調査いけすを設定し、いけす横の 3m および 7m 層で月 1 回ファージの検出を実施し、海水 50mL 中のファージ量を表 2 のとおり、「-」～「++++」の 5 段階で評価した。また、調査いけす内のエドワジエラ症発生状況を調査した。

表2 フェージ量の評価(50mL中)

フェージ量	0	1~10	11~100	101~1000	1001~
評価	—	+	++	+++	++++

a) エドワジエラ症の発生が多い年

魚病の発生が多い成魚漁場と、魚病の発生が少ない稚魚漁場に調査いけすを設定した。また、いけす内のエドワジエラ症発生状況を調べるため、両いけすとも調査時に死魚の魚病検査を実施し、稚魚漁場では毎月保菌検査を行った(30匹/月)。

結果を表3に示す。

稚魚漁場では9~11月にかけてフェージが検出された(++~+++)。当いけすではエドワジエラ症による死亡は観察されず、調査時の保菌検査でも、エドワジエラ症の症状や保菌魚は確認されなかった。成魚漁場では9~12月および2月にフェージが検出された。当いけすではエドワジエラ症が発生し、特に死魚が多かった9月は、極めて高い密度のフェージが検出された(++++)。これらのことから、病魚が存在するいけすではフェージが非常に高い密度で検出され、エドワジエラ症流行期にはフェージが検出できることが示唆された。

表3 稚魚漁場と成魚漁場におけるフェージの検出状況と死魚のエドワジエラ症による死亡匹数

調査月		5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月
稚魚 漁場	エドワジエラ症による死亡匹数*1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	採材魚30匹中の保菌検査	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	フェージ量(PFU/50mL)	3m	—	—	—	—	++	++	++	—	—
	7m	—	—	—	—	—	+++	++	++	—	—
成魚 漁場	エドワジエラ症による死亡匹数*1	2	0	0	1	5	1	0	0	1	0
	フェージ量(PFU/50mL)	3m	—	—	—	—	++++	++++	+	++	—
	7m	—	—	—	—	—	++++	+++	++	—	—

\*1: 調査時に確認した死亡匹数のうち、エドワジエラ症による死亡匹数

b) エドワジエラ症の発生が少ない年

稚魚、2年魚、3年魚の3いけすで調査を実施した。稚魚および2年魚のいけすは毎月7匹ずつサンプリングし、保菌検査を実施した。

結果を表4に示す。この年は遊子地区全体でエドワジエラ症の発生が少なく、調査期間中に全ての調査いけすでエドワジエラ症による死亡はなかった。また、稚魚および2年魚いけすでサンプリングした魚に保菌魚は確認されなかった。フェージは、例年エドワジエラ症の発生が多くなる8月以降に全てのいけすで検出された。しかし、検出された値は+程度でありエドワジエラ症の発生の多かった年と比べると非常に微量であった。

これらのことから、フェージ量が少ないときはエドワジエラ症が蔓延していない状態であると考えられた。

表4 フェージの検出状況とサンプリング魚の保菌検査結果

		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
保菌検査		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
稚魚	フェージ量	3m	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
	(PFU/50mL)	7m	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
保菌検査		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2年魚	フェージ量	3m	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	(PFU/50mL)	7m	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
3年魚	フェージ量	3m	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
	(PFU/50mL)	7m	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

本事業では、エドワジエラ症の発生を早期に知るために、海水中のフェージが利用できないか検討を行った。結果、フェージの検出にはいけす横の3~8m付近が適していることや、エドワジエラ症が流行しているときには高密度のフェージが検出されることが明らかになった。しかし、海水中のフェージ量といけす内の死亡匹数（または感染匹数）との関係性を明らかにすることはできなかった。これらの原因として、フェージ検出に用いた海水の量が少なかった点や、使用した指示菌株では集殖できない型のフェージが存在していた可能性等が考えられる。

#### 6. 波及効果および今後の取り組み

本事業で海中からフェージの検出を行い、海中には目に見えない「病原体」が存在することを強く感じた。また、勉強会を通して、エドワジエラ症は条件性の疾病であるため、魚の健康状態や養殖環境が発症に大きく関わっていることや、死魚の放置が魚病蔓延につながることを学んだ。遊子地区には親世代に代わり養殖の実務を担い始めた若い後継者も多く、当青年漁業者協議会全体で魚病に対する意識が高まったように感じる。

エドワジエラ症の被害は、年により差があるものの毎年のように確認されている。今回の取り組みではフェージと感染魚の量的な関係を明らかにすることはできなかったが、検出に用いる海水や指示菌株を増やすなど改善の余地がある。エドワジエラ症の流行期前に海中のフェージを測定できれば、今回のデータや過去の被害状況と照らし合わせて、大まかなエドワジエラ症の発生予測が可能ではないだろうか。

今後、漁業者同士でフェージ量の情報共有を行い、被害が発生しているいけすで一斉投薬を行うなど、地域をあげて魚病被害低減に寄与する取り組みへつなげていきたい。