

マボヤ被囊軟化症の蔓延防止に関する研究



健康な株(1株当たりの約30個体) 発症した株(被囊が破け、中身が落下)

宮城県水産技術総合センター 熊谷 明

背景 (1)

1995年頃から韓国で被囊の軟化を伴う養殖マボヤの大量死が発生
 養殖生産量: 1994年(ピーク時) 43,000t/年→現在7,000t~8,000t/年
 韓国政府は10年以上対策研究に取り組んだが、原因は特定されず。

2002年以降、宮城県からマボヤを韓国に輸出
 好調な輸出を背景に価格が上昇(50円/kg→150円/kg)
 →生産規模の拡大。新規養殖業者の参入→**種苗の不足**

2004年5月 県漁協による韓国ホヤ養殖事情調査で、日本からの輸入増加の背景に、
 韓国での原因不明の発生があることを知る。
 7月 業界への報告会→**大量死の情報共有**

2005年9月~2007年1月 県は養殖業者に3度にわたり韓国種苗を導入しないよう文書
 で指導

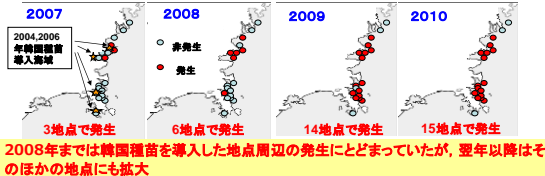
しかし、2007年2月に一部の海域で韓国と同じ症状で大量死が発生。
 調査の結果、2004、2006年に韓国系の輸出業者により韓国産種苗が導入されていた。
 種苗を転売した韓国系業者は、「この病気は伝染病ではなく、韓国の環境が悪いために
 発生」と説明。
 →県は、①新疾病に指定し、国に報告、②発生群の処分、③3年間の漁場閉鎖を要請

背景 (2)

なぜ、韓国産種苗の導入を許したか

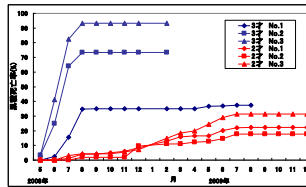
- 県、漁協の情報不足、認識の甘さ
 (1)マボヤは漁協の共販品でなく、これまで養殖業者は県や漁協の指導を受けてこなかった→①県・漁協の指導力がない。②浜の情報が入ってこない。
 (2)韓国の研究者が長年にわたり原因を究明できなかった→業界には本病が環境要因に起因するへい死で、ほどなく消滅するという楽観的観測があった。
- 法的規制がなかった
 当時は輸入防疫(水産資源保護法)の対象疾病でなかったため、何の検査もなく、種苗が自由に輸入された。

その後の疾病の拡大状況



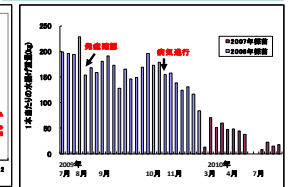
背景と目的

モニタリングロープの累積死亡率



- (1)3才の累積死亡率が35~95%。2才は20~30%
- (2)発症した個体は回復せず、全て死亡
- (3)20℃を超えると一旦収束、冬に再発

A養殖業者のロープ1本当たりの水揚げ量



病気が発生して1年後には、水揚げ量が1/10に減少

2007年度から原因究明と対策研究を開始

- 目的: ①原因究明, ②診断方法, ③被害軽減対策, ④蔓延防止対策の開発

業績関連研究課題と実施年度

実施年度	業績関連研究課題 (事業)
2007~2009	養殖衛生管理問題への調査・研究委託事業 (日本水産資源保護協会) 「ホヤの新疾病 (被囊軟化症) の疫学的研究」
2010~2011	同上 「ホヤの新疾病 (被囊軟化症) の防除技術に関する研究」
2012~2014	増養殖対象種に発生する新疾病に関する研究 (県単)
2015~2016	ホヤ養殖安定化対策事業 (県単)
2016~2018	養殖振興プラン推進事業 (県単) 「ホヤ病障害対策生産技術開発」

研究成果1 原因の究明(1)

被囊切片(HE染色)
 多数の鞭毛虫様細胞(▲)

マボヤ細胞の塩基配列を基に作製したプロープによるIn situ ハイブリダイゼーションで染色されず→これらはマボヤの細胞ではない

健康なホヤを入れた水槽に軟化被囊を垂下すると2週間で病気が再現

病原体の性状試験結果	ウイルス	細菌	原虫
軟化被囊を懸濁した海水を5μで濾過すると感染力は消失したが、0.45μでは消失	×	○	○
軟化被囊を濾過(-80℃)や水モジナイズすると、感染力を失った	×	×	○
軟化被囊の病原細胞中には鞭毛虫様細胞が観察されるが、細菌はほとんど観察されない		×	○
病原体は1μのメッシュを通過できる	○	○	○

以上の結果から、本病の病原体は1μのメッシュを通過する原虫の可能性が高い

研究成果1 原因の究明(2)

MEM-2.5培地を開発し、鞭毛虫の純培養に成功

濃度 (虫体/mL)	発症までの 日数	発症個体数/ 供試個体数	発症率(%)
1,000	17	11/12	92
100	17	10/12	83
10	23	1/12	8
1	—	0/12	0
0.1	—	0/12	0
0	—	0/12	0

酸化被覆を一晚海水中に入れておく、病理組織標本に似た鞭毛虫が遊出

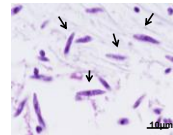
純培養した鞭毛虫を使った感染実験で、濃度依存的に、病気が再現。コッホの4原則を満たし、本虫が病原体であることを証明

鞭毛虫の遺伝子解析と形態観察の結果、新種と判明 → *Azumibodo hoyamushi*と命名

研究成果2 診断方法の開発

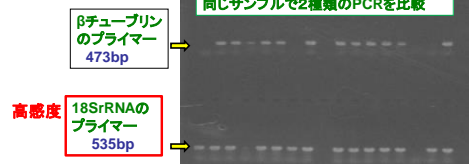
病理組織学的診断法

鞭毛虫を確認



遺伝子学的診断法

鞭毛虫のβチューブリンおよび18SrRNA遺伝子のプライマーによる2種類のPCR法を開発



研究成果3 感染源の調査(天然マゴヤ)

天然産物に生息するマゴヤの被覆酸化被覆の検査結果

2010年(震災前)

海域	調査地点*	調査年月	養殖場からの距離(m)	水深(m)	調査個体数	異常個体数	鞭毛虫陽性個体数/総体数	PCR陽性個体数/総体数
養南海域	SL1	2010年6月	400~	10~12	1100	3	1/3	1/3
	SL2	7月	300	3~10	300	3	2/3	2/3
養東海域	SL3	8月	300	3~10	400	8	2/8	4/8
	SL4	7月	800	5~7	300	4	0/4	0/4

2011年(震災後)

海域	調査地点	調査年月	養殖場からの距離(m)	水深(m)	調査個体数	異常個体数	鞭毛虫陽性個体数/総体数	PCR陽性個体数/総体数
養南海域	SL1	2011年7月	300	10	800	8	0/8	1/8
	SL2	7月	300	3~10	600	8	1/8	1/8
養東海域	SL1	8月	400~	10~12	700	1	0/1	0/1
	SL2	8月	800	18	800	7	0/7	2/7
養南海域	SL4	8月	800	5~7	800	8	0/8	0/8
	SL5	8月	800	8	400	3	0/3	0/3

*1 2010年と2011年の調査地点(SL1~4)は同一地点
*2 海水調査で採取した異常個体について、1個体ずつ鞭毛虫の有無を顕微鏡観察およびPCR検査

震災後にも、天然マゴヤで本虫の感染を確認

震災前の研究テーマ: ①モニタリング, ②原因究明, ③防除, 防疫対策
震災後の研究テーマ: ①モニタリング, ②漁場での病原体の有無, ③発病, 拡大要因(密度)

研究成果3 感染源の調査(エゴヤ)

外見上正常なエゴヤ

培養

発病マゴヤ養殖施設の外見上正常なエゴヤを50日間培養すると15%が発病

表 培養中に発病したエゴヤの被覆を感染源としたマゴヤに対する感染実験

試験区	発症までの日数	発症個体数/ 供試個体数	発症率(%)
エゴヤ被覆①	8	9/12	75
エゴヤ被覆②	8	10/12	83
対照区	—	0/12	0

病原体はエゴヤにも不顕性感染している。
既発生漁場から本病を駆除することは困難

研究成果4 被害軽減対策

- 低密度養殖**
できるだけ3才ホヤを漁場に残さず、2才で出荷。
死亡率が高い場合は、導入種苗数を制限
- 深吊養殖**
養殖水深が深いほど、生残率が高い→8m以深で養殖
- へい死個体の陸上処分**
水温10℃では、病原体は死亡個体内で10日間以上生存し、感染源になる
また、病原体は海水中で2週間以上生存することから、広範囲への感染が懸念
→死体は速やかに取り除き、陸上で処分する

平均生残率個体数

最小-最大

養殖水深が深いほど、生残率が高い

研究成果5 蔓延防止対策(ゾーニング管理)

非発生漁場を維持するために

- 非発生漁場では、非発生漁場で生産された種苗のみを使用
- 人工種苗では卵消毒を実施
- 種苗移出入時はヨード剤消毒を実施

非発生漁場

発生漁場

定期調査地点

- 大沢
- 大島
- 大谷
- 田の浦
- 伊里前
- 鹿野
- 戸倉(内海)
- 戸倉(中)
- 十三浜
- 高田
- 水浜
- 出島
- 竹浦
- 塚浜
- 崎崎
- 新浦
- 経浦
- 谷川
- 治浜
- 表浜
- 浦戸

研究成果5 蔓延防止対策（種卵、種苗の消毒）

①卵消毒による親由来の感染防除法を開発

表 親毛虫に対する塩素およびヨード剤の消毒効果

A 塩素 (ppm)	暴露時間(分)			B ヨード剤 (ppm)	暴露時間(分)		
	0	5	10		0	5	10
0	++	++	++	0	++	++	++
0.25	++	++	++	0.25	NE	NE	NE
0.5	++	+	+	0.5	++	++	++
1	++	-	-	1	++	++	++
2	++	-	-	2	++	++	++
4	++	-	-	4	++	+	+
8	++	-	-	8	++	-	-

++: 親毛虫全頭(変化なし), +: 一部感染, 主: 顕死, -: 死亡

人工種苗生産時にヨード剤(50ppm・1分)で受精卵と器具を消毒することで感染を防除可能

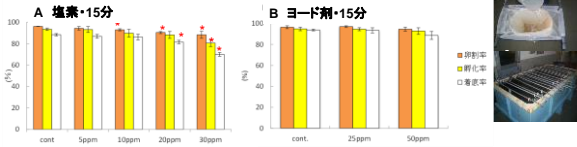


図 マボヤ受精卵に対する塩素剤およびヨード剤の安全性 (+ Cont) に対し有意差あり

②種苗の消毒方法を開発

マボヤ種苗(8ヶ月令, 0.1g)は800ppm・60分のヨード剤消毒でも安全

種苗のヨード剤消毒(50ppm・5秒程度)を実施

波及効果(1) 現在の状況

1 震災による壊滅後に、再開したマボヤ養殖で2016年に本病の再発が確認されたものの、現在まで軽度の被害にとどまっている。

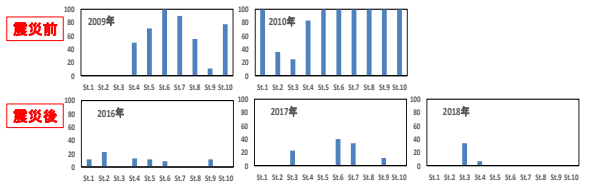


図 調査地点毎の発症率の推移(中部) (発症率数/調査率数) 各地点10本前後調査

震災前には産場に病原体が定着し、ほとんど全産場の全グループで発症していた。震災後は産場に病原体が定着せず、発症率が低い。

14

波及効果(2) 国の防疫体制の推進

本研究等の知見を基に、

- 1 平成28年7月に国が本病を輸入防疫対象疾病および特定疾病に指定。
- 2 国が「マボヤの被覆軟化症防疫対策指針(平成28年7月27日付消安第1947号)」を策定。
- 3 国の委託を受けて、日本水産資源保護協会が「特定疾病診断マニュアル」を作成(平成28年10月)

韓国からの新たな病原体の侵入防止および未発生海域(北海道、青森県等)への蔓延防止が図られている。

15

まとめ

- 1 1995年頃から韓国, 2007年から宮城県で発生している被覆の軟化を伴う大量死の研究に取り組み, 本病が新種の親毛虫(アズミボド・ホヤムシと命名)による感染症であることを明らかにした。
- 2 病理組織学的診断法, 遺伝子学的診断法(PCR)を開発した。
- 3 感染源が養殖マボヤの他に, 天然マボヤ, エボヤであることを明らかにした。
- 4 被害軽減対策として, 低密度養殖, 深吊養殖の有効性を示し, 普及した。
- 5 蔓延防止対策として, ゾーニング管理を普及した。また, 種卵・種苗消毒方法を開発し, 普及した。
- 6 震災による壊滅後に再開したマボヤ養殖で, 2016年に本病の再発が確認されたものの, 現在まで軽度の被害にとどまっている。
- 7 本研究等の知見を基に, 本病が国の輸入防疫対象疾病および特定疾病に指定され, 「マボヤの被覆軟化症防疫対策指針(平成28年7月27日付消安第1947号)」が策定された。これにより, 韓国からの新たな病原体の侵入防止や未発生海域(北海道, 青森県等)への蔓延防止が図られている。

共同研究機関

- ・水産研究・教育機構 増養殖研究所 (遺伝子解析)
- ・琉球大学理学部(電顕観察)
- ・愛媛大学理学部(遺伝子解析)

17