

赤潮及び魚病の被害軽減に向けた監視体制強化

Ⅱ ベコ病

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。ベコ病は、微胞子虫ミクロスポリジウム・セリオレ *Microsporidium seriolae* がブリ稚魚（以下「モジャコ」という。）等の筋肉中でシストを形成する病気である。本疾病は以前から知られているが、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。感染魚は通常、成長とともに治癒するが、重篤な場合は死亡や、筋肉中にシスト痕が残存することで商品価値の低下が認められる（横山 2017）。

近年、西日本各地で重篤なベコ病が頻発しており、その対策が求められている。本県ではブリ属、特に天然採捕されたモジャコやブリ人工種苗の中間育成場での感染が深刻な問題となっている。

こうした状況の中、ベコ病に対するフェバンテル及びアルベンダゾールを有効成分とする水産用医薬品の投薬効果が確認され（川上ら 2021、Shirakashi et al. 2021、Yanagi et al. 2021）、そのうちアルベンダゾール製剤は水産用医薬品として承認された。しかし、両製剤の投薬効果はシスト形成の阻害であり、ベコ病そのものを治療するものではないため、効果を得るにはモジャコがベコ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におけるエラムシの駆虫剤として承認されており、ベコ病は対象疾病に含まれていない。

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）、ベコ病の感染初期を確認することが可能となった（柳ら 2021）。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ベコ病の感染初期の実態を明らかにした。さらに、フェバンテル及びアルベンダゾールを有効成分とする水産用医薬品について、ベコ病への投薬効果を検証したので報告する。

2 方法

（1）モジャコ中間育成場におけるベコ病検査

中間育成業者から依頼されたベコ病検査を実施した。検査手法は次のとおりとした。まず、個体ごとの体重を測定した後、魚体を半身に開いて魚体片側における筋肉内のシストの有無を目視検査により確認した。次に、ハサミで筋肉の一部を採取し、遺伝子検査を行った。遺伝子検査では業者ごとに1～5尾の筋肉組織をプールしてDNAを抽出し、最終的にDNA抽出物の検体数は各業者1～2サンプルとした。採取筋肉から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。なお、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）浦ノ内湾におけるべこ病感染時期の把握（春～夏）

2022年5月9日に土佐湾で採捕した天然モジャコ約1,700尾を、浦ノ内湾にある水産試験場海面小割生簀（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。飼育期間は5月9日から7月6日とし、その間に1回/1週の間隔でサンプリングを行った。1回のサンプリングにつき10尾を目視検査に、6尾を遺伝子検査に供した。目視検査及び遺伝子検査は（1）と同じ方法で行った。遺伝子検査では個体ごとにDNAを抽出し、リアルタイムPCRに供した。飼育期間中は概ね毎日1回の飽食給餌を行った。

（3）投薬効果の検証

2022年6月15日に（2）のモジャコを浦ノ内湾の水産試験場海面小割生簀（3.3m×3.3m×3.3m）3面にそれぞれ約500尾ずつ分養し、べこ病への投薬効果の検証を行った。3生簀はそれぞれ無投薬の対照区、アルベンダゾール（スポチール200、共立製薬株式会社）投薬のABZ区、フェバンテル（マリンバンテル、明治アニマルヘルス株式会社）投薬のFB区とした。投薬は6月20日から開始し、投与量はABZ区でアルベンダゾール有効成分40 mg/kg魚体重/日、FB区でフェバンテル有効成分10 mg/kg魚体重/日とし、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。投薬終了後4日後（7月13日）、11日後（7月20日）及び18日後（7月27日）に各区から100尾をサンプリングした。これらのサンプルについてべこ病の発症状況を確認するため、個体ごとに体重を測定した後、（1）と同じ方法で目視検査を実施した。試験期間中、3区とも休薬期間を除いて概ね飽食給餌を行い、休薬期間は無給餌とした。

3 結果・考察

（1）モジャコ中間育成場におけるべこ病検査

べこ病検査を7件（4月21日～4月23日）実施したが、目視検査及び遺伝子検査ともに陽性個体は確認されなかった（表1）。一方、2022年も中間育成場ではべこ病が発生していたと推察されるが、検査依頼は前年より35件減少した。2022年にべこ病を対象疾病とするスポチール200が販売され、べこ病対策ができるようになったことが検査件数減少の一因と考えられた。

表 1 モジャコ中間育成期間におけるベコ病検査結果

採取日	検体 番号	検査 尾数	目視 検査	遺伝子 検査
4/21	1	4	-	-
4/21	2	3	-	-
4/21	7	3	-	-
4/23	3	1	-	-
4/23	4	4	-	-
4/23	5	4	-	-
4/23	6	3	-	-

- : 陰性、+ : 陽性

(2) 浦ノ内湾におけるベコ病感染時期の把握 (春～夏)

供試魚の平均体重は池入れ時 (5月9日) が 7.4g で、試験終了時 (7月6日) が 95.2g であった。飼育期間中の水温は、深度 2m で 20.3～27.0℃の範囲にあった。

ベコ病の目視検査では 5月9日～6月8日まで陰性であったが、6月15日に 10尾中 1尾で筋肉内のシストが初認され、6月15日～7月6日の陽性率は 10～60%であった。遺伝子検査でも 5月9日～6月8日まで陰性であったが、6月15日に 10尾中 2尾で *M. seriolae* の遺伝子が初認され、6月15日～7月6日の陽性率は 17～67%であった (図 1)。

浦ノ内湾では 2020 年が 7月上旬、2021 年が 6月中旬にベコ病のシストが初認されている。今回の結果も考慮すると、同湾では 6月中旬から 7月上旬以降にベコ病が発症するものと考えられる。*M. seriolae* の生活環 (感染過程) は不明であるが、感染 1 週間後にシスト形成に至るという報告 (柳ら 2021) があることから、感染時期は 6月上旬以降である可能性が高いと考えられた。

ここで、浦ノ内湾では、中間育成中のモジャコがベコ病に感染することは少ないと経験的に言われている。一方、同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ることが一般的である。浦ノ内湾でベコ病の感染が少ない理由は、感染・発症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推察される。しかし、*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・発症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。また、全国的にはベコ病の感染は 5～7月に集中すると報告されているが (Sano et al. 1998)、浦ノ内湾での感染・発症時期は 6月中旬から 7月上旬と遅い。浦ノ内湾が内湾であることも関係している可能性があるが、海域間での感染・発症時期の違いを比べることは、*M. seriolae* の生活環 (感染過程) を明らかにするための手がかりになると考えられる。

当初は、まず遺伝子検査の陽性率が上昇し、続いてシストを有する個体が出現するというシナリオを予想していた。しかし、今回の調査では目視検査と遺伝子検査の初陽性が同時期であり、リアルタイム PCR により感染初期を確認することができなかった。これには、本調査ではベコ病の感染が軽度であったことが原因であった可能性がある。すなわち、感染が軽度の場合、感染初期には生け簀内の感染魚が少なく、サンプリングに感染魚が含まれなかったために遺伝子検査が陰性となり、発症までの感染時期を特定できなかったものと考えられ

る。したがって、べこ病の感染初期を確認するためには、遺伝子検査のサンプリング尾数や間隔を検討する必要がある。

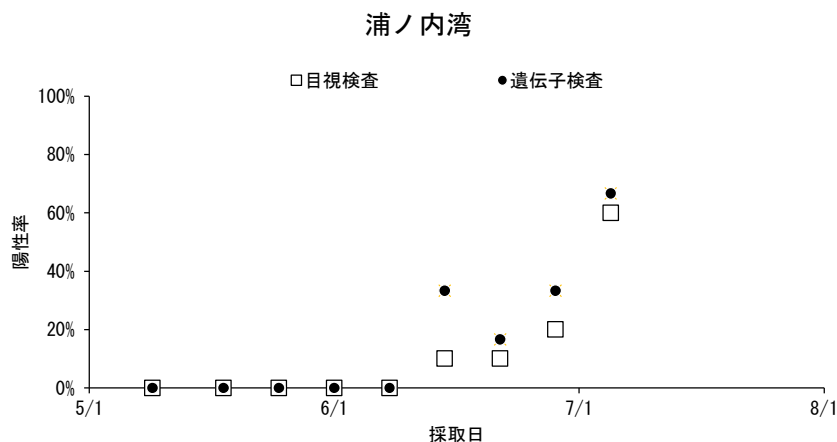


図 1 浦ノ内湾におけるべこ病陽性率の推移（春～夏）

（3）投薬効果の検証

2022年6月15日の投薬開始時にはシスト形成個体の割合が10%、シスト数が0.30個/尾であった（図2及び3）。投薬終了4日、11日及び18日目の検査では、シスト形成個体の割合は対照区（無投薬）で27-31%、ABZ区で7-12%、FB区で5-7%で（図2）、シスト数は対照区で0.37-0.52個/尾、ABZ区で0.11-0.16個/尾、FB区で0.06-0.10個/尾であった（図4）。検査日ごとに3区を比較すると、シスト形成個体の割合には3区で有意な差が確認され（Fisher's Exact Test、 $P < 0.05$ ）、ABZ区及びFB区は対照区に比べて低かった（Fisher's Exact Test、ボンフェローニ補正後、 $P < 0.05$ ）。図4のシスト数にも3区で有意な差が確認され（kruskal-Wallis検定、 $P < 0.05$ ）、ABZ区とFB区は対照区より少なかった（Steel-Dwass検定、 $P < 0.05$ ）。

魚体重の推移を図5に示す。試験開始時の平均魚体重は45.5gで、投薬終了後4日目には3区で平均魚体重に有意な差が確認され（一元配置分散分析、 $P < 0.01$ ）、対照区がABZ区及びFB区より、またFB区がABZ区より大きかった（Tukey多重検定： $P < 0.05$ 、対照区：107.9±16.9g、ABZ区：93.8±15.4g、FB区：100.5±16.7g）。投薬終了後11日目も3区で平均魚体重に有意な差が確認され（一元配置分散分析、 $P < 0.01$ ）、対照区がABZ区及びFB区より大きかった（Tukey多重検定： $P < 0.05$ 、対照区：121.5±24.0g、ABZ区：106.7±19.5g、FB区：109.2±22.1g）。また、投薬終了後18日目も3区で平均魚体重に有意な差が確認され（一元配置分散分析、 $P < 0.01$ ）、対照区がABZ区より大きかった（Tukey多重検定： $P < 0.05$ 、対照区：136.2±35.4g、ABZ区：123.5±24.7g、FB区：126.6±30.2g）。本試験では、ABZもしくはFBを投薬した場合の成長は無投薬より劣っていた。投薬15日間の1尾あたりの総給餌量は対照区で53.2g、ABZ区で44.6g、FB区で48.3gとなったことから、ABZ及びFB投薬期間中に摂餌量が減少したことが両区の成長低下の原因であり、投薬時は摂餌状態への注意が必要と考えられた。

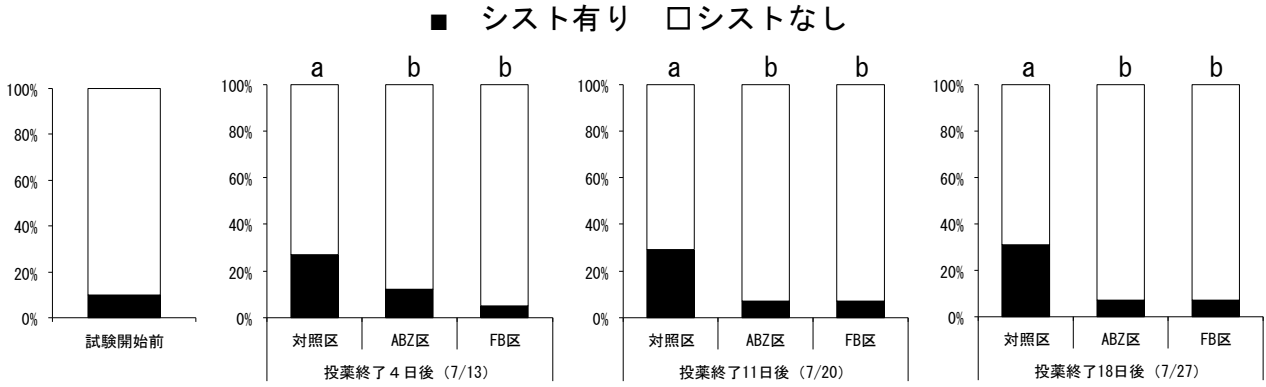


図2 投薬効果試験におけるシスト形成個体の割合
 ※アルファベットは有意差の関係を示す

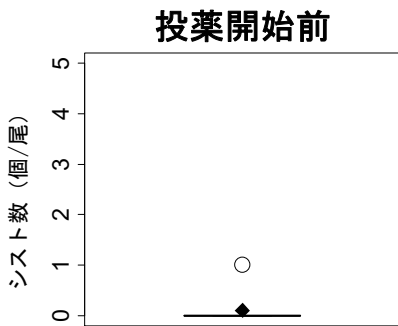


図3 投薬効果試験開始前におけるシスト数 (個/尾)
 ※○：外れ値、◆：平均値

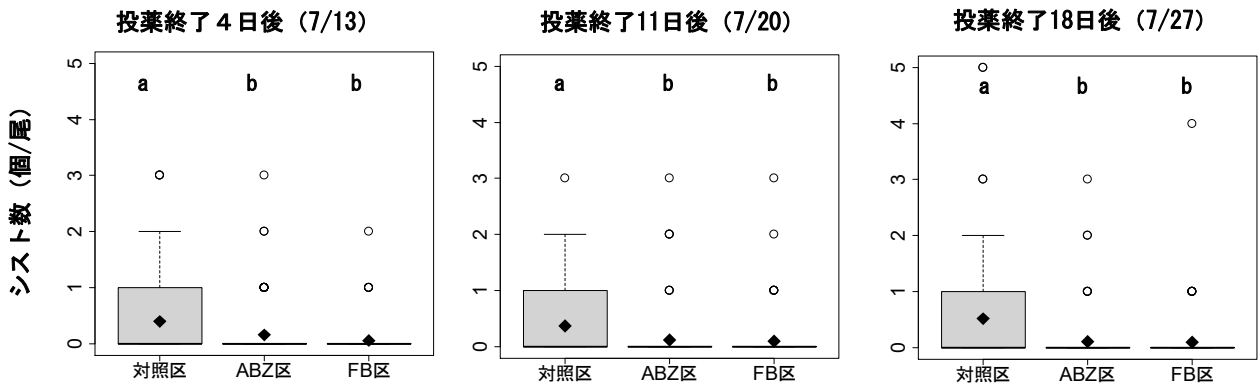


図4 投薬効果試験におけるシスト数 (個/尾)
 ※○：外れ値、◆：平均値、アルファベット：有意差の関係を示す

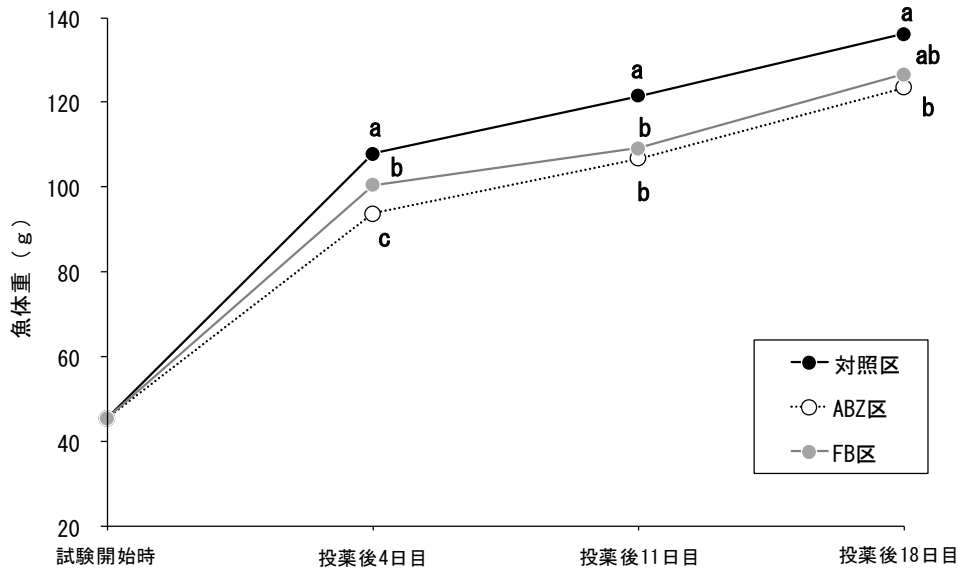


図5 投薬試験における各区の成長

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.
- 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.
- Sano M., J. Sato, H. Yokoyama (1998) Occurrence of Beko Disease Caused by *Microsporidium seriolae* (Microspora) in Hatchery-Reared Juvenile Yellowtail, 33(1), 11-16.
- 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.