

魚類養殖における寄生虫の新たな防除技術の開発

I ベこ病

増養殖環境課 占部 敦史

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しないものの、商品価値を低下させる疾病がある。本県では、特にブリ属におけるべこ病の感染が問題となっている。

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、微胞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、病原体である微胞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（川上ら 2021、Shirakashi et al. 2021、Yanagi et al. 2021）。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、効果的に投薬するためには、モジャコがべこ病に感染してシストを形成するまでの感染初期を確認する必要がある。また、フェバンテルはブリ属魚類のエラムシの駆虫剤として水産用医薬品の承認があるものの、対象疾病がべこ病を含んでいないことが課題となっている。

最近、リアルタイム PCR による高感度な遺伝子検査手法が開発され（Mekata et al. 2021、水産研究・教育機構 水産技術研究所 2021）、べこ病の感染初期を確認することが可能となった（柳ら 2021）。さらに、本手法を用いてべこ病の感染初期を確認した後、フェバンテルの投薬を実施することで、べこ病の発症を実際に抑制できたことが報告されている（川上ら 2021）。

本県では、天然モジャコの採捕及びブリ人工種苗の生産が行われており、その中間育成場でのべこ病感染が深刻な問題となっている。そこで、本研究ではリアルタイム PCR による遺伝子検査を活用し、県内のモジャコ中間育成場におけるべこ病の感染初期の実態を明らかにした。さらに、浦ノ内湾の中間育成漁場としての可能性を、べこ病感染状況をはじめとする各種要因から検討したので報告する。

2 方法

(1) 天然モジャコのべこ病感染の確認

2021年3月11日及び4月14日に土佐湾で採捕した天然モジャコ（3月：約50尾、4月：約200尾）を陸上の2t容円形水槽に直ちに収容し、べこ病の感染・発症状況を調べ

た。陸上水槽の飼育水は濾過・殺菌海水を用いた。感染状況はリアルタイム PCR による遺伝子検査で、発症状況は目視による筋肉内のシストの有無（以下、「目視検査」という。）でそれぞれ確認した。

検査手法は次のとおりとした。まず、10～20 尾をサンプリングし、個体ごとの体重を測定した後、魚体を半身に開き、目視検査を行った。次に、ハサミで筋肉の一部を採取し、DNA 抽出キット（QIAGEN 社製 DNA Mini Kit）で DNA を抽出し、リアルタイム PCR に供した。リアルタイム PCR による遺伝子解析方法は既報（水産研究・教育機構 水産技術研究所 2021）に従った。

（２）モジャコ中間育成場におけるべこ病検査

2021 年 3 月 26 日から 4 月 26 日まで、中間育成業者から依頼されたべこ病検査を実施した。検査についてはリアルタイム PCR の遺伝子検査及び目視検査で行った。検査手法の詳細は、（１）と同じ方法とした。ただし、遺伝子検査については業者ごとに 1～5 尾の筋肉組織をプールし、DNA を抽出した。最終的に、DNA 抽出物の検体数は各業者 1～2 とした。

（３）浦ノ内湾におけるべこ病感染時期の把握（春～夏）

2021 年 4 月 14 日に土佐湾で採捕した天然モジャコ約 300 尾を、浦ノ内湾に位置する水産試験場の小割生簀（3.3m×3.3m×3.3m）1 面に収容し、べこ病の感染・発症状況を確認した。検査は（１）と同じ方法で行った。飼育期間は 4 月 15 日から 7 月 29 日とし、概ね毎日 1 回の飽食給餌を行った。サンプリングは 1 回/1～2 週の間隔で行い、1 回につき 10 尾を採取した。

（４）浦ノ内湾におけるべこ病感染時期の把握（秋～冬）

2021 年 9 月 22 日にブリ早期人工種苗を浦ノ内湾に位置する水産試験場の小割生簀（3.3m×3.3m×3.3m）2 面にそれぞれ約 1,000 尾ずつ収容し、べこ病の感染・発症状況を確認した。べこ病の検査は（１）と同じ方法で、サンプリングは 1 回/週の間隔で行い、各小割生簀ごとに 1 回につき 10 尾を採取した。また、遺伝子検査でべこ病の遺伝子が検出された場合、一方の小割生簀はフェバンテル（マリンバンテル、Meiji Seika ファルマ株式会社）を投与する区（以下、「投与区」という。）、もう一方の小割生簀は投与しない区（以下、「対照区」という。）と設定し、フェバンテル投与によるシスト抑制効果を調べた。投与はフェバンテル 10mg/魚体重（kg）/日の 5 日投薬・2 日休薬を 1 サイクルとして、3 サイクル実施した。給餌は 1 日 1～2 回の飽食給餌を概ね毎日行った。飼育期間は 9 月 22 日から 12 月 16 日とした。最終日のサンプリングは目視検査数を 50 尾に増やした。

3 結果・考察

（１）天然モジャコのべこ病感染の確認

3 月 11 日に採捕した天然モジャコ（以下、「3 月採捕」という。）は、飼育開始から 27 日後、40 日後、57 日後及び 98 日後にサンプリングを実施した。その結果、目視検査ではすべて陰性であったものの、遺伝子検査では飼育 27 日後と 40 日後で数個体の陽性が確認され

た。その陽性率は5~10%と低く、*M. seriolae*の遺伝子量も $6.4 \times 10^{-1} \sim 8.8 \times 10^{-1}$ copies/ μ Lと極めて少なかった（図1）。

4月14日に採捕した天然モジャコ（以下、「4月採捕」という。）は、飼育開始から1日後、12日後、22日後、36日後、50日後、64日後、78日後、92日後及び106日後にサンプリングを実施した。その結果、目視検査では全て陰性であったものの、遺伝子検査では飼育1日後の1個体のみ陽性（陽性率：10%）が確認された（図1）。その遺伝子量は 4.1×10^{-1} copies/ μ Lと極めて少なかった。

今回の結果では、土佐湾で採捕された天然モジャコから*M. seriolae*の遺伝子が検出されたものの、発症には至らなかった。つまり、天然モジャコが土佐湾でべこ病に感染する可能性は極めて低いことが示唆された。ただし、遺伝子検査において擬陽性となったことも否定できない。

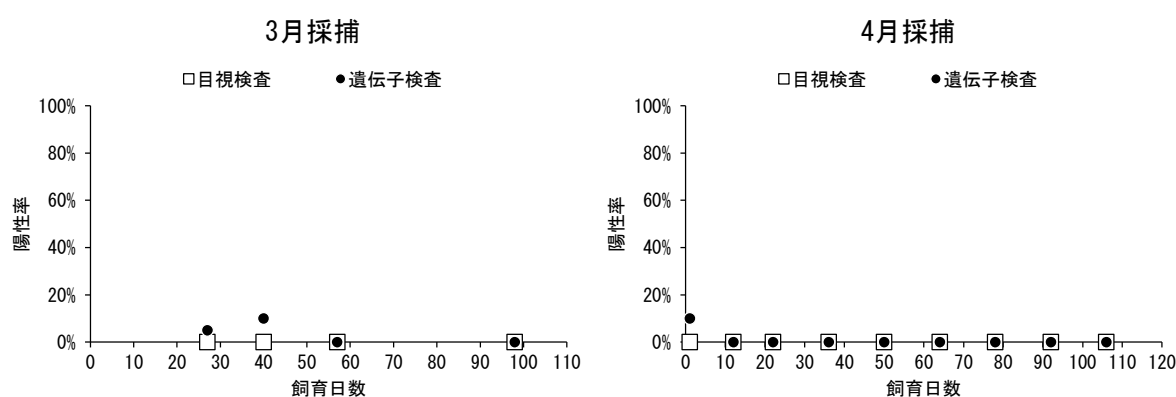


図1 天然モジャコのべこ病陽性率の推移

(2) モジャコ中間育成場におけるべこ病検査

べこ病の検査は42件で、そのうち、目視検査では5件が、遺伝子検査では9件がそれぞれ陽性となった（表1）。べこ病の感染・発症は4月から確認された。また、*M. seriolae*のシストが確認されなかった検体（目視検査で陰性）から、遺伝子が検出された例が4件あり、それらの検体はべこ病の感染初期である可能性が高かった。

表1 モジャコ中間育成期間におけるべこ病検査結果

採取日	検体番号	検査尾数	目視検査	遺伝子検査	採取日	検体番号	検査尾数	目視検査	遺伝子検査	採取日	検体番号	検査尾数	目視検査	遺伝子検査
3/26	1	4	-	-	4/7	15	3	-	-	4/14	29	3	+	+
3/26	2	3	-	-	4/8	16	2	-	-	4/14	30	2	-	-
-	3	2	-	-	4/8	17	3	-	-	4/14	31	2	-	-
-	4	5	-	-	-	18	3	-	-	4/15	32	2	-	+
3/27	5	3	-	-	4/9	19	1	+	+	4/15	33	3	-	+
3/28	6	3	-	-	4/9	20	3	-	-	4/15	34	3	-	+
-	7	3	-	-	4/10	21	3	-	-	4/15	35	2	-	+
-	8	3	-	-	4/11	22	3	-	-	4/17	36	2	-	-
3/31	9	5	-	-	4/11	23	3	-	-	4/17	37	3	+	+
4/5	10	3	-	-	4/11	24	2	-	-	4/20	38	2	+	+
4/5	11	1	-	-	4/11	25	3	-	-	4/20	39	2	-	-
4/6	12	3	-	-	4/11	26	2	-	-	4/20	40	3	-	-
4/6	13	1	-	-	4/14	27	2	-	-	4/26	41	2	-	-
4/7	14	3	-	-	4/14	28	2	+	+	4/26	42	3	-	-

※採取日：小割生糞から取り上げた日、採取日-：取り上げ日が分からないもの

-：陰性、+：陽性

(3) 浦ノ内湾におけるべこ病感染時期の把握 (春～夏)

平均体重は池入れ時 (4/15) が 4.8g で、試験終了時 (7/29) が 107.7g であった。飼育期間中の水温は、深度 2m で 18.1～27.1℃の範囲にあった。

べこ病の目視検査では 4 月 15 日～6 月 17 日まで陰性であったが、7 月 1 日に 10 尾中 2 尾で筋肉内のシストが確認され、陽性となった。7 月 1 日以降の陽性率は 20～70% であった。遺伝子検査では 4 月 15 日～6 月 17 日まで陽性率が 0～10% と低かったものの、7 月 1 日以降は陽性率が 40～90% と急激に上昇した (図 2a)。また、陽性個体における *M. seriolae* の平均遺伝子量は 4 月 15 日～6 月 3 日の期間では $4.1 \times 10^{-1} \sim 4.9 \times 10^{-1}$ copies/ μ L と少なかったのに対し、6 月 17 日では陽性が 1 尾だったにもかかわらず、遺伝子量は 2.3×10^2 copies/ μ L と多かった。さらに、7 月 1 日以降における陽性個体の平均遺伝子量も $3.3 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^5$ copies/ μ L と多かった (図 2b)。

浦ノ内湾では、べこ病の感染と発症が確認され初めたのは 7 月ごろであった。全国の天然モジャコの採捕期間は 3～5 月であり、採捕してから約 1 か月の餌付けと中間育成が行われる。全国においてべこ病の感染は 5～7 月に集中して起こることが報告されているのに対し (Sano et al. 1998)、浦ノ内湾での感染は 7 月と遅かった。経験的に、浦ノ内湾でモジャコを中間育成した場合は、べこ病の感染が少ないと言われている。これは、浦ノ内湾では天然モジャコが採捕された後、7 月までにほとんどが出荷されており、同湾の感染が多い時期には既に中間育成が終了していることによるものが大きいと考えられた。ただし、*M. seriolae* の生活環 (感染過程) が不明であることから、浦ノ内湾でも感染が多くなる時期が早まることも今後考えられるので、注意が必要である。

当初想定していた発症までのプロセスは、遺伝子検査の陽性率が高くなり、シストを有する個体が出現するというものであった。しかし、今回の調査では遺伝子検査の陽性率が高くなることを確認することなく、次の検査でシストを有する個体が出現した。柳ら (2021) は、リアルタイム PCR による遺伝子検査で魚体から *M. seriolae* の遺伝子が確認されてから、約 1 週間後にシスト形成が行われると報告している。今回の試験では、べこ病の感染が確認された 6 月 17 日～7 月 1 日はサンプリングを 2 週間ごとで実施していた (表 2)。そのため、その 2 週間の間にべこ病の感染とシスト形成が起きた可能性が高い。また、6 月 17 日の遺伝子検査では陽性率が低かったにもかかわらず、その遺伝子量が 2.3×10^2 copies/ μ L と高い値を示した。そのため、べこ病の発症前には遺伝子量が多くなると考えられた。べこ病の感染初期を確認するためには、サンプリングを 1 週間ごとに実施し、その陽性率と遺伝子量に注目することが望ましい。

表 2 浦ノ内湾におけるべこ病検査日と飼育日数 (春～夏)

検査日	4/15	4/22	4/26	5/6	5/20	6/3	6/17	7/1	7/8	7/15	7/20	7/29
飼育日数	0日	7日	11日	21日	35日	49日	63日	77日	84日	91日	96日	105日

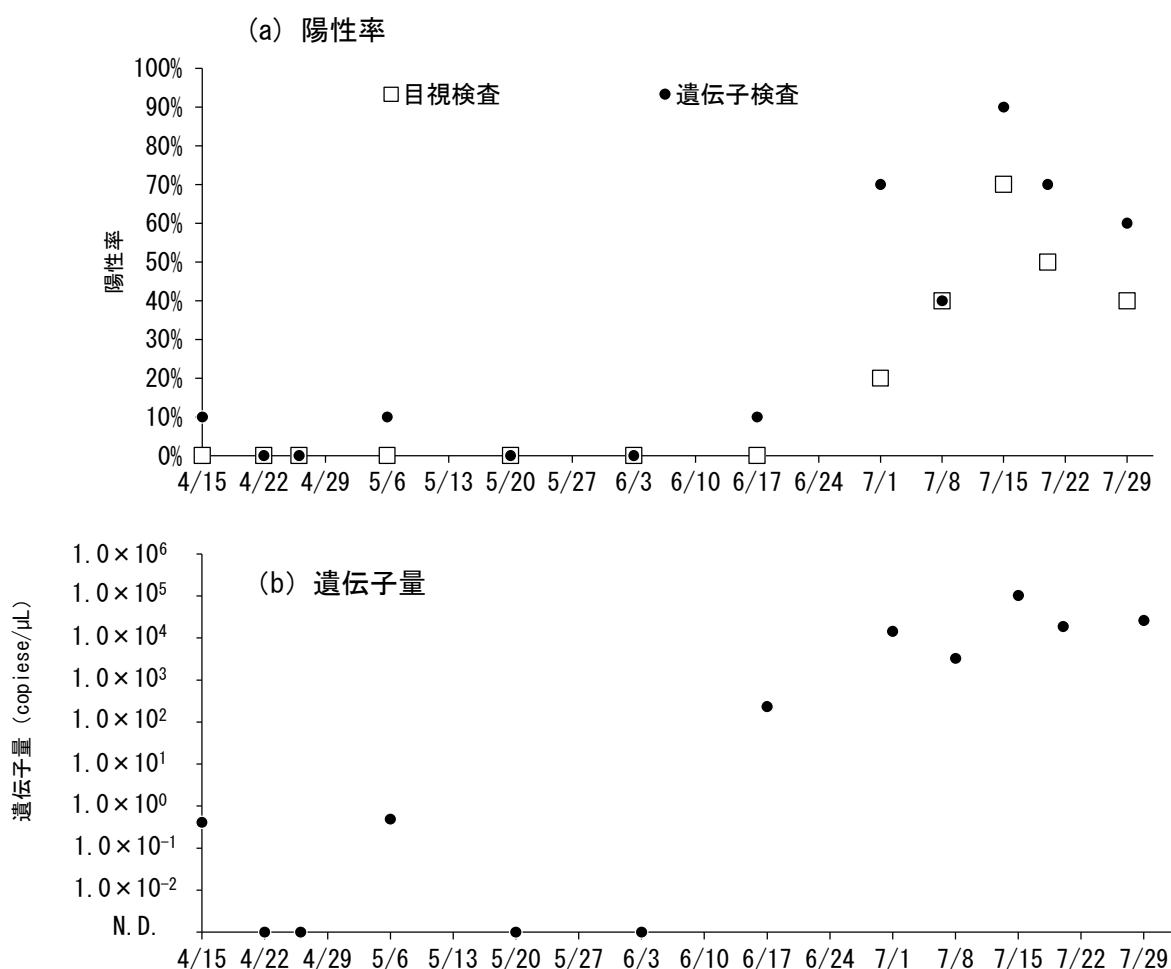


図2 浦ノ内湾におけるべこ病検査結果（春～夏）

(4) 浦ノ内湾におけるべこ病感染時期の把握（秋～冬）

飼育期間中の水温は、深度 2m で 16.4～27.5℃であった。20℃を下回ったのは 11 月 22 日以降、18℃を下回ったのは 12 月 1 日以降であった。10 月 7 日の遺伝子検査でべこ病の陽性が確認されたことから、投与区では 10 月 8 日～26 日の期間にフェバンテルを投薬した（図 3）。

飼育期間中の累積死亡数は対照区で 21 尾、投与区で 42 尾であり、10 月 21 日にハダムシの寄生、11 月 4 日に類結節症が発生した際に、死亡数が増加した。これらの対処として、ハダムシの寄生には淡水浴を、類結節症には抗菌剤（アンピシリン）の投与を実施した。

平均体重は池入れ時（9/22）が 1.1g で、試験終了時（12/16、飼育 85 日目）が対照区で 114.4 g、投与区で 112.8 g であった（図 4）。両区間で体重に有意な差が確認されたのは飼育 8 日目（9/30）のみで（*t* 検定、*P* < 0.01）、他では有意な差はなかった（*t* 検定、*P* > 0.05）。

べこ病の感染・発症状況についてみると、目視検査では両区ともにすべて陰性であった。遺伝子検査では、対照区においては 10 月 7 日（飼育 15 日目）、21 日（飼育 29 日目）及び 11 月 11 日（飼育 50 日目）に陽性が確認され、他はすべて陰性であった。その際の陽性率

はいずれも 10%と低かった。投与区の遺伝子検査は全て陰性であった（図 5）。

昨年の試験に引き続き、秋から冬の期間において、早期人工種苗ブリを浦ノ内湾で中間育成したところ、べこ病の発症は確認されなかった。このことから、浦ノ内湾は 9 月下旬～12 月にかけて行われる早期人工種苗ブリの中間育成場として有望であると考えられた。

今回の試験ではべこ病が発症しなかったことから、フェバンテル投薬によるシスト抑制効果の検証はできなかった。ただし、既報（川上ら 2021）で推奨している濃度のフェバンテルを投薬しても、対照区と比較して成長への影響はほとんどなく（図 4）、死亡数の増加もみられなかったことから（図 3）、モジャコに対するフェバンテルの安全性が追認できた。

なお、10～11 月にハダムシ寄生と類結節症が確認され、その際に死亡数が増加した（図 3）。ハダムシについては、体表に寄生し、網擦れ行動が誘発され、体表のびらんを起こして、死亡するケースが多かった。この対処として平均体重が約 10g と小さな魚に淡水浴 5 分を実施した。小さな魚体へのダメージが懸念されたが、問題なく、ハダムシを駆除することができた。また、類結節症はアンピシリンの投薬で治癒した。10 月以降は水温が低下し始める時期であり、飽食給餌と水温低下によるストレスで、ハダムシの寄生や類結節症の発症が誘発されたと考えられた。秋からの中間育成は、春と同様の給餌方法を実施すると、魚病の発症が起りやすいことから、これに注意して中間育成を行う必要がある。ただし、昨年の試験では水温が 20℃を下回ると成長が停滞したことから、それまでにワクチンを接種できるサイズまで成長させるような給餌計画を同時に立てる必要がある。

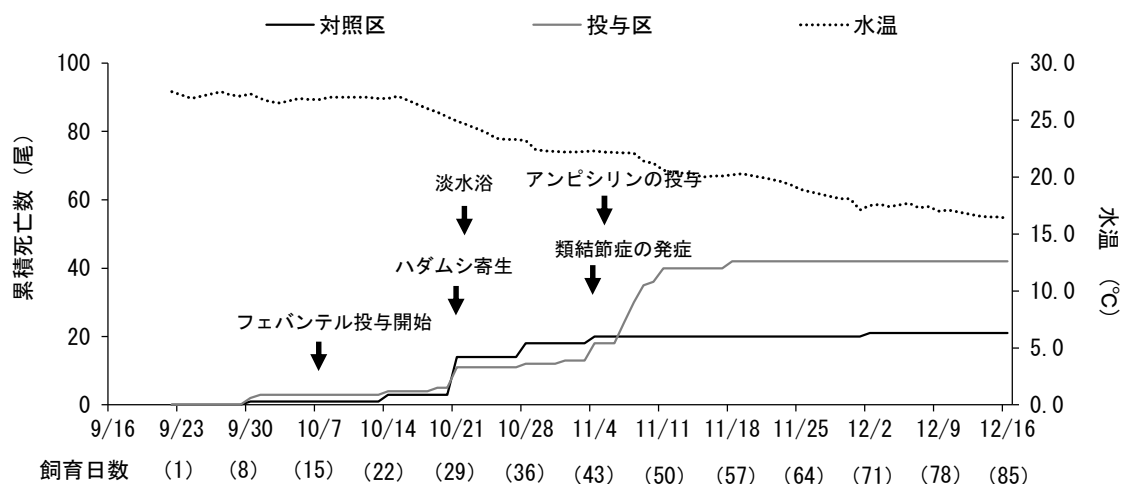


図 3 浦ノ内湾におけるべこ病感染時期の把握調査（秋～冬）の累積死亡数と水温

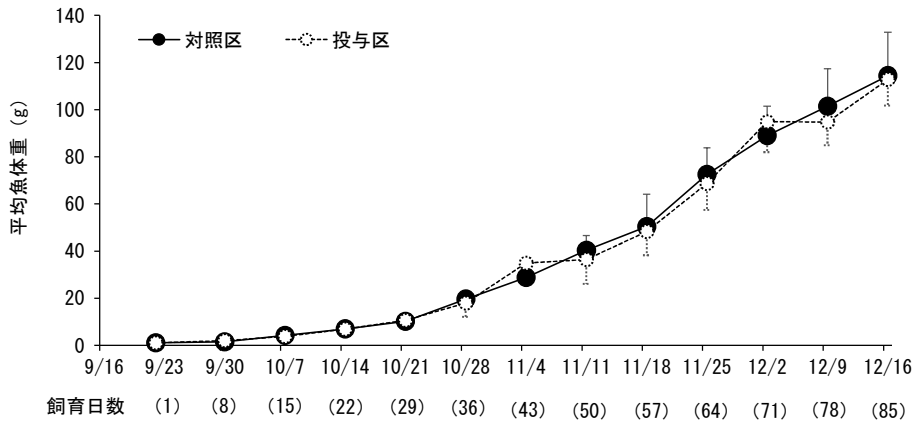


図4 浦ノ内湾におけるべこ病感染時期の把握調査（秋～冬）に用いた飼育魚の平均体重

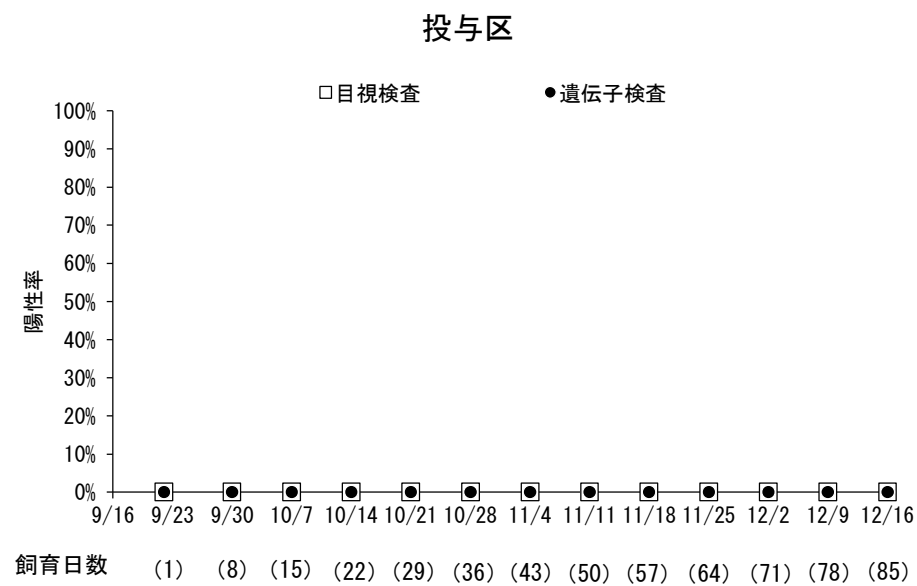
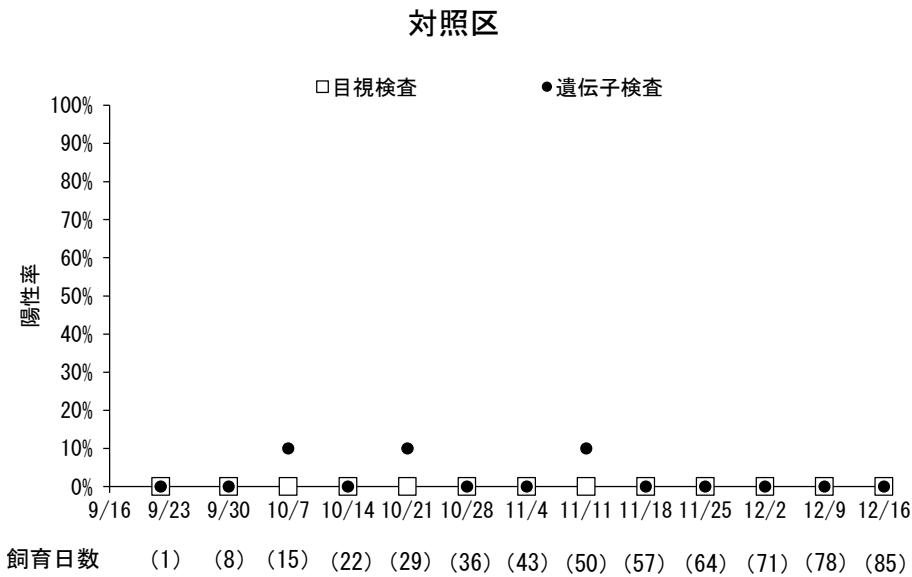


図5 浦ノ内湾におけるべこ病検査結果（秋～冬）

4 参考文献

- 川上秀昌・石井佑治・中島兼太郎・柳宗悦・佐藤純 (2021) ブリ属魚類のべこ病に対する野外でのフェバンテルの効果. 魚病研究, 56(2), 71-78.
- Mekata T., J. Satoh, C. Nakayasu, Y. Ishii, S. Harakawa, H. Kawakami and S. Yanagi (2021) Development of Quantitative Real-time PCR and Loop-mediated Isothermal Amplification(LAMP) Assays for Detection of *Microsporidium seriolae*. Fish Pathology, 56(2), 53-61.
- Sano M., J. Sato and H. Yokoyama (1998) Occurrence of Beko Disease Caused by *Microsporidium seriolae* (Microspora) in Hatchery-Reared Juvenile Yellowtail. Fish Pathology, 33(1), 11-16.
- Shirakashi S., S. Miwa, T. Katsuki, S. Harakawa, H. Kawakami, C. Nakayasu and K. Mori (2021) Evaluations of Lethal and Sub-lethal Toxicity of Febantel in the Juvenile Japanese Amberjack *Seriola quinqueradiata*. Fish Pathology, 56(2), 79-88.
- 水産技術研究所 (2021) ブリ類のべこ病原因虫の検出マニュアル (<http://nria.fra.affrc.go.jp/sindan/manual.html>) .
- 柳宗悦・佐藤純・今岡慶明・川上秀昌・原川翔伍・米加田徹・中易千早・森広一郎 (2021) ブリ類におけるべこ病の初期感染動態. 魚病研究, 56(2), 89-96.
- Yanagi S., J. Satoh, T. Mekata, T. Sakai, H. Kawakami, S. Harakawa, S. Shirakashi, S. Hamano, K. Fukudome, K. Wada, M. Yamasaki, T. Nishioka, C. Nakayasu and K. Mori (2021) Chemical Treatment of Beko Disease in *Seriola* Fishes: Laboratory Trials of Commercially Available Fishery and Veterinary Medicines. Fish Pathology, 56(2), 62-70.
- 横山博 (2017) べこ病. 魚病研究, 52(4), 181-185.