

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

増養殖環境課 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困難や鰓及び皮膚の浸透圧調整に障害を起こし、魚が死亡することもある魚病である。本疾病は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

野見湾の特定のマダイ養殖小割を定点として（図1）、平成19年9月12日から11月29日までに5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し、氷冷した生理食塩水または冷却濾過海水（25 μ メッシュで濾過した海水）へ浸漬した。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、又は濾過海水をマウントし、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、鰓弓全てを検査するには長時間を要したため、検査は鰓の左側のみとした。

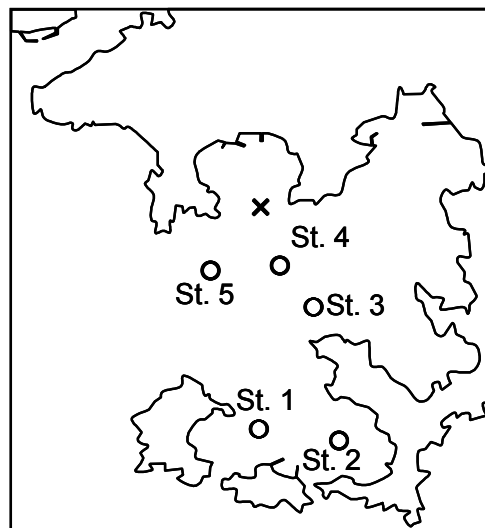


図1 野見湾白点虫調査定点
 ×：マダイサンプリング定点
 ○：採泥及び白点虫付着板定点

結果

結果を表1に示した。5回のモニタリングで10月24日にマダイ3尾で白点虫合計6個体と11月29日にマダイ1尾で白点虫1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)
9	12	8	0		14.8 ~ 18.9	67 ~ 132
10	3	8	0		15.3 ~ 18.5	74 ~ 120
10	24	8	3	6	15.7 ~ 17.4	83 ~ 111
11	7	8	0		16.1 ~ 19.2	97 ~ 175
11	29	6	1	1	17.3 ~ 19.2	122 ~ 153

考察

平成18年度の本調査結果では野見湾において白点虫は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¹⁾。平成19年度の結果からは10月下旬から11月下旬まで寄生が確認され、また、10月下旬に寄生強度が高くなるようにみえた。

野見湾では平成19年度にマダイで養殖業者からの依頼で行った鰓への寄生状況調査から10月上旬から11月上旬まで白点虫の寄生が確認されたが、その後は確認されず、白点病による被害は見られなかった。また、カンパチでは図1のSt. 2の漁場で10月末に0才魚の死亡魚から白点虫が検出され、11月中、下旬にst. 1の漁場で異常行動の見られた小割の魚からかなりの寄生が確認された。また、11月末には沖合の別の漁場からの魚病診断の依頼魚から若干の寄生が確認されたが、魚病被害としては確認されなかった。

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海底への酸素供給が関連している可能性が示されている²⁾。

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における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

平成18年度は図1に示した野見湾の5定点で採泥を行ったが¹⁾、平成19年度は9月4日から11月30日までの間にSt. 2、St. 3の2定点でエクスマンバージ採泥器を用いて5回の採泥調査を行った。調査ごとに各定点で3回採泥を行い、表層の泥のみを集め、1ロットとした。25 μ メッシュのプランクトンネットを破らないため、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 μ メッシュで漉してシルト分を除いた。平成18年度は大型ゴミを捨てていたが、平成19年度は大型ゴミにシストが付着している可能性が考えられ

た。そこで、25 μ メッシュで漉した残留物に加えて大型ゴミも200L水槽に入れ、濾過海水を注入し、水量100Lとした。5日目に各水槽にマダイ稚魚を7尾収容し、その後、2、3日ごとに、各水槽からマダイ稚魚を1尾ずつ取上げ、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、使用したマダイが小さいため左右の鰓弁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、水温は自然条件とした。

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。5回の調査のうち9月21日採泥分ではSt.2、St.3で、11月8日採泥分ではSt.3でマダイへの白点虫の寄生が確認できた。

表2 採泥サンプルの水槽試験におけるマダイ白点虫寄生状況

採泥日 月 日	寄生 確認日 月 日	採泥 からの 日数	寄生白点虫 個体数		尾叉長 (cm)	魚体重 (g)	水温 ($^{\circ}$ C)	備考
			St.2	St.3				
9 4	9 9	5	0	0				
	9 11	7	0	0				
	9 13	9	0	0	9.8~	19.9~	27.1~	
	9 15	11	0	0	10.9	29.7	29.8	
	9 17	13	0	0				
9 21	9 26	5	0	0				
	9 28	7	0	2	10.5~	34.0~	25.6~	
	9 30	9	1	1	13.3	58.4	27.9	
	10 2	11	0	65				
	10 4	13	0	360				
10 18	10 25	7	0	0	13.7~	64.8~	21.0~	
	10 28	10	0	0	15.4	87.1	23.1	
	10 31	13	0	0				
11 8	11 15	7	0	0	15.4~	96.3~	15.3~	
	11 18	10	0	3	18.3	148.9	21.3	
	11 21	13	0	4				
11 30	12 7	7	0	0	15.4~	83.1~	21.7~	
	12 10	10	0	0	17.2	122.3	22.5	
	12 14	14	0	0				

考察

本試験により平成18年度同様、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で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 シスト付着板を用いた白点虫シスト検出方法の検討

目的

採泥した底泥からの白点虫のシスト検出を直接行うには泥等の量が多すぎてほぼ不可能と考えられる。そこで水槽実験で用いたシスト付着板やガラスシャーレからヒントを得て、プラスチック等の板を海底に沈め、白点虫のシストを付着させてから回収することを考えた。回収した付着板からのシストの直接検出が最終目的であるが、平成19年度は養殖場での付着板によるシストの回収が可能かどうかを確認する。

材料と方法

平成19年度はSt. 2、3、4の海底に透明の亚克力板（縦54.0cm×横73.0cm×厚さ0.1cm）を設置して、二つの実験をおこなった。実験1は短期設置試験とし、9月4日に設置した亚克力板を9月21日に、9月21日に設置したものを10月18日に、10月18日に設置したものを11月8日に、11月8日に設置したものを11月30日に取り上げた。サンプリングは取り上げた亚克力板表面の付着物に海水を掛けながら手でこすり落とし、2Lのサンプル瓶に入れ持ち帰った。持ち帰ったサンプル瓶の上澄みを捨て、沈殿物を500mlのサンプル瓶に移し、200L水槽（濾過海水100L）に入れ、エアレーションを行った。

実験2は長期設置試験とし、9月4日に各定点に予備も含め亚克力板を6枚設置し、9月21日（短期試験と共通）、10月18日、11月8日、11月30日に1枚ずつ取り上げ、実験1と同じ方法で付着物を採取、持ち帰り、実験1と同様に処理した。

白点虫の確認は試験Ⅱと同様に、短期設置試験では3日目に、長期設置試験では5日目に各水槽にマダイ稚魚を7尾収容し、2、3日に1回、鰓への白点虫の寄生状況を確認した。

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

鰓への白点虫の寄生確認により間接的に付着板上のシストの存在確認を行った短期設置試験の結果を表3に、長期設置試験の結果を表4に示した。短期設置試験ではSt. 3で10月18日取上分の付着板がロープの切断で回収できず、長期設置試験ではSt. 2とSt. 4で11月8日と11月30日取上分のロープが絡まったために付着板が回収できなかった。

短期設置試験での付着板におけるシストは9月21日取上分では3定点すべてで、10月18日取上分では付着板が回収できなかったSt. 3を除き、2定点で、11月8日取上分ではSt. 4で確認された。また、長期設置試験では10月18日取上分のSt. 3でシストの付着が確認された。

考察

試験Ⅲのシスト付着板方式では試験Ⅱの採泥法と同様に養殖漁場の海底からシストを回収できることが確認された。低酸素状態でシストが休眠に入ることにより、沈降してきたシストが付着板上に蓄積されることを期待して長期設置試験を設定したが、St. 2、4で係留用のポリロープが絡まり、実験途中で付着板が回収できなかった。St. 3のみの結果ではあるが、10月18日の回収日から13日目に2個体の寄生が確認されており、休眠シストからの仔虫が寄生したものと考えられる。

今回の結果からは採泥法と付着板方式とも同じ時期に同じ定点で、同じ程度にシストが検出された。しかし、海底からのシストの回収方法として、両者には、下記のとおり、それぞれに長所および短所があるため、優劣はつけられなかった。

採泥法はいつでもどこでも実施できるが、人手と体力が必要で、採取した泥の量が多く、事後処理にも手間がかかり、処理後のサンプル量も多いことから、シストの直接検出には不向きと考えられる。一方、付着板方式は事前に設置作業が必要で、設置した場所でしか実施できない。しかし、設置、回収作業、事後処理も簡単であり、人手もかからない。今回は時間的な余裕がなく行わなかったが、付着板方式のほうが採取したサンプルの量も少なく、今後、シストの直接検出を行う場合は有効と考えられる。

付着板方式ではポリロープの切断や、ロープの絡まりにより付着板が回収できない例があり、

付着板の設置方法には改善が必要である。

今後は試験目的により採泥法と付着板方式を使い分けることが可能で、研究を進める上で選択肢が増えたと考えられる。

表3 シスト付着板短期設置試験サンプルの水槽試験におけるマダイへの白点虫寄生状況

付着板 取上 月 日	寄生 確認 月 日	採泥 からの 日数	寄生白点虫 個体数			尾叉長 (cm)	魚体重 (g)	水温 (°C)	備考
			St.2	St.3	St.4				
9 21	9 26	5	0	1	0				
	9 28	7	0	0	0	11.3	35.4	25.5	St.3の水槽で 10月2日に1 尾、4日に2尾 死亡
	9 30	9	2	0	0	~	~	~	
	10 2	11	1	63	1	12.6	54.6	27.6	
	10 4	13	2	20	0				
10 18	10 23	5	0	—	0	13.4	55.0	20.6	St.3はポリロー プ切断のため、 付着板流失
	10 26	8	0	—	0	~	~	~	
	10 29	11	1	—	1	15.3	91.9	23.3	
11 8	11 13	5	0	0	1	14.1	72.1	15.8	
	11 16	8	0	0	2	~	~	~	
	11 19	11	0	0	7	16.5	113.8	21.3	
11 30	12 5	5	0	0	0	14.2	63.5	21.6	
	12 8	8	0	0	0	~	~	~	
	12 11	11	0	0	0	16.7	110.1	22.6	

表4 シスト付着板長期設置試験サンプルの水槽試験におけるマダイへの白点虫寄生状況

付着板 取上 月 日	寄生 確認 月 日	採泥 からの 日数	寄生白点虫 個体数			尾叉長 (cm)	魚体重 (g)	水温 (°C)	備考
			St.2	St.3	St.4				
9 21	9 26	5	0	1	0				
	9 28	7	0	0	0	11.3	35.4	25.5	短期試験と共 通(再掲)
	9 30	9	2	0	0	~	~	~	
	10 2	11	1	63	1	12.6	54.6	27.6	
	10 4	13	2	20	0				
10 18	10 25	7	0	0	0	13.4	61.3	20.1	
	10 28	10	0	0	0	~	~	~	
	10 31	13	0	2	0	15.2	92.6	23.0	
11 8	11 15	7	—	0	—	15.5	83.7	15.5	
	11 18	10	—	0	—	~	~	~	
	11 21	13	—	0	—	15.7	88.0	21.1	St.2とSt.4は ロープが絡ま り、調査不能
11 30	12 7	7	—	0	—	15.1	74.1	21.2	
	12 10	10	—	0	—	~	~	~	
	12 14	14	—	0	—	16.6	110.0	22.7	

試験Ⅳ 白点虫寄生マダイからの白点虫シスト回収と継代試験

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マダイに寄生した白点虫からのシストの回収と継代を試みた。

材料と方法

①浦ノ内株

白点虫予測のためのモニタリング

水産試験場の屋内水槽で7月に別の試験用に流水飼育中のマダイ稚魚で白点虫の寄生が確認されたことから、7月5日にマダイ3尾を0.2 t水槽（底面79.5 cm×56.0 cm：濾過海水100 L）に収容し、白点虫回収用シャーレ（φ8.5 cm）を1個水槽に投入し、翌日から毎日、シストの付着の有無を確認し、付着があれば個数を数えた。シストの付着を確認した日から毎日、回収用シャーレを1枚ずつ投入し、毎日、シストの付着数を数えた。投入したシャーレはその水槽での実験が終了するまで水槽に残し、回収用シャーレの投入はシストの付着がなくなるまで毎日投入を続けた。

シストの付着を確認したシャーレを適宜選び、別の0.2 t水槽（濾過海水100 L）にマダイ稚魚と共に収容した。収容したシャーレを毎日観察し、シストの一部が空になり、仔虫が浮出したことを確認してから、回収用シャーレを1枚投入し、翌日から毎日、シストの付着の有無を確認した。その後は前述の方法を繰り返すことで白点虫の継代を行った。

12月中旬からは最初に回収用シャーレを1枚投入し、毎日、シストの付着の有無を確認した。そして、付着を確認した日にそのシャーレを別途保管した。このため、その日から毎日2、3枚のシャーレを投入し、翌日にシストの付着数を数えて別途保管する方法に変更した。シャーレの投入はシストの付着がなくなるまで毎日行った。

但し、シャーレに付着するシストが少ない場合は、水槽とマダイをそのまま継続飼育し、水槽の底に付着したシストを利用し、もう一世代ないし、二世代の世代交代を行うことで継代を行った。

なお、この試験も基本的には止水でエアレーションのみとしたが、試験Ⅱ、Ⅲと異なり、飼育の長期化による水質悪化や、白点虫の大量寄生による実験魚の死亡、腐敗等の問題が発生したことから、適宜、濾過海水を使用して部分換水を行った。ただし、白点虫の仔虫、シスト等の流失を防ぐため、昼間に水槽の中層からの部分換水とし、換水量は40%とした。

試験は平成19年7月5日から20年3月31日まで行い、期間中に水温が低下したため、12月17日から22℃を目標に加温を行った。

②野見株

試験Ⅱにおいて9月21日に野見湾で採泥し、10月2日と4日の寄生確認で寄生数が多かったst. 3の採泥試験用200 L水槽（濾過海水100 L）に2日から毎日回収用シャーレを1個ずつ投入した。シストは3日に80個、4日に300個の付着が見られた。シストが300個付着したシャーレを5日にマダイ稚魚6尾と共に200 L水槽（濾過海水100 L）に収容した。その後は①浦ノ内株と同様に継代し、飼育条件は同じとした。試験は平成19年10月5日から20年3月31日まで行い、期間中に水温が低下したため、11月23日から22℃を目標に加温を行った。

結果

試験期間中に浦ノ内株については27世代、野見株については15世代の継代に成功した。

回収用シャーレにシストが付着した日からそのシャーレのシストが仔虫となり、マダイに寄生し、次のシストが回収用シャーレに付着した初日までの日数をライフサイクルとして、浦ノ内株の結果を図2に、野見株の結果を図3に示した。なお、この結果には加温開始後に継代に使用した別途保管のシャーレの保管水温が不明のため、加温開始以降のデータを削除した。

浦ノ内株では15℃では18日、20℃では5から10日、25℃では5から8日、30℃では4から5日と、水温が高くなるほどライフサイクルが短くなる傾向が見られた。野見株でもデータが少ないが同様の傾向が見られた。

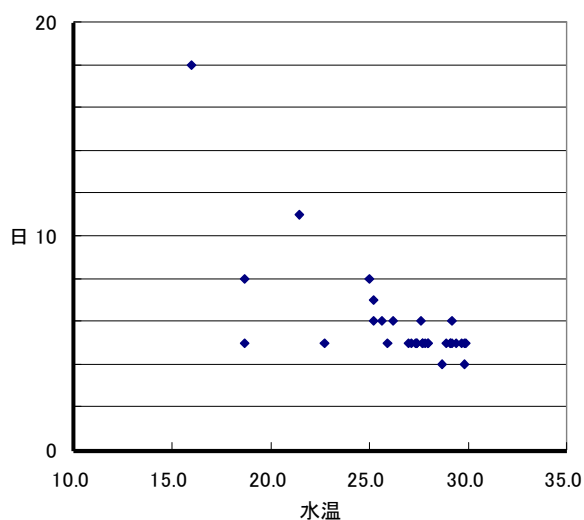


図2 水温とライフサイクルの関係
(浦ノ内株)

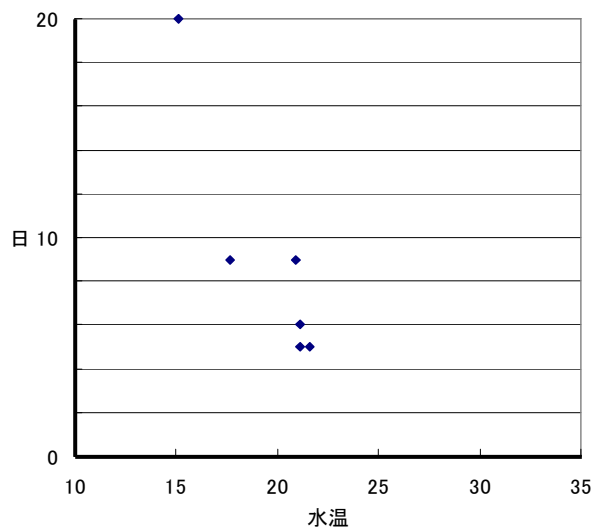


図3 水温とライフサイクルの関係
(野見株)

考察

平成18年度の試験では小さい容器にシストを大量に入れて密閉保管したが、シストは全滅した。19年度はシストをシャーレに付着させたまま、別の水槽で保管することで長期継代ができた。これにより、白点虫の継代が可能になったことから、白点虫に関する種々の水槽実験ができるようになった。

試験Ⅴ マダイから回収した白点虫シストの他魚種への寄生試験

目的

今後の白点虫対策を考える基礎として、マダイから回収した白点虫のシストが他魚種にも寄生するのかを確認するために本試験を行った。

材料と方法

①浦ノ内株

試験Ⅳで1月12日に回収したシャーレ2個の浦ノ内株のシスト合計241個を1月15日に円形1 t FRP水槽（底面積：12,800 cm²：水量700 L）に收容し、実験魚としてブリ3尾（FL：37.2～41.0 cm、BW：884～1,024 g）、カンパチ3尾（FL：28.0～30.6 cm、BW：383～517 g）、マダイ5尾（FL：15.7～17.2 cm、BW：83～115 g）を收容した。

ブリについては1月21日、カンパチについては20日、マダイについては20日、21日に各1尾ずつ取上、白点虫の寄生状況について左鰓4枚に寄生した白点虫の数を数えた。

白点虫が寄生する場合、寄生数は魚の鰓と体表の延べ表面積に比例するのか、また、鰓と体表への寄生比率も不明である。また、大きな魚の場合、鰓が大きく鰓全体の白点虫を数えることは物理的に無理があり、さらに、鰓が分厚いため顕微鏡観察では白点虫が見えにくく、見落とす確率が高くなる。そのため鰓の観察のみでは正確な寄生状況が判定できないと考えて、浦ノ内株の試験途中から急遽、シスト回収法で総寄生数を見ることとし、21日にシストの付着していたシャーレ2個を取り除き、残りのカンパチ2尾とマダイ3尾をひとつの0.2 t水槽（底面積：4,452 cm²：水量100 L）に移し、ブリについては1 t水槽に残した。21日から28日まで回収

白点虫予測のためのモニタリング

用シャーレ（底面積：56.7 cm²）を毎日2枚ずつ投入し、翌朝、付着したシストを数えた。

なお、使用海水は濾過海水であった。飼育水温は低水温期であったためヒーターで加温し、22℃前後とした。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。

②野見株

1月16日に回収したシャーレ2個の野見株のシスト合計728個を1月21日に円形1 t FRP水槽（底面積：12,800 cm²：水量700 L）に収容し、実験魚としてブリ3尾（FL：36.9～39.0 cm、BW：838～1,004 g）、カンパチ3尾（FL：28.0～31.2 cm、BW：356～514 g）、マダイ6尾（FL：14.9～17.6 cm、BW：71～114 g）を収容した。

24日にシストの付着していたシャーレ2個を取り除き、カンパチ3尾とマダイ6尾については別々の0.2 t水槽に移し、ブリについては1 t水槽に残した。24日から30日まで回収用シャーレを毎日2枚ずつ投入し、翌朝、付着したシストを数えた。

試験条件は前述と同様とした。

結果

浦ノ内株の寄生個体数については表5-1に、シストの回収個数を表5-2に、野見株のシストの回収個数を表6に示した。

表5-1 白点虫の寄生個体数（浦ノ内6株）

月 日	ブリ	カンパチ	マダイ
1 20		7 (28.0cm:383g)	15 (17.2cm:115g)
1 21	1 (41.0cm:1,024g)		27 (16.6cm:96g)

* 寄生個体数は左側4枚の鰓片の合計

()内は尾叉長:魚体重

表5-2 白点虫シストの回収個数（野見株）

月 日	ブリ		カンパチ	
	シャーレ①	シャーレ②	シャーレ①	シャーレ②
1月25日	17 (3,838)	21 (4,741)	133 (10,443)	54 (4,240)
1月26日	32 (7,224)	27 (6,095)	327 (25,676)	359 (28,188)
1月27日	8 (1,806)	13 (2,935)	33 (2,591)	143 (11,228)
1月28日	1 (226)	0 (0)	13 (1,021)	30 (2,356)
1月29日	2 (451)	1 (226)	29 (2,277)	96 (7,538)
1月30日	0 (0)	0 (0)	26 (2,041)	3 (236)
1月31日	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
①と②の累計 の平均	61(13,770)		623(48,917)	
1尾当りの 推定寄生数	6,885		9,783	
試験魚の平均 尾叉長:魚体重	37.5cm:917g		カンパチ:30.2cm:481g マダイ:16.3cm:91g	

* ()は水槽底面へのシストの推定付着数
寄生指数：寄生数÷(尾叉長)²

表6 白点虫シストの回収個数（野見株）

月 日	ブリ		カンパチ		マダイ	
	シャーレ①	シャーレ②	シャーレ①	シャーレ②	シャーレ①	シャーレ②
1月25日	0 (0)	1 (226)	0 (0)	1 (79)	7 (550)	4 (314)
1月26日	19 (4,289)	19 (4,289)	18 (1,413)	35 (2,748)	234 (18,373)	233 (18,295)
1月27日	255 (57,566)	269 (60,727)	267 (20,964)	577 (45,305)	459 (36,040)	513 (40,280)
1月28日	158 (35,668)	155 (34,991)	89 (6,988)	81 (6,360)	336 (26,382)	248 (19,473)
1月29日	105 (23,704)	109 (24,607)	2 (157)	2 (157)	33 (2,591)	46 (3,612)
1月30日	8 (1,806)	3 (677)	0 (0)	0 (0)	2 (157)	0 (0)
1月31日	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
①と②の累計の平均	551(124,388)		536(42,085)		1,058(83,072)	
1尾当りの推定寄生数	41,462		14,028		13,845	
試験魚の平均尾叉長:魚体重	37.9cm:905g		29.9cm:463g		16.2cm:94g	
寄生指数	29		15		52	

* ()は水槽底面へのシストの推定付着数
寄生指数:寄生数÷(尾叉長)²

浦ノ内株では白点虫の鰓への寄生状況からマダイと比べ、ブリへの寄生は非常に少なく、カンパチでも明らかに少なかった。また、シストの回収状況からもブリでは回収できたシストの数は魚体の大きさを無視してもカンパチ・マダイと比べ少なかった。

野見株ではブリから回収したシストが多く、一尾当たりの推定寄生数もブリで多かった。また、計測はしていないが、顕微鏡観察ではブリ、カンパチから回収したシストはマダイから回収したシストより、サイズが全般的に小さいものが多い、不揃いであった（写真1）。

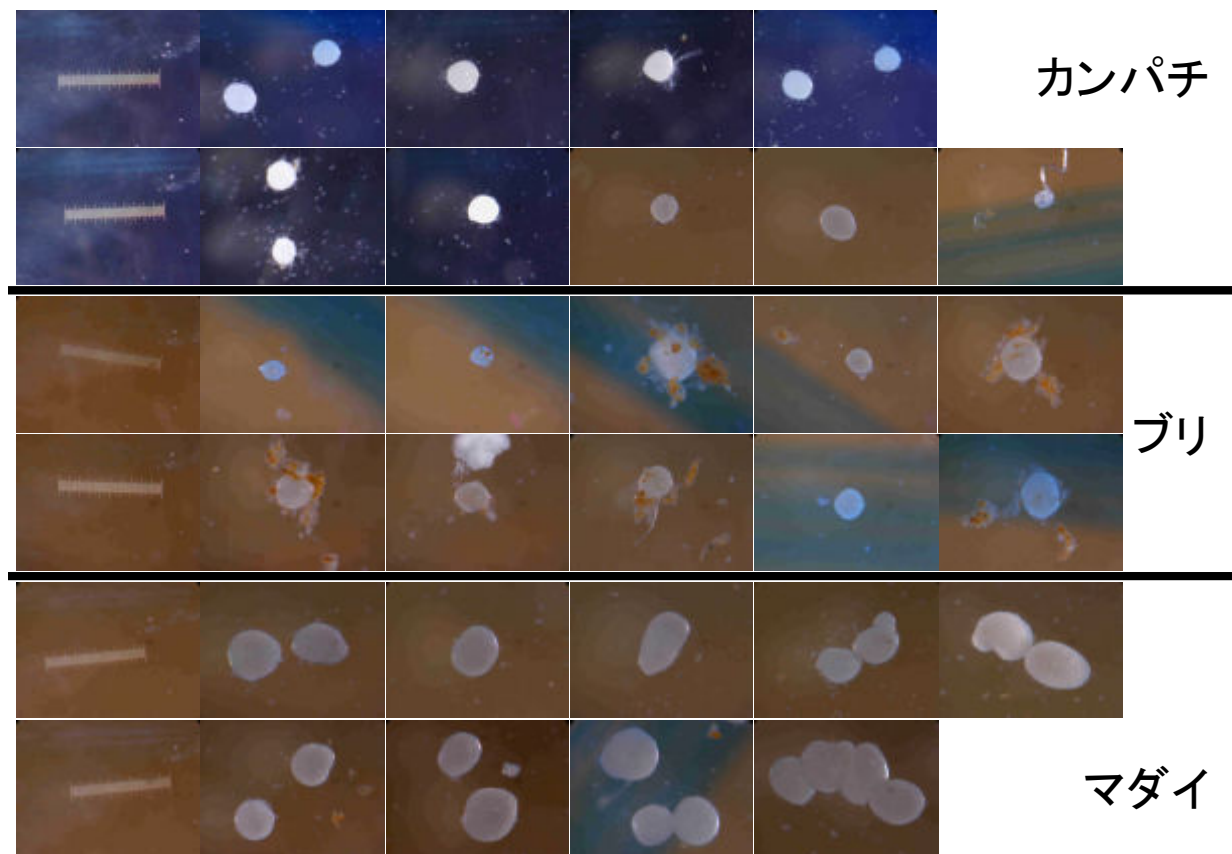


写真1 カンパチ・ブリ・マダイから回収した白点虫シスト

* : 写真左欄のスケール : 1 mm

考察

養殖漁場での今までの白点病発生時に同じ漁場でも被害が一魚種に偏り、他魚種には被害が出ない例がよく見られている。これは白点虫の宿主選択性にある可能性が考えられることから、この試験を実施した。

結果として二つのマダイ由来株がブリ、カンパチにも寄生することは証明された。しかし、浦ノ内株では鰓への寄生数はブリ、カンパチでは明らかにマダイより少なく、回収されたシストの数からもブリでは明らかに少ないことから、ある種の宿主選択性が働いているように思われる。

野見株では一尾当たりの寄生数がブリで多かったが、ブリは尾叉長の平均が37.9 cmと大きく、カンパチは29.9 cm、マダイは16.2 cmということで、単純に白点虫の寄生数を比べても宿主選択性の比較は困難である。そこで寄生数を尾叉長の二乗で割って、寄生指数として比較を試みた。本来、同一魚種で比較をするべきで、別魚種と比較するには、魚種ごとに鰓の総表面積と体表の総面積から割り出した係数を掛るべきであろうが、とりあえず係数をすべて1として比較をした。その結果、マダイは52、ブリは29、カンパチは15となり、ブリはマダイの60%弱、カンパチはマダイの30%弱であった。このことと、ブリ、カンパチから回収したシストのサイズがマダイから回収したシストより全般的に小さく、不揃いであったことと考えるとマダイ由来株にとってはブリ、カンパチは宿主としての適性が低いことが示唆された。

この問題をきちんと証明するためには別のマダイ由来株での再試験と、カンパチ由来株の白点虫で同じ試験をし、比較する必要がある。また、今までの野見湾での例から養殖漁場では被害が一魚種に偏ることから、宿主の数が多い場合には宿主選択性が働き、今回の試験のように水槽内で宿主の数が限られ、選り好みできない場合は宿主選択性が働きにくいということも考えられる。

試験Ⅵ 白点虫シストの温度別保存試験

目的

白点虫の継代を容易にするためのシストの長期保存方法開発のために本試験を実施した。

材料と方法

野見株については1月13日にシストの付着を確認したシャーレ5枚の海水を捨て、各々、濾過海水30m lを注水した。各々のシャーレに蓋をして、さらにシール付きのポリエチレン袋に入れ、25℃、20℃、15℃、10℃、5℃に温度調整したインキュベーターにそれぞれシャーレを1個ずつ収容した。25℃、20℃、15℃についてはシャーレをほぼ毎日、10℃、5℃については数日の間隔を空けて観察し、仔虫が遊出し、シストが空になるのを確認した。

なお、10℃については47日目に生きていると思われるシストは開始時の11%程度となったことから、保存水温を15℃に、50日目に20℃に加温した。

シャーレの保存用海水が減少した場合には適宜、新しい濾過海水30m lと交換した。

浦ノ内株については1月22日にシストの付着を確認したシャーレ5枚を準備し、他は野見株同様に処理した。10℃については39日目に生きていると思われるシストは開始時の64%となっており、保存水温を15℃に、42日目に20℃に加温した。

結果

シストの付着した日を0日としてシストの温度別保存結果を表7に示した。25℃と20℃では

野見株も浦ノ内株も試験Ⅳの継代試験の結果と同じように正常に仔虫が遊出した。15℃では野見株では保存31日目から仔虫の遊出が見られ、インキュベーターの温度コントローラーの誤操作によりサンプルが凍結したため、実験を中止した49日目まで19日間に渡って少数ずつ仔虫の遊出が観察されたが、浦ノ内株では実験を中止した保存41日目でも仔虫の遊出は見られなかった。10℃、5℃では両株とも仔虫の遊出は確認できず、シストの変色、不透明化が観察され、シストの死亡が確認された。また、5℃のほうが10℃よりもシストの死亡が早く進行し、保管日数も短くなった。

表7 白点虫シストの温度別保管結果

水温	野見株			浦の内株		
	シスト数	保管日数	仔虫遊出日	シスト数	保管日数	仔虫遊出日
25℃	184	12日	5～8日	247	7日	4～6日
20℃	121	15日	8～12日	245	10日	6～10日
15℃*	191	49日	31～49日	188	41日	仔虫遊出せず
10℃	137	59日	仔虫遊出せず	151	62日	仔虫遊出せず
5℃	176	26日	仔虫遊出せず	153	36日	仔虫遊出せず

*：野見株の49日目、浦の内株の41日目にインキュベーターの温度コントローラーの誤操作によりサンプルが凍結、この日で15℃の実験中止。

考察

白点虫シストの低温による保存は野見株では15℃で30日程度は可能であるが、浦ノ内株は保存できなかった。継代試験の結果では野見株が平均水温15.1℃で20日程度、浦ノ内株が平均水温16.0℃で18日程度の保存は可能と思われる。今回の結果から15℃以下でのシストの保存は難しいと思われる。

今後、白点虫の研究を行う上で、継代飼育は試験Ⅳにより可能となった。しかし、この方法は人手と時間がかかるため、シストの長期保存方法を考える必要がある。方法としては低酸素状態でのシストの休眠現象を利用する方法が考えられ、保存する海水中の酸素を窒素ガスで置換するか、脱酸素剤を利用して海水中の酸素を除く等が考えられる。

参考文献

- 1) 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；安藤裕章・林芳弘・大河俊之；平成18年度高知県水産試験場事業報告書，104，125-130(2008)
- 2) 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)