

## 白点病発生予測のためのモニタリング及びシストの検出方法の確立

増養殖環境部 安藤裕章・林芳弘・大河俊之

### はじめに

野見湾の養殖マダイにおいて、白点病のため平成9年に74業者で約1,100千尾（マダイ全養殖尾数の30%）、550 t、550百万円の被害が発生し、平成13年にも約160 tの被害が発生した。また、平成16年には養殖カンパチで679千尾（カンパチ全養殖尾数の47%）、1,789 t、1,430百万円の被害が発生した。本疾病は突発的に大発生し、駆除方法等がなく、発生に気がついた時には手遅れとなり、短期間に大きな被害をもたらす例が多い。

白点病は海産白点虫 *Cryptocaryon irritans* が海産魚類の鰓、体表、鰭に大量寄生すると呼吸や鰓及び皮膚の浸透圧調整に障害を起し、魚が死亡することもある魚病である。魚種を問わず発生し、県内での大規模な被害発生は野見湾が主であるが、その他にも県下の海産魚類飼育漁場、施設で散発的な発生があり、大発生すると被害率が高くなる。

白点虫は駆除方法がないことから、その対策としては発生を予測して危険漁場から避難する方法が最上と考えられる。本研究はそのための基礎研究を行うことを目的とした。発生予測が可能になれば、事前の避難により大規模な死亡が避けられるため、被害が大幅に軽減できる。また、県内だけでなく、全国的にも問題になっている魚病であり、普及効果は大きい。

### 試験Ⅰ 野見湾におけるマダイへの白点虫寄生状況のモニタリング

#### 目的

野見湾における白点虫の寄生時期と寄生強度及び疾病の発生状況を確認する。

#### 材料と方法

図1に示した野見湾の特定のマダイ養殖小割を定点として、平成18年7月6日から12月11日までに8回、マダイのサンプリングを行った。サンプリングは飼育飼料のドライペレットを散布し、マダイを寄せ、たも網ですくい取った。すくい取ったマダイは、あらかじめアイスボックス中で海水と氷を混合しておいた水氷に浸漬し、急冷して、水産試験場まで持ち帰った。

持ち帰ったマダイの尾叉長、体重を測定後、鰓を切り出し、左右に2分割した。さらに左側の4枚の鰓弓をバラバラに切り離し、冷却した生理食塩水、または海水水中に浸漬した。その後、おのおのの鰓弓から鰓弁をバラバラに切り離し、その鰓弁をすべてプレパラート上に並べ、生理食塩水をマウントし、カバーガラスをかけ、顕微鏡下で白点虫の寄生状況を検査した。なお、検査を鰓の左側のみとしたのはサンプルのマダイが大きく、片側のみの検査でも2時

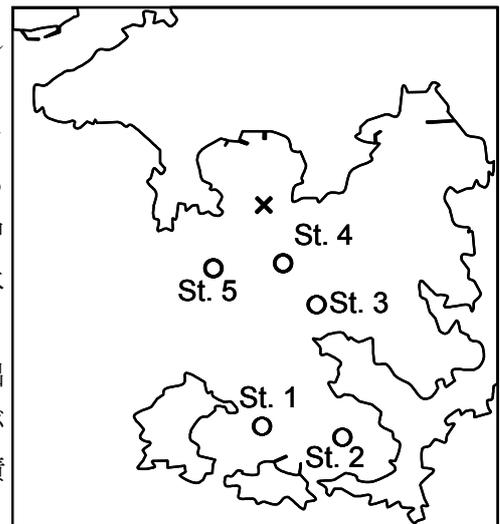


図1 野見湾白点虫調査定点

×：マダイサンプリング定点

○：採泥定点

## 白点虫予測のためのモニタリング

間前後を要したためである。

### 結果

結果を表1に示した。8回のモニタリングで9月8日と11月21日におのおの1個体で白点虫2個体と3個体が確認できた。

表1 養殖マダイにおける白点虫の寄生状況

月日	検査した尾数	寄生確認尾数	寄生白点虫の 個体数	尾叉長の範囲 :cm	魚体重の範囲:g
7月6日	7	0		24.9～29.1	343～549
7月28日	7	0		25.2～30.5	322～522
8月23日	7	0		26.6～29.3	424～563
9月8日	6	1	2	24.9～30.6	320～650
9月22日	7	0		26.3～30.8	418～703
10月11日	7	0		27.5～30.2	459～689
11月21日	5	1	3	28.4～33.3	495～822
12月11日	5	0		27.3～34.2	464～879

### 考察

モニタリングの結果から白点虫は少なくとも9月上旬から11月下旬頃まではマダイに寄生していることが示唆された。しかし、時期的な寄生強度については不明であった。

野見湾では平成18年度にマダイで白点病の発生は見られなかった。一方、カンパチでは図1のSt. 2直近の漁場で10月13日に0才魚2小割に発生し、約54%の被害(65,000尾中35,000尾の死亡)があった。しかし、St. 2のカンパチ小割では発生が確認されず、被害もなかった。また、湾内のその他の漁場でも発生は確認されなかったことから、白点病の発生は非常に局所的であった。

## 試験Ⅱ 底泥からの白点虫シスト検出方法の検討

### 目的

白点虫シストを過飽和溶存酸素条件及び低溶存酸素条件で培養すると発達が抑制される。また、低溶存酸素条件で培養したシストを飽和溶存条件に移すと再び発達を開始し、感染仔虫を放出することが知られている。この結果から白点病が秋期に多発することは温度躍層の崩壊、台風等による海水の擾乱に伴う水底への酸素供給が関連している可能性が示されている<sup>1)</sup>。

そこで低溶存酸素状態の海底に堆積した白点虫シストの存在時期及び量を確認することができれば、白点病発生の危険性と発生した際の寄生強度が推定できる。そして、白点病発生時期を予測し、避難することで白点病の被害を避けられる可能性がある。

そのため、本試験の目的は底泥中の白点虫シストの検出方法の検討とシストの堆積時期、分布域と分布量を調査することとした。

## 材料と方法

白点虫の魚への寄生期間は通常4～5日間で、栄養体となって魚体から離脱し、海底に沈降してシストとなり、シスト内で仔虫を200個体程度形成する。シストから感染仔虫が遊出し、それが魚に寄生する。感染仔虫の感染力があるのは遊出から1日以内、通常数時間以内と考えられる。魚体からの離脱から感染仔虫の遊出まで通常6日前後である<sup>2)</sup>。

ただし、シストが低溶存酸素状態に置かれると、仔虫の形成が停止し、休眠状態となる。その休眠状態のシストに酸素が供給されると仔虫の形成が進行し、感染仔虫が遊出する。酸素の供給があってから感染仔虫が遊出するまで10～11日とされている<sup>1)</sup>。

底泥のシストを採取するために、平成16年11月のカンパチ大量死を例に野見湾の白点虫シストの分布密度を推定してみた。鰓は左右一対あり、鰓弓は左右4枚ずつある。鰓弁は内側、外側の二重になっており、それぞれ150～180枚あるので、鰓弁の総数は $(150 \text{ 枚} + 180 \text{ 枚}) \div 2 \times 2 \text{ 重} \times 4 \text{ 枚} \times 2 = 2,640 \text{ 枚}$ である。鰓弁1枚当たりの白点虫寄生数を5個体と仮定すると、大量死の際のカンパチの死亡は調査結果から飼育尾数の約50%の670千尾であることから、死亡魚に寄生していた白点虫の総数は $5 \text{ 個体} \times 2,640 \text{ 枚} \times 670 \text{ 千尾} = 8,844 \text{ 百万個体}$ となる。シスト1個体から遊出する仔虫は200個体程度ということから、海底に堆積したシストの数は $8,844 \text{ 百万個体} \div 200 \text{ 個体} = 44,220 \text{ 千個体}$ となる。野見湾の面積は $4.1 \text{ k m}^2$ であるので、シストが堆積する溶存酸素の低い場所を湾の半分と仮定してシストの分布密度は $44,220 \text{ 千個体} \div (4,100 \text{ 千 m}^2 \div 2) = 21.6 \text{ 個体/m}^2$ と推定した。

一方、エクマンバージ採泥器の採泥面積は $0.143 \text{ m} \times 0.143 \text{ m} = 0.02 \text{ m}^2$ であり、1回の採泥で採取できるシストの数は $21.6 \text{ 個体/m}^2 \times 0.02 \text{ m}^2 = 0.432 \text{ 個体}$ と推定される。このことから2回で0.86個、3回で1.30個採取できると推定された。

以上の算出基礎として、①体表への寄生分を無視し、②白点虫の鰓弁1枚への寄生数を5個体、③寄生魚数を生残魚は計算に入れず、死亡魚のみとかなり低めに見積もり、④シストの分布面積を湾の半分と広く見積もっても、白点虫が大量発生する場合は採泥器でシストを回収できる可能性はあると考えた。

8月2日から11月24日までの間に図1に示した野見湾の5定点でエクマンバージ採泥器を用いて7回の採泥調査を行った。各定点で毎回3回採泥を行い、表層の泥のみを集め、1ロットとした。持ち帰った泥は定点ごとに2mmメッシュの篩いで漉して大型のゴミを除き、残った泥を25ミクロンメッシュで漉してシルト分を除いた。回収分を200L水槽に入れ、濾過海水を注入し、水量100Lとしてエアレーションを行った。感染仔虫が遊出する前、やや余裕を見て、5日目に各水槽にマダイ稚魚を6～8尾収容し、その後、2、3日ごとに、各水槽からマダイ稚魚を取上げ、鰓への白点虫の寄生確認を行った。確認手法は実験Iと同様であるが、マダイが小さいので左右の鰓弁8枚全てで確認を行った。

なお、飼育は白点虫の仔虫、シスト等の流失を防ぐため、換水は行わず、止水条件でエアレーションのみで行った。

## 結果

鰓への白点虫の寄生確認により間接的に泥中のシストの存在確認を行った結果を表2に示した。7回の採泥調査のうち9月19日、10月5日及び10月23日の3回の調査で採取した泥からマダイへの寄生が確認できた。

表2 水槽飼育試験におけるマダイへの白点虫寄生状況

採泥月日	寄生確認日	採泥からの日	寄生白点虫個体数					尾叉長 : cm	魚体重 : g	備考
			st. 1	st. 2	st. 3	st. 4	st. 5			
8月2日	8月9日	7日	0	0	0	0	0	9.0~11.5	16.5~34.2	
	8月11日	9日	0	0	0	0	0	9.1~11.2	16.5~31.2	
	8月13日	11日	0	0	0	0	0	9.2~12.2	16.0~38.2	
	8月15日	13日	0	0	0	0	0	9.6~10.9	18.0~27.7	
8月22日	8月29日	7日	0	0	0	0	0	10.7~12.4	26.4~42.9	
	8月31日	9日	0	0	0	0	0	10.9~13.3	29.2~50.1	
	9月2日	11日	0	0	0	0	0	11.0~13.1	28.2~49.7	
	9月4日	13日	0	0	0	0	0	11.4~12.8	26.3~45.5	
9月4日	9月12日	8日	0	0	0	0	0	10.8~12.5	29.0~48.8	* 1
	9月15日	11日	0	0	0	0	0	11.6~12.1	36.7~41.4	
	9月18日	14日	0	0	0	0	0	10.8~13.0	36.7~55.8	
9月19日	9月26日	7日	0	0	0	0	0	12.4~14.4	49.9~69.4	* 2
	9月29日	10日	0	0	0	0	0	12.0~13.7	40.9~62.9	
	10月2日	13日	0	0	2	0	0	11.5~12.8	34.0~48.2	
10月5日	10月13日	8日	0	0	0	0	0	12.7~14.6	46.3~73.6	
	10月16日	11日	0	0	0	0	0	13.4~14.6	53.6~71.5	
	10月19日	14日	0	8	2	2	9	13.2~14.7	49.0~70.7	
10月23日	10月31日	8日	2	3	6	0	0	13.7~16.4	60.9~100.5	
	11月3日	11日	2	4	1	0	0	13.0~14.3	46.5~61.6	
	11月6日	14日	0	0	0	1	0	14.3~16.6	66.2~81.4	
11月24日	12月2日	8日	0	0	0	0	0	13.7~17.6	59.7~116.3	
	12月5日	11日	0	0	0	0	0	13.7~16.8	54.8~110.9	
	12月8日	14日	0	0	0	0	0	15.6~16.6	83.3~103.3	

\* 1 : 9月9日夜、落雷・停電のためst. 1~4で5尾ずつ、st. 5は4尾死亡、12日は各区1尾ずつ検査、残りのマダイ稚魚は取上げ、各区に3尾ずつ再投入した。

\* 2 : 9月25日、st. 5でエアレーション不足のため全数死亡、26日に6尾再投入。

### 考察

本試験により本研究の目的のひとつである底泥中における白点虫シストの存在を間接的にはあるが確認できた。これまで天然海域の海底から白点虫のシストは確認されていないことから、このことは白点虫研究と白点病発生予測のための前進と考えられる。

### 試験Ⅲ 白点虫寄生マダイからの白点虫シスト回収と継代の試み

#### 目的

今後の種々の実験に利用するための白点虫株を確保する目的で寄生マダイからの白点虫シストの回収と継代を試みた。

#### 材料と方法

試験Ⅱにおいて10月5日に野見湾で採取し、10月19日の寄生確認で寄生数が多いと考えられたSt. 2とSt. 5の残りの供試マダイ稚魚3尾ずつ、計6尾を別の200L水槽（底面79.5×56cm：水量100L）に収容した。10月24日に水槽からマダイを取り除き、水槽の底に付着していたシスト（WILD）を素手でこすり落として、25ミクロンメッシュのプランクトンネットで回収し、300mLサンプル瓶2本に室温で保管した。白点虫を継代するため10月25日に、前日回収したシストのうち約60個を実体顕微鏡下で計数し、マダイ稚魚5尾と共に200L水槽（水量100L）

に収容した。シスト（F 1）の出現状況の確認は27日から毎日、水槽にガラスシャーレ1枚（直径8.5cm）を沈め、翌日朝に取上げ、シストの付着状況をチェックした。シストの付着状況を確認後、11月2日に前述の方法でシスト（F 1）を回収した。回収したシストは20mLのサンプル瓶2本に保管した。

11月3日に10月25日と同様に、前日回収したシストのうち116個とマダイ稚魚4尾を200L水槽（水量100L）に収容した。シストの出現状況を確認するため、前回同様に11月5日から毎日、水槽にガラスシャーレを沈め、翌日朝に取上げ、シスト（F 2）の付着状況をチェックした。チェックは11月14日まで行った。

なお、試験Ⅱと同様、飼育は白点虫の仔虫、シスト等の流失を防ぐため、換水は行わず、止水条件でエアレーションのみで行った。

## 結果

シャーレへのシスト（F 1）の付着は10月30日に59個、11月1日に131個、2日に38個、3日に26個確認された。このことから11月2日に水槽から回収されたシスト（F 1）は約19,700個と推定された。

11月6日以降、シャーレへのシスト（F 2）の付着状況をチェックしたが、シストは確認できず、継代は短期で失敗した。

## 考察

1回目に保管したシスト（WILD株）は相当量のゴミがあったため、300mLのサンプル瓶2本に保管した。しかし、2回目に保管した際はシスト（F 1）の数が多かったが、ゴミが少なかったため、20mLサンプル瓶2本に保管した。1、2回目の保管は両者とも一昼夜であったが、1回目と比べ、2回目の保管は容器が小さかった。そのためか、11月3日にサンプル瓶の蓋を開けた時に、かすかに硫化水素臭がしたが、このことが継代に失敗した原因かもしれない。

## 試験Ⅳ 死亡した白点虫寄生養殖カンパチからのシスト回収と継代の試み

### 目的

白点虫に寄生された死亡魚からの白点虫シストの回収が可能かどうかを確認し、回収が可能なら今後の種々の実験に利用するための白点虫株を確保・継代を試みた。

### 材料と方法

10月13日に野見湾の図1のst. 2直近の小割から死亡、及び瀕死のカンパチの魚病診断依頼があり、鰓への白点虫の大量寄生を確認した。診断時にカンパチの鰓の中の白点虫は生きており、サイズも何段階かのものが見られたことから、シストが回収できる可能性が考えられた。

そこで、診断依頼で持ち込まれたこれらのカンパチ4尾から切り取った鰓を5mm程度の目合のネットに包み、500L水槽（水量200L）中に吊し、止水で弱いエアレーションをかけ一晩放置した。翌14日朝、鰓を入れたネットを取り出し、エアレーションを止めた。10月16日に水槽中の沈殿物を25ミクロンメッシュのネットで濾過回収し、実体顕微鏡で観察したが、ゴミが非常に多く、シストらしきものは1個体しか確認できなかった。

回収物は300mLのサンプル瓶に一昼夜保管（1回目）し、17日に円形1 t F R P水槽（底面

## 白点虫予測のためのモニタリング

積：12,800cm<sup>2</sup>) に回収物とカンパチ稚魚4尾を収容した。21日にカンパチ稚魚1尾を取上げ、左鰓弁4枚の寄生状況を検査したが、白点虫1個体(F1)を確認したのみであった。そこで白点虫の寄生サイクルをもう一回転させ、再寄生により寄生数の増加を図った。本試験は試験Ⅱ、Ⅲと異なり、水深の深い水槽で行ったため、シスト確認をシャーレで行うかわりに、グレーの不透明の塩ビ板でシスト付着板(10cm×10cm)を作成した。この付着板を10月31日及び11月1日に水槽の底に沈め、それぞれ、翌朝にシストの付着状況をチェックした。

試験Ⅲに述べた方法で、11月2日に1t水槽からシスト(F2)を回収し、100mLのサンプル瓶1本に保管(2回目)した。

回収したシスト(F2)のうち119個とカンパチ稚魚2尾を11月3日に1t水槽に収容した。シストの出現状況を確認するため、11月9日及び10日に水槽に付着板を沈め、おのおの翌日朝にシストの付着状況をチェックした。

なお、試験Ⅱ、Ⅲと同様、飼育は白点虫の仔虫、シスト等の流失を防ぐため、換水は行わず、止水条件でエアレーションのみで行った。

## 結果

付着板へのシスト(F2)の付着は11月1日に84個、2日に4個確認された。このことから11月2日に水槽から回収されたシスト(F2)は約11,200個と推定された。

11月10日及び11日に付着板へのシスト(F3)の付着状況をチェックしたが、シストは確認できず、継代は短期で失敗した。

## 考察

1回目の10月16日に保管したシスト(WILD株)は相当量のゴミが混ざったため、ゴミと共に300mLのサンプル瓶に保管した。しかし、2回目の11月2日に保管した際、シスト(F2)の数は多かったが、ゴミが少なかったため、100mLサンプル瓶に保管した。これらのシストは1、2回目の継代試験にそれぞれ用いて、保管期間が一昼夜と短かった1回目は成功したが、保管期間が3日間と長かった2回目は失敗した。2回目に保管したシストについては11月5日にサンプル瓶の蓋を開けた時に、かすかに硫化水素臭がした。保管期間が長くなり、硫化水素が発生し、このことが継代に失敗した原因と思われた。試験Ⅲ、Ⅳで同様のことが起こっており、このことから白点虫シストは低酸素には強いが、硫化水素には弱いことが推察された。

継代には失敗したが、死亡魚、又は瀕死魚からでも白点虫シストが回収できる可能性があることを確認できたことは大きな収穫であった。

## 参考文献

- 1) 高水温及び溶存酸素濃度が海産白点虫 *Cryptocaryon irritans* の発達に及ぼす影響；良永知義；魚病研究，36(4)，231-224(2001)
- 2) 白点病(淡水・海水)；小川和夫；魚介類の感染症(江草周三監修、若林久嗣・室賀清邦編集；恒星社厚生閣)，295-303(2004)