

ブリ成魚の筋肉中にみられる微孢子虫 *Microsporidium seriolae* シストに起因する被害対策についての検討

松倉一樹, 宮原治郎^{*1}, 横山文彦, 土内隼人^{*2}

Studies on the measures to minimize the damage caused by cysts of *Microsporidium seriolae* (Microspora) in the trunk muscle of adult yellowtail

KAZUKI MATSUKURA, JIROU MIYAHARA^{*1}, FUMIHIKO YOKOYAMA AND HAYATO DONAI^{*2}

We aimed to minimize the economic damage caused by cysts of *Microsporidium seriolae* (Microspora) in the trunk muscle of adult yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. In field surveys from June 2007 to December 2008, *M. seriolae* infection were periodically investigated at three yellowtail culture facilities in Nagasaki prefecture. Prevalence of infection varied between 55-95% during the study period. In a fish stock with high intensity of infection during the initial culture period (20 cysts/fish in August 2007), infection levels remained relatively high even at the end of the survey. In 2 trials of oral treatment, juvenile yellowtails were fed the diets added mannan oligosaccharide, in order to evaluate the efficacy of reducing *M. seriolae* infection. After transfer of the fish to a sea cage, prevalence of infection reached 100% in both administered and control fish groups. However, intensity of infection in administered groups were significantly lower than those in the control groups. The present study showed that minimization of the infection intensity in the initial period would mitigate the damage by *M. seriolae* cysts, and that oral administration of mannan oligosaccharide to juvenile yellowtail could be effective in reducing *M. seriolae* infection.

ブリ *Seriola quinqueradiata* のベコ病は、九州地方の海面生簀で養殖されているブリ、カンパチ *Seriola dumerili*, ヒラマサ *Seriola lalandi* でしばしばみられ、¹⁻³⁾ 微孢子虫 *Microsporidium seriolae* の筋肉への寄生によって発症する。¹⁾ 体長5~15cmくらいの0才魚での発症が主であり、罹病魚は体表のところどころに目立った陥没が生じることを特徴とし、剖検すると筋肉内にシストと呼ばれる白色の集塊が観察される。シストが多数形成された個体は痩せて活力を失い死亡に至ることもあるが、シスト数が少ない個体は成長に伴って自然治癒するといわれている。¹⁾ しかし近年、ブリやヒラマサ成魚の筋肉内にもシストが確認され、消費者から苦情が寄

せられる事例が報告されている。⁴⁾ 消費者から苦情が寄せられると、その後の販売面で大きなマイナス要素となることが予想されるため、養殖業者から対策が求められている。

養殖ブリの出荷時期に *M. seriolae* シスト(以下、シストとする)が魚体内にみられることに起因する被害の対策を検討するためには、ブリが *M. seriolae* に感染する時期や、0才魚から出荷時期までの期間におけるシストの消長等を把握することが必要である。県内における *M. seriolae* のブリへの感染時期については、Sano *et al.* (1998) や Yokoyama *et al.* (2011) が詳細に検討した事例がある。一方、ブリの筋肉内における0才魚から出荷時期までのシストの消長に

*1 長崎県水産振興課

*2 長崎県県南水産業普及指導センター

については、Yokoyama *et al.* (2011) が宮崎県の養殖場においてブリやカンパチを対象として検討した事例があるが、県内での検討事例はない。また、微孢子虫症は投薬による化学療法を期待できない上に *M. seriolae* が魚へ感染する経路が不明であり、⁶⁾ 被害を効果的に軽減する対策は見つかっていない。

そこで本研究では、県内の養殖ブリ筋肉内におけるシストの消長を、0才魚から出荷時期まで調査した。併せて、カンパチへの投与によりハダムシ *Benedenia seriolae* の寄生数が軽減される傾向にあったことが報告されている⁷⁾ 飼料添加物（商品名：アクエイト PP, Alltech 社, 主成分：酵母由来のマンナンオリゴ糖, 以下 AQ とする）をブリ 0才魚へ投与して、*M. seriolae* 感染強度の軽減効果についても検討した。

材料と方法

寄生状況調査

調査期間, 場所, 内容 2007年6月～2008年12月にかけて、県内の同じ海域にある2ヶ所の養殖場および総合水産試験場の海面生簀で飼育されていたブリを採取し、筋肉内に存在するシスト数の調査を実施した。

対象魚 長崎県沖の海域で2007年5～6月に採捕された後、各地先で飼育されていた群の魚を用いた。

調査頻度および尾数 県内2ヶ所の養殖場における調査では、2007年6～8月：1～2ヶ月に1回、2007年10月～2008年12月：3～6ヶ月に1回の頻度で検体を採取した。1回あたりの調査尾数は、9～20尾/群とした。一方、総合水産試験場の海面生簀における調査では、2007年6～9月：1ヶ月に1～2回、2007年10月～2008年3月：3ヶ月に1回、2008年4月～12月：1ヶ月に1回の頻度で検体を採取した。1回あたりの調査尾数は10～20尾とした。

シスト数, 感染率, 感染強度の確認 採取したブリは3枚に卸し、目視で筋肉中のシスト数を計数した。シスト数の計数結果をもとに、群

毎の感染率（感染尾数/検査尾数×100）と感染強度（シスト数/感染尾数）を算出した。

経口投与試験-1

試験飼料 市販のブリ用 EP 飼料（EP）と、EP に AQ を飼料重量の 0.4% 添加した飼料（EP + AQ）の 2 種類を用いた。AQ は EP 重量に対して 2% 量の大豆油と混合した後、EP の表面に付着させて添加した。

供試魚 西海区水産研究所から入手後、市販飼料を用いて総合水産試験場内の陸上水槽で 5 ヶ月間馴致飼育した平均尾叉長 154mm, 平均体重 53g のブリ人工種苗（0才魚）を使用した。

飼育 2012年5月24日から6月28日までの36日間は、ブリ100尾を50尾ずつ2区に分け、それぞれ500L円形ポリカーボネイト水槽に収容した。飼育水は、砂ろ過後に紫外線殺菌処理を施した海水を用いて流水式とした。各区にEP飼料またはEP+AQ飼料を1日1回、週5日の頻度で給餌し、自然水温下で飼育した。試験を開始した36日目の6月28日に各区からそれぞれ40尾ずつを無作為に採取し、それらを2つの生簀に分けて総合水産試験場の海面生簀に収容後、7月21日までの23日間飼育を行った。生簀は1.5m×1.5m×2mの網生簀を1試験区につき2生簀ずつ使用した。海面生簀での飼育期間中は、各区にEP飼料またはEP+AQ飼料を1日1回、原則週4日の頻度で給餌した。なお給餌量は、各水槽または各生簀毎に全て同じ量となるよう調整した。

魚体測定 試験開始前に上記と同群の別の魚を40尾、試験終了後に全個体の体重を測定し、平均体重、日間増重率および飼料効率を求めた。

感染率および感染強度 試験開始前に40尾、36日後に各区10尾、試験終了後に全個体を採取した。シストの計数、感染率および感染強度の算出は、寄生状況調査と同様に行った。

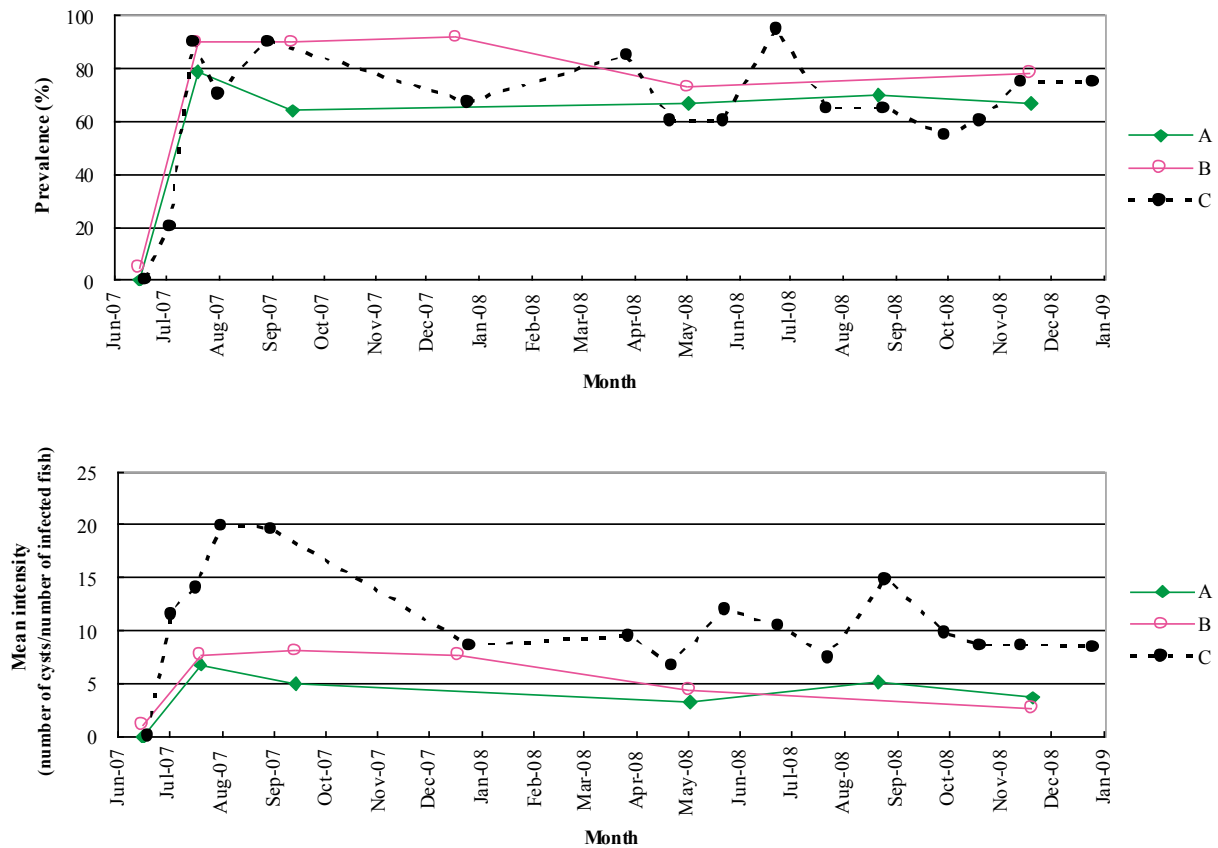


Fig. 1 Prevalence and mean intensity of *Microsporidium seriolae* in the field survey of juvenile yellowtail at 2 fish farms (A and B) in Nagasaki Prefecture and Nagasaki Prefectural Institute of Fisheries (C).

統計処理 飼育成績および感染強度は Mann-Whitney 検定を行い、飼育成績は危険率 5%、感染強度は危険率 1%による有意差を判定した。

経口投与試験-2

試験飼料 経口投与試験-1 と同様の飼料を使用した。

供試魚 経口投与試験-1 と同様のブリ人工種苗 (0 才魚) を使用した。

飼育 ブリ 200 尾を無作為に 100 尾ずつ 2 区に分け、2012 年 5 月 24 日から 8 月 6 日までの 75 日間、総合水産試験場の海面生簀で飼育した。各区のブリは 3m×3m×3m の網生簀に收容し、1 試験区につき 1 生簀を使用した。試験期間中は、各区に EP 飼料または EP+AQ 飼料を 1 日 1 回、原則週 4 日の頻度でほぼ飽食量を給餌し

た。また、ベネデニア症の対策として、淡水浴を適宜実施した。

魚体測定 試験開始前に上記と同群の別の魚を 40 尾、試験終了後に各区 30 尾の体重を測定し、平均体重、日間増重率および飼料効率を求めた。

感染率および感染強度 試験開始前に上記と同群の別の魚を 40 尾、試験終了後に各区 30 尾を採取した。シストの計数、感染率および感染強度の算出は、寄生状況調査、経口投与試験-1 と同様に行った。

統計処理 経口投与試験-1 と同様に行った。

結果

寄生状況調査

各群における感染率および感染強度の推移を Fig.1 に示す。感染率は、いずれの調査群に

Table 1. Growth performance of juvenile yellowtail in the experiment 1 of oral treatment with mannan oligosaccharide for 59 days

		EP	EP + AQ
Average body weight (g)	Day 0	53 (n = 40)	53 (n = 40)
	Day 59	114 (n = 39)	113 (n = 40)
Specific growth rate (% / day)		1.30	1.28
Feed efficiency (%)		78	75
Survival rate (%)		98	100

Table 2. Prevalence and mean intensity of *Microsporidium seriolae* in the experimental 1 of oral treatment with mannan oligosaccharide for 59 days.

Parameter	Day 0 (n = 40)	Day 36		Day 59	
		EP (n = 10)	EP + AQ (n = 10)	EP (n = 39)	EP + AQ (n = 40)
Prevalence (%)	0	0	0	100	100
Mean intensity	0	0 ± 0.0	0 ± 0.0	42 ± 16.8 ^a	31 ± 13.7 ^b
Farming condition		Day 0-36: Land-based tank with filtered seawater		Day 0-36: Land based tank with filtered seawater Day 37-59: Net cage	

Different superscript letters in each row indicate significant difference by Mann - Whitney's test ($P < 0.01$).

においても種苗を導入した2007年の6月に5%以下を示したが、その後7~8月にかけて79~90%へ急増し、調査を終了した2008年12月まで55~95%の間で推移した。

なお、感染率が増加した2007年6~8月における各群を飼育していた海域の水温は、20℃以上を示した。

感染強度は、いずれの調査群においても種苗を導入した2007年の6月に1個/尾以下を示したが、その後7~8月にかけて7~20個/尾へ急増した。群によって程度の差がみられたものの、その後徐々に減少傾向となり、調査を終了した2008年12月時点で4~8個/尾に減少した。なお、総合水産試験場飼育群における感染強度は、感染初期の2007年7~8月に県内2ヶ所の調査

群と比べて高い値を示し、調査終了時までその傾向が続いた。

経口投与試験-1

飼育成績 試験期間中の水温は20.1~26.8℃の間で推移した。59日間の飼育成績をTable 1に示す。全ての項目において、各区間に統計的な有意差はみられなかった。

感染率および感染強度 試験開始前、試験開始36日目、試験終了時における各区の感染率および感染強度をTable 2に示す。陸上水槽で飼育していた試験開始前および試験開始36日後において、シストは確認されなかった。海面生簀に沖出し後23日が経過した試験終了時の感染率は、各区とも100%を示した。感染強度は、

Table 3. Growth performance of juvenile yellowtail in the experiment 2 of oral treatment with mannan oligosaccharide for 75 days

		EP	EP + AQ
Average body weight (g)	Day 0	53 (n = 40)	53 (n = 40)
	Day 75	143 (n = 30)	143 (n = 30)
Specific growth rate (% / day)		1.32	1.32
Feed efficiency (%)		51	55
Survival rate (%)		96	97

Table 4. Prevalence and mean intensity of *Microsporidium seriolae* in the experiment 2 of oral treatment with mannan oligosaccharide for 75 days.

	Day 0 (n = 40)	Day 75	
		EP (n = 30)	EP + AQ (n = 30)
Prevalence (%)	0	100	100
Mean intensity	0	74 ± 34.5 ^a	44 ± 23.4 ^b

Different superscript letters in each row indicate significant difference by Mann - Whitney's test ($P < 0.01$).

EP区: 42個/尾, EP+AQ区: 31個/尾を示し, EP区がEP+AQ区に比べて有意に高かった ($P < 0.01$).

経口投与試験-2

飼育成績 試験期間中の水温は 20.2~29.5°C の間で推移した。75 日間の飼育成績を Table 3 に示す。全ての項目において, 各区間に統計的な有意差はみられなかった。

感染率および感染強度 試験開始前と終了時における感染率および感染強度を Table 4 に示す。試験開始前において, シストは確認されなかった。試験終了時の感染率は, 各区とも 100% を示した。感染強度は, EP 区: 74 個/尾, EP+AQ 区: 44 個/尾を示し, EP 区が EP+AQ 区に比べて有意に高かった ($P < 0.01$)。

考 察

本研究では, シストが出荷時期の養殖ブリ魚体内でみられることに起因する被害の対策に

ついて検討した。2007 年 6 月~2008 年 12 月までの寄生状況調査では, 県内 3 ヶ所で飼育されたブリにおけるシストの消長を調べた。その結果, いずれの群においても, 0 才魚の 6 月中旬は感染率, 感染強度ともに低い値を示していたが, その後 7~8 月にかけて急増した。長崎県内における *M. seriolae* のブリ 0 才魚への感染時期等については, Sano *et al.* (1998) や Yokoyama *et al.* (2011) によって詳細に検討され, 6~7 月にかけて感染盛期を迎えること, 水温 20°C 以上の条件下では感染後 20 日程度経過するとシストが確認されることが報告されている。今回実施した寄生状況調査における 0 才魚の 6~8 月における感染率の推移は, それらの知見と概ね一致していたものと考えられる。0 才魚 9 月以降における各群の感染率は, 調査終了時の翌年 12 月まで比較的高い値のまま推移した。一方, 感染強度については, 各群とも時間の経過とともに減少傾向となったものの, 初期の感染強度が他の 2 ヶ所より高かった群では, 調査終了時

まで他の群よりも高い状態が続いた。Yokoyama *et al.* (2011) は、感染後 1~2 ヶ月間の感染強度によってその後の治癒過程が異なり、その時期における感染強度が 5 個/尾以下である場合は 2 年目以降に治癒するが、初期の感染強度が高い場合は治癒が困難であることを推察している。今回実施した試験 1 における各群の感染強度の推移も、この報告と概ね一致するものと考えられる。

経口投与試験では、飼料添加物 AQ の感染強度軽減効果について、2012 年 5~8 月に総合水産試験場の海面生簀で飼育試験を行い検討した。その結果、2 回の試験において AQ 投与区の感染強度が無投与区に比べて有意に低い値を示し、AQ 投与により感染強度を軽減できることが示唆された。1 回目の試験では、*M. seriolae* に暴露される海面生簀での飼育期間は 23 日間であり、試験終了時における AQ 投与区の感染強度は無投与区に対して 74% 程度の値にとどまった。一方、2 回目の試験では、海面生簀での飼育期間が 1 回目比べて長い 75 日であり、試験終了時における AQ 投与区の感染強度は無投与区に対して 59% 程度の値にとどまった。以上のことから、AQ の投与を継続する期間が長いほど、感染強度を軽減できる可能性が示された。

これらの結果から、シストが養殖ブリ魚体内でみられることに起因する被害の対策として、初期の感染強度を軽減することが必要であると考えられる。Yokoyama *et al.* (2011) は、初期の感染強度を軽減できる対策として、ブリ 0 才魚の成長を促進し、感染盛期における魚体サイズを可能な限り大きくしておくことを提案している。また、初期の感染強度が高い群についてはその後の治癒が困難であり、投薬による駆虫も期待できないことから、養殖現場で実施可能な対策として、外観上症状が重篤な個体の除去を提案している。一方、今回実施した経口投与試験では、飼料添加物 AQ をブリへ投与することにより、無投与の群に比べて初期の感染

強度を軽減できる可能性が示された。しかし、その作用機序は不明であり、初期の感染強度を軽減できた程度も決して大きくない。また、出荷時期まで投与を継続した場合の影響についても不明である。今後は、より効果的な AQ の投与量、長期投与の影響および感染強度軽減効果が発現するまでの作用機序について検討する必要がある。

謝 辞

本稿をとりまとめるにあたり、種々ご教示いただいた東京大学横山博助教授に厚くお礼申し上げます。

また、本研究を進めるにあたり、(独)水産総合研究センター西海区水産研究所資源生産部吉田一範氏をはじめとする関係各位には、供試魚の提供ならびに輸送についてのご指導とご協力をいただいた。

関係漁業協同組合ならびに水産業普及指導センターの方々にも、供試魚の提供等にご協力をいただいた。

以上の方々に、厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 江草周三. ブリ幼魚のベコ病の病原微胞子虫について. 魚病研究 1982; **16**: 182-192.
- 2) Yokoyama H, Kim J, Sato J, Sano M, Hirano K. Fluorochrome Uvitex 2B stain for detection of the microsporidian causing beko disease of yellowtail and goldstriped amberjack juveniles. *Fish Pathol.* 1996; **31**: 99-104.
- 3) Sano M, Sato J, Yokoyama H. Occurrence of beko disease caused by *Microsporidium seriolae* (Microspora) in hatchery-reared juvenile yellowtail. *Fish Pathol.* 1998; **33**: 11-16.
- 4) 中野平二. 養殖魚の筋肉内に見られる異物. ゆうすい第 21 号, 熊本県水産研究センター, 熊本. 2012.
- 5) Yokoyama H, Ayado D, Miyahara J, Matsukura K, Takami I, Yokoyama F, Ogawa K. Infection

dynamics of *Microsporidium seriolae* (Microspora) causing the beko disease of *Seriola* spp. *Fish Pathol.* 2011; **46**: 51-58.
6) Ogawa K, Yokoyama H. Parasitic diseases of

cultured marine fish in Japan. *Fish Pathol.* 1998; **33**: 303-309.

7) セルジュ・コーネイリ, 中山圭, 船木緑. 寄生虫対策の最前線. 月刊養殖ビジネス 2012; **49** (5): 56-58.