

# 白点病のモニタリングと発生予測手法の開発

増養殖環境課

角原美樹雄・渡辺 貢・荻田淑彦

## はじめに

白点病は海産白点虫 *Cryptocaryon irritans* が、海産魚類の鰓、体表、鱗の上皮組織内に寄生することによって発生し、大量寄生を受けた罹病魚では皮膚や鰓の上皮組織が剥離し、浸透圧調整および呼吸が障害を受け、魚が死亡する魚病である<sup>(1,2)</sup>。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、主要な海面養殖場である野見湾で、マダイやカンパチにおいて過去に報告されており、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。

本疾病は白点虫の効果的な駆除方法がないことや、体表に白点が確認できて翌日に死亡することもあれば数週間生きる場合もあり、白点病の診断や養殖現場における防除対策を困難なものにしている。このため、白点病の発生を予測して、少なくとも寄生強度の低い間に危険漁場から良好な環境下に避難し、白点虫の生活環を断ち切ることが大規模な被害を軽減する対策になると考えられる。

本研究では、白点虫寄生状況のモニタリング調査を実施して、白点虫寄生の増減動向や寄生し易い自然環境を把握することで、漁業者に注意喚起できる予測手法を開発するとともに、漁場に存在するシストを観察するなどの直接的な方法で白点病の発生を予測する手法の開発を行った。

平成21年度に行った漁場に存在するシストの採取実験では、魚体感染試験で間接的にシストの存在を確認することができた。しかし、最終的には養殖漁場において養殖業者自らが実践できる簡便な検査方法の開発が必要であることから、各種染色法によってシストを識別する方法を検討した結果、シスト類似の夾雑物が多く、養殖漁場に存在する白点虫シストを直接観察する手法の開発は困難であると判断せざるを得なかった。

本年度は、引き続き白点虫寄生のモニタリングを行うとともに、マダイとカンパチの白点病同居感染実験により、白点虫寄生の魚種特異性を確認した。また、白点病研究の基礎的技術開発として、魚体感染による白点虫の継代を効率良く行うためのシスト保存方法と、脱酸素剤を用いてインキュベーター内でシストを長期間保存する方法について検討した。

## Ⅰ 養殖魚のモニタリング

### 1 目的

野見湾を対象とした養殖魚の検査を継続的に実施することにより、白点病の早期発見と初動体制の構築を図る。

## 2 材料及び方法

本研究では、図1に示した野見湾の養殖区域から、マダイ及びカンパチの0, 1歳魚について、平成22年10月17日から11月25日まで毎日～週1回程度、地元の養殖業者グループの協力を得て、高知県中央漁業指導所を介して継続的なサンプリングを行った。

期間中、調査回数はマダイ9回、カンパチ16回で検査尾数は1回あたり1～10尾であった。サンプリング時の平均魚体重は図2に示したとおり、マダイでは73～1,482g、カンパチでは454～1,920gの範囲にあり、今年度は場所、魚種、大きさを特定しなかったため、結果的にさまざまなサイズのものを検体とすることができた。

サンプル魚は持ち込まれた後、前年度までと同様の方法で検査を行った。まず、両魚種とも左側の最も外側の鰓弁と鰓弓を切り出し、それぞれの一次鰓弁をピンセットで1枚ずつ切り離しながら、30枚以上ずつスライドガラスにマウントした。そしてカバーガラスをかけ、隙間から生理食塩水を充填した後に、生物顕微鏡下（×40～100）で白点虫の寄生状況を観察した。

これまでに実施してきた魚病診断の記録から<sup>(3-8)</sup>、野見湾のカンパチでは*Zeuzapta japonica*の寄生によって引き起こされるエラムシ症との合併症により白点病被害が増大している可能性が指摘されているため、カンパチについては本寄生虫を、マダイでは*Bivagina tai*の有無も併せて調べた。また、定期的に調べている野見湾の環境調査の結果を図3に示した。

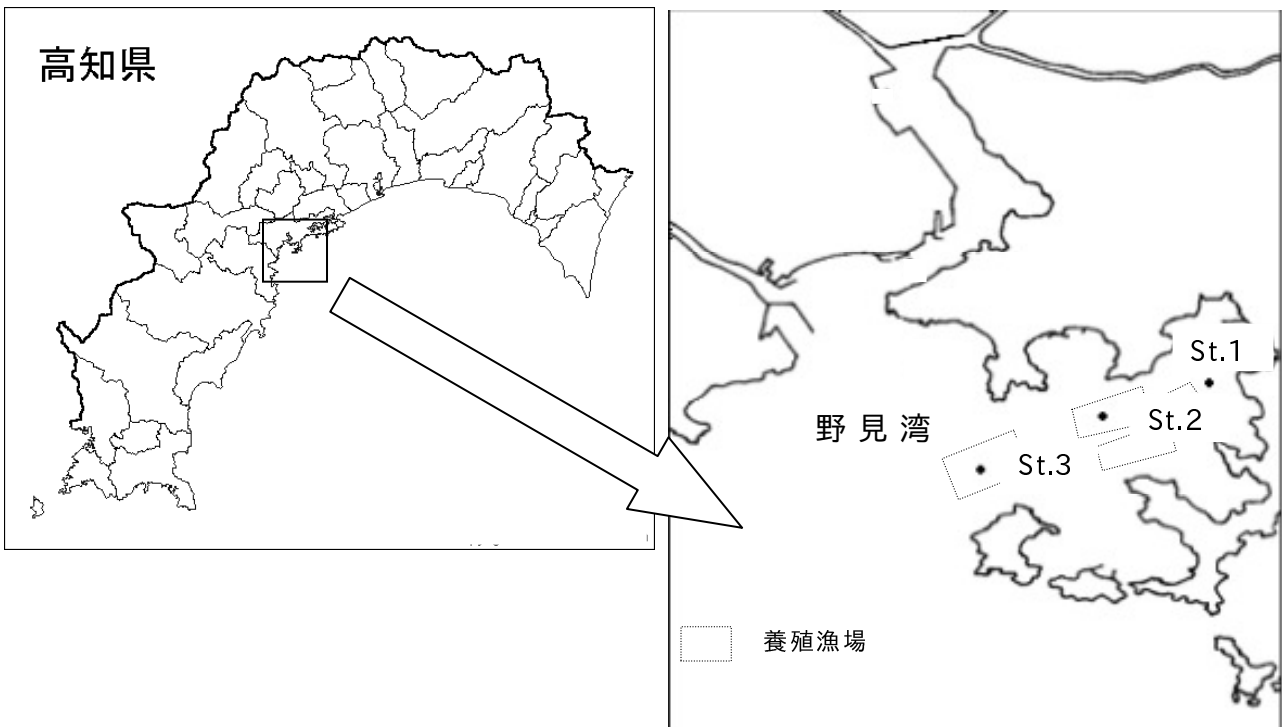


図1 野見湾白点病調査海域

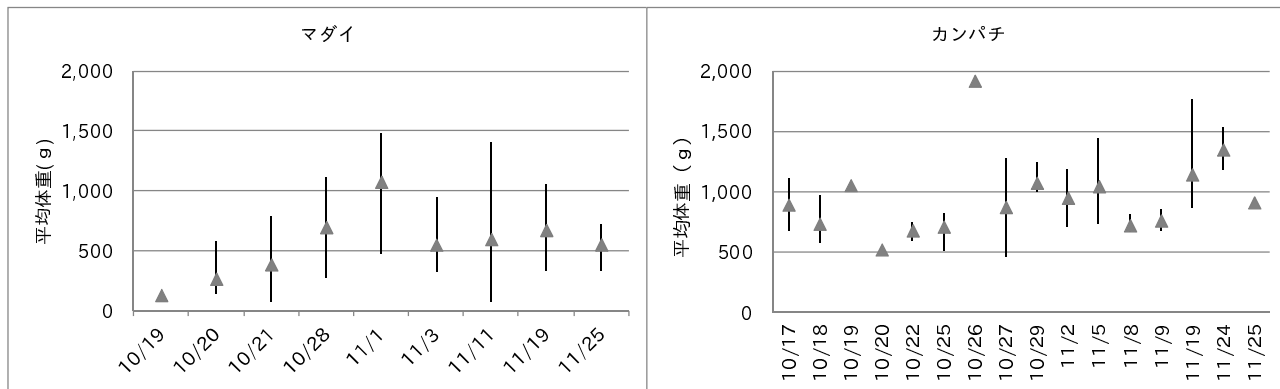


図2 検査魚の平均魚体重の推移 (▲は平均値、線は最大-最小を示す)

### 3 結果及び考察

環境調査の結果では、9月下旬に水温27℃前後であったものが、11月下旬には20～21℃まで下がった。約2週間毎に約1℃下がる傾向にあったが、途中、10月25日と11月9日の調査の間で一気に約3℃下がったのが目立った点であった。場所による差は小さいが、湾奥部は湾口部よりも若干低い傾向であった。観測水深5mと10mでは、ほぼ同じ傾向を示していた。

一方、溶存酸素は水温の変動とは逆に9月29日から11月29日にかけて徐々に上昇していく傾向にあった。ただ、St.1の湾奥部においては9月29日から10月13日にかけて大きく下がった(約1.5mg/l)点が、他の地点とはやや異なった。St.3は湾口部にあり、潮通しもよいことで他の地点よりも全体的にやや高かった。また水深による違いは少なかった。

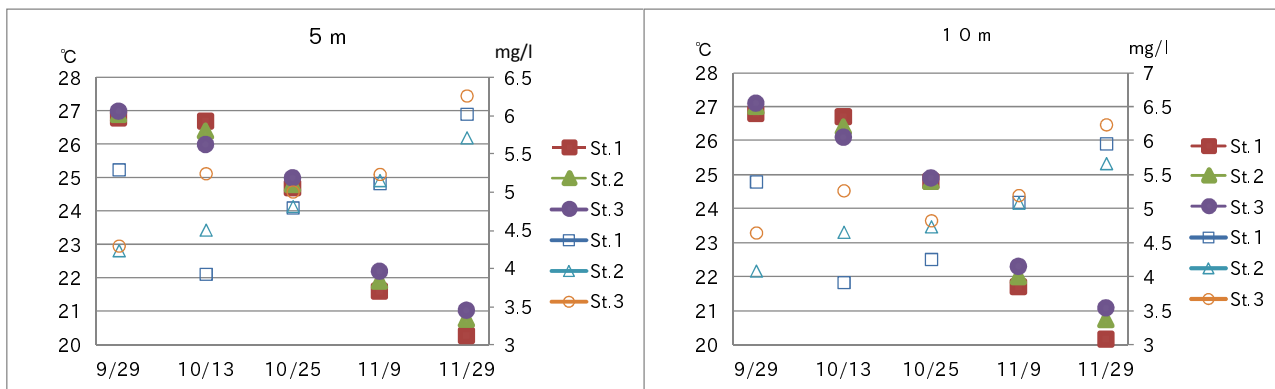


図3 環境調査結果(黒塗り：水温、白抜き：溶存酸素)

マダイにおける白点虫の検査結果を表1に示した。また、図4には白点虫寄生割合の推移をエラムシの寄生とともに図示した。結果は鰓弁60枚あたりにおける白点虫の総寄生数で比較し、併せて魚1尾あたりの最大寄生数等も示した。なお、本年の白点虫の寄生数については、平成21年までと比較するため鰓弁60枚あたりに換算している。

10月19日～11月25日まで計9回の検査の結果、10月20日、28日、11月19日、25日の計4回に亘って白点虫の寄生が確認され、寄生が確認された尾数の割合は11月25日の75%が最高であった。また、魚1尾あたりの寄生数は10月28日の3.8個体が最高であった。期間中は11月

中下旬に3.2~3.4個体と高まったが、それ以外は10月28日を除き0~1.4個体と少なかった。なお、10月21日及び11月3日にはエラムシの寄生が確認されていたが、その確認尾数の割合は最高でも25%未満と低く、その時の白点虫の寄生強度が低かったことから被害は見られずに、マダイにおけるエラムシとの合併症による白点病被害の因果関係ははっきりしなかった。

表1 養殖マダイにおける白点虫の寄生状況

月 日	マダイ						エラムシ
	検査尾数	寄生確認尾数	寄生確認尾数の割合(%)	寄生白点虫の総数*	寄生白点虫数魚1尾あたりの平均*	寄生白点虫数魚1尾あたりの最大寄生数*	寄生確認尾数の割合(%)
10/19	1	0	0	0.0	0.0	0.0	0
10/20	4	1	25	1.4	0.4	1.4	0
10/21	8	0	0	0.0	0.0	0.0	25
10/28	5	3	60	10.9	2.2	3.8	0
11/1	5	0	0	0.0	0.0	0.0	0
11/3	8	0	0	0.0	0.0	0.0	13
11/11	6	0	0	0.0	0.0	0.0	0
11/19	4	2	50	4.3	1.1	3.2	0
11/25	4	3	75	9.3	2.3	3.4	0

\*: 鰓弁60枚あたりに換算した

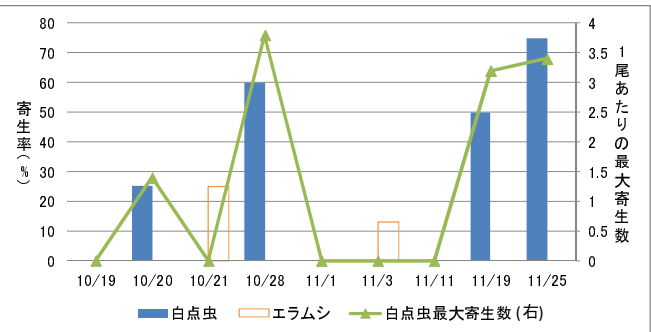


図4 マダイにおける白点虫とエラムシの寄生率と1尾あたりの最大寄生数の推移

カンパチにおける白点虫の検査結果を表2に示した。マダイ同様、結果は鰓弁60枚あたりにおける白点虫の総寄生数で比較し、併せて魚1尾あたりの最大寄生数等も示した（カンパチの鰓弁60枚はカンパチの鰓弁総数の約2.3%に相当する<sup>(9)</sup>）。この検査は、10月17日から11月25日までに計16回実施し、10月17日から11月24日までの計13回に白点虫の寄生が確認された。寄生が確認された尾数の割合はマダイよりも高く、最高は100%であった。寄生が確認されなかったのは10月19日、11月9日、11月25日の3回のみで、魚1尾あたりの最大寄生数は10月27日に144.7個体と最も多く、11月19日までは二桁台が観察されていた（表2）。これから、本年度における白点虫の寄生強度はマダイよりもカンパチで高かったことが推察された。

表2 養殖カンパチにおける白点虫の寄生状況

月 日	カンパチ						エラムシ
	検査尾数	寄生確認尾数	寄生確認尾数の割合(%)	寄生白点虫の総数*	寄生白点虫数魚1尾あたりの平均*	寄生白点虫数魚1尾あたりの最大寄生数*	寄生確認尾数の割合(%)
10/17	10	10	100	538	53.8	84	0
10/18	8	5	63	159.4	19.9	78.8	0
10/19	1	0	0	0.0	0.0	0.0	0
10/20	1	1	100	2.9	2.9	2.9	0
10/22	5	3	60	38	7.6	16	0
10/25	5	4	80	81.4	16.3	27.3	20
10/26	1	1	100	20	20	20	0
10/27	9	7	78	374.6	41.6	144.7	0
10/29	4	4	100	6.7	1.7	1.9	0
11/2	5	5	100	9.5	1.9	3.5	0
11/5	4	4	100	82.6	20.7	42.6	25
11/8	4	4	100	88.1	22	33.8	25
11/9	2	0	0	0.0	0.0	0.0	50
11/19	5	3	60	20.2	4	12	40
11/24	2	2	100	3.2	1.6	1.9	100
11/25	1	0	0	0.0	0.0	0.0	100

\*: 鰓弁60枚あたりに換算した (鰓弁全体の約2.3%に相当)

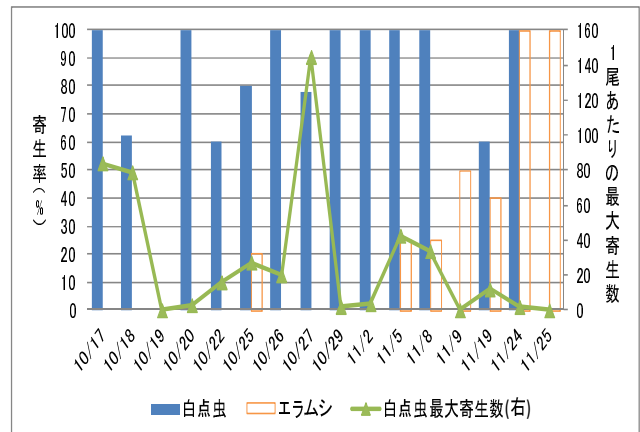


図5 カンパチにおける白点虫とエラムシの寄生率と1尾あたりの最大寄生数の推移

図5にはカンパチにおける、白点虫とエラムシの寄生割合の推移をともに示した。前述のように、カンパチにおける白点虫の寄生尾数は10月中旬の調査開始時から高く、一方エラムシが確認された個体の割合は11月上旬以降次第に高くなったが、それまでは低く白点虫の寄生との相関が見られるとは言い難かった。本研究で対象としたカンパチについては、エラムシ症が白点虫の寄生を助長しているとは断言できなかった。

平成15年度以降に、本場事業報告書に記載されている魚病及び健康診断の結果<sup>(3-8)</sup>を見ると、10月下旬から11月中旬にかけて白点病の診断件数や養殖現場における被害は増加しているが、本年度についても、ほぼ同様の発生状況であったと推察される。図6では平成21年度のデータと比較したが、マダイ、カンパチともに本年度は検査魚1尾あたりの寄生数が多く、特にカンパチでは寄生強度が高かった。なお、この時期には小規模な被害があったものの特に大規模な斃死は発生しなかった。

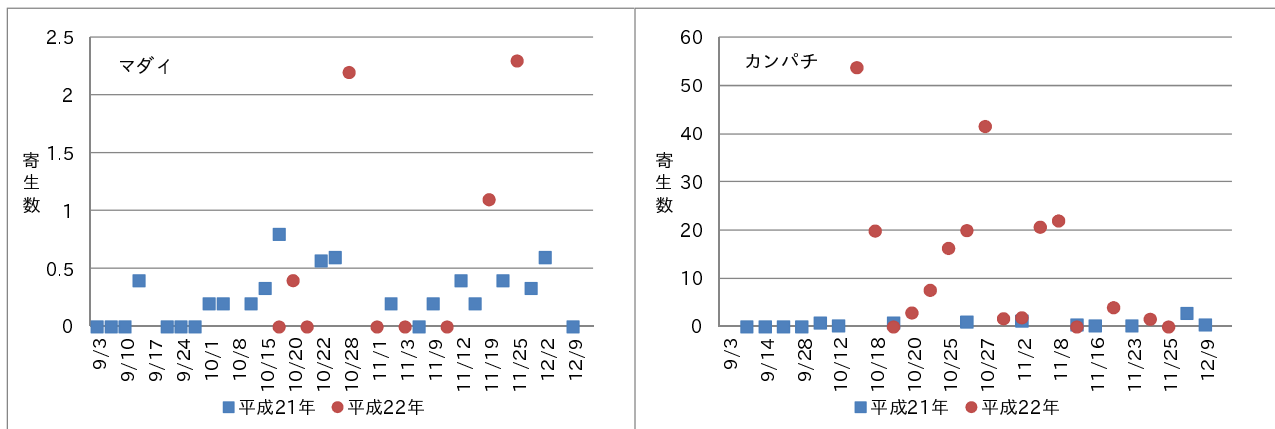


図6 検査尾数1尾（總弁60枚）あたりの白点虫個数の推移

白点虫の大量発生には台風等による海水の攪乱によって、夏期に形成された躍層が崩れ、貧酸素であった底層に溶存酸素濃度の高い水塊が侵入することが大きく影響していると指摘されている<sup>(1,2)</sup>。

本年は台風の発生が少なく、本県に影響を及ぼしたと考えられる台風は10月29日～30日の台風14号だけであった。環境調査の結果から、野見湾では10月中旬頃の溶存酸素は比較的低く、しかも高水温であって白点虫シストの蓄積には好適な環境にあった。そのため、10月下旬に海水の混合によって水温が降下するとともに、底層に酸素が供給されたことが白点虫シストの遊出を促し、マダイ、カンパチに白点虫の寄生が多く見られはじめたのではないかと考えられる。これらの推定を裏付けるため、今後もさらに白点病対応の継続（モニタリング）が重要であると考えられる。

## II 由来別シストの感染状況（同居感染試験）

### 1 目的

室内水槽で事前にマダイあるいはカンパチから回収してシャーレ上に付着した白点虫のシスト（以下「シャーレシスト」という）を用い、マダイ・カンパチの混合飼育水槽内に置いて白点虫に感染させ、魚種による特異性があるのかを調べた。シャーレシストは毎日観察し、シストの遊出がいつから見られるのかにも着目した。

### 2 材料及び方法

室内500 l ダイライト水槽（有効水量400 l）に、供試魚として魚体重が60～100gのマダイと70～100gのカンパチをそれぞれ20尾収容した。飼育海水は25  $\mu$  mメッシュのプランクトンネットで濾過した紫外線殺菌海水（以下「ろ過・殺菌海水」という）とし、エアレーションをして毎日50%量を換水した。水温は冷却により25℃を維持するようにし期間中は無給餌とした。また、白点虫の日周期活動に合わせて明暗を明確にするため、水槽上部にタイマー連動の蛍光灯を設置して5:00～17:00まで点灯した。

実験はマダイ、カンパチ由来シストで2回ずつ実施し、事例1では8月2日～8月4日にかけてマダイから採取し18℃で保存していたシャーレシスト計867個を試験魚と同時に投入した。事例2では8月3日～8月6日にかけてカンパチから採取し18℃で保存していたシャーレシスト計802個を、事例3,4ではいずれも8月14日採取のシャーレシストを投入した。なお、事例1,2では短期間で全滅に至ったため、事例3,4では投入するシスト数を減らした。それぞれシストの付着したシャーレは毎日取り上げて遊出の様子を継続的に観察した。同時に毎日、空のシャーレも追加して翌日にシャーレを取り上げ、新たなシストの付着状況の有無も確認した。

### 3 結果及び考察

結果を表3に示した。早い事例では投入後2日目から白点虫に感染による斃死が始まり、すべての事例で2日目から6日目にかけて斃死が観察された。続いて、11日目から20日目にかけて再び斃死が生じ、最終的には全数が斃死した。この斃死パターンはマダイ、カンパチともどちらに由来したシャーレシストでも同様であった。また、顕微鏡観察ではマダイで観察される栄養体はカンパチで観察される栄養体よりサイズが大きい傾向にあったが、この事実はこれまでの報告<sup>(11)</sup>と整合すると考えられた。

以上の結果から、マダイ、カンパチ由来のシャーレシストは、マダイ、カンパチの相互に感染し、寄生・発症し、同じ程度の被害（斃死）をもたらしたが、魚種の違いによる種特異性は見出せなかった。また、全数斃死に至る期間は、今回水温25℃で11～20日であったが、いずれの事例においてもシャーレシストは投入して4～5日目には遊出し、また6～7日目には空のシャーレに新たなシストの出現を確認できた(図7～9)。なお、事例4以外は11～14日目に全数が斃死しており事例4よりも斃死に至る期間が短かった。これは事例4では最初の投入シスト数が特に少なかったため、シャーレシストからの遊出、及び空のシャーレへのシスト出現

に要する時間は同様であったものの、魚が斃死に至るだけの寄生個体数に達するまでに、シスト～仔虫～栄養体～シストの生活環をもう1サイクル必要としたためではないかと考えられた。

表3 カンパチ・マダイ由来別シスト混合感染、同居感染試験結果一覧

試験回次	1		2		3		4			
シスト由来魚種	マダイ		カンパチ		マダイ		カンパチ			
試験期間	8月6～17日		8月6～19日		8月28日 ～9月11日		8月28日 ～9月17日			
日数(日)	11		13		14		20			
平均水温(℃)	25.3		25.2		25.1		25.1			
供試尾数(尾)	マダイ	20	マダイ	20	マダイ	20	マダイ	20		
	カンパチ	20	カンパチ	20	カンパチ	20	カンパチ	20		
試験に用いたシスト数	867		802		162		68			
試験開始後の日数	斃死状況	魚種	尾数	魚種	尾数	魚種	尾数	魚種	尾数	
	1									
	2	マダイ	1	マダイ	1					
	3									
	4									
	5				カンパチ	1			マダイ	1
	6	マダイ	1							
	7									
	8									
	9									
	10									
	11	マダイ	18							
		カンパチ	20							
	12				マダイ	2				
	13				マダイ	17	カンパチ	2		
					カンパチ	19				
	14						マダイ	20		
							カンパチ	18		
	15									
	16									
17								カンパチ	2	
18								カンパチ	2	
19								マダイ	1	
								カンパチ	2	
20								マダイ	18	
								カンパチ	14	
シャーレシストからの遊出確認	5日目		5日目		4日目		4日目			
魚体から遊離したシストの出現	6日目		6日目		7日目		7日目			

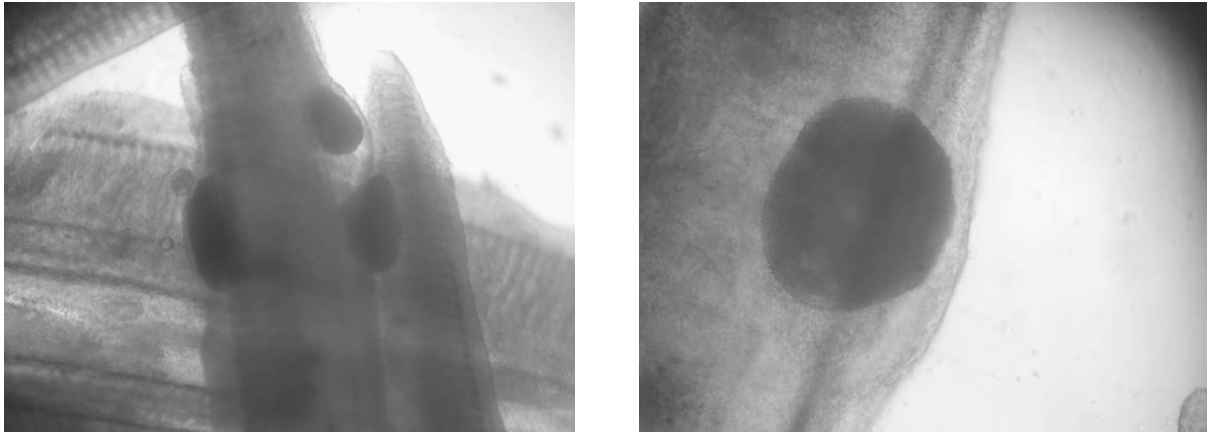


図7 鰓に寄生した栄養体

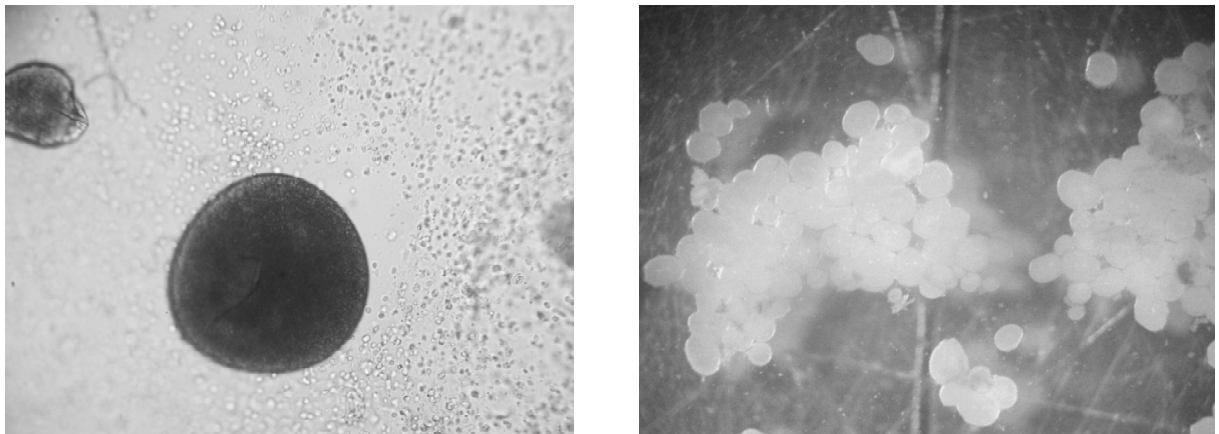


図8 宿主を離脱し（左）新たに付着したシャーレシスト（右）

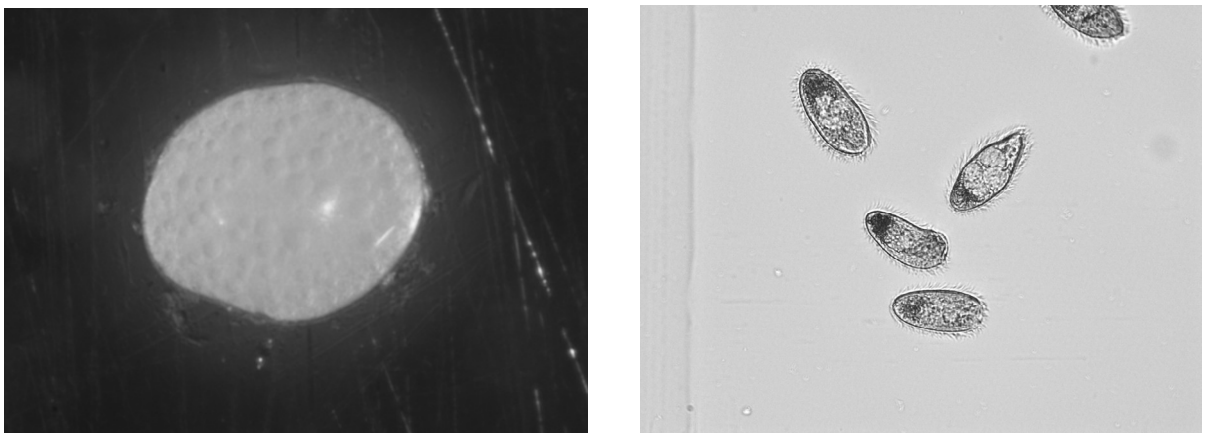


図9 白点虫シストからの遊出状況



### III 白点虫シストの期間別保存試験

#### 1 目的

白点虫の継代を効率良く実施するためどれだけの期間保存できるのか試験した。

#### 2 材料及び方法

平成19年度の野見湾由来の白点虫シストを利用した保存試験では、15℃以上で仔虫の遊出が見られ<sup>(10)</sup>、平成21年度の付着板試験で得られた白点虫を継代培養したものを使用した場合にも、同様に保存温度30℃で3～4日後、25℃で5日後、20℃で5～8日後、15℃では19～47日後に仔虫の遊出が始まった<sup>(11)</sup>。

このように、シストの保存温度が高くなるほど仔虫遊出までの期間が短くなる傾向があり、長期間の保存には不向きとなることが分かっている。そのため、今年度は、仔虫の遊出が見られる一応の下限と思われる15℃<sup>(10)</sup>で保存した場合、シストが再び魚に寄生できるだけの活性が維持される期間の長さについての検討を行った。

試験には、室内水槽でマダイ及びカンパチを使って同魚種で継代培養していたシャーレシストを使用した。シャーレ上に得られたシストを15℃に設定したインキュベーター内に保管し、2～8週間保存した後水槽に戻して、水槽に戻した日を0日として魚への寄生状況を調べた。水槽上部には白点虫の日周期活動に合わせるため、明暗を明確にするためのタイマー連動の蛍光灯を5:00～17:00の間セットした。保存試験中のシャーレ内海水は、15℃に調整したろ過・殺菌海水で2日に1回の間隔で交換した。また、試験期間中は無給餌とし、実験魚が斃死するまでの期間観察した。

#### 3 結果及び考察

カンパチ、マダイともにインキュベーターで15℃、2週間以上保存した後のシャーレシストは、魚の入った水槽に戻すと、いずれもシャーレ上に新しいシストが得られることを確認した。

寄生までの期間は、保存の期間には関係なく、水槽の水温が低いと長くなる傾向が見られ、魚種別にはマダイで4～10日、カンパチで5～11日と大差はなく、両魚種においては同じ出現傾向を示した(表4, 表5)。ただ、保存の期間が長くなるほど、シャーレシストは汚れ、遊出するものが出てきた。そのため、15℃での保存ではシストの発達を止めることはできず、発生の進行を遅らせる程度に過ぎないと考えられた。しかし、シャーレ上に新しいシストが得られたことから、8週間程度であれば活性を維持したまま保存できると考えられた。

魚体を用いた継代飼育は時間や労力を要するため、省力化をはかるには発生の進行は止まらないがきわめて遅い状態を維持する低温か、あるいは低酸素で休眠させるなどの温度の影響を受けない方法を検討していく必要がある。

表4 白点虫シストの保存期間別寄生確認状況  
(マダイ)

保存期間 15℃	開始日	平均水温 (℃)	シャーレシスト 初確認日	日数 (日)
2週間	6月4日	21.2	6月11日	7
2週間	6月25日	24.6	6月30日	5
2週間	7月1日	25.4	7月6日	5
3週間	6月15日	23.4	6月20日	5
3週間	7月6日	25.3	7月11日	5
3週間	7月28日	25.0	8月3日	6
4週間	6月24日	24.5	6月29日	5
4週間	7月10日	25.6	7月15日	5
6週間	7月8日	25.5	7月18日	10
6週間	7月24日	25.2	7月29日	5
8週間	8月9日	25.6	8月13日	4

表5 白点虫シストの保存期間別寄生確認状況  
(カンパチ)

保存期間 15℃	開始日	平均水温 (℃)	シャーレシスト 初確認日	日数 (日)
2週間	4月22日	18.2	4月30日	8
2週間	6月25日	24.6	6月30日	5
3週間	4月28日	18.6	5月8日	10
3週間	7月8日	25.3	7月13日	5
4週間	5月6日	18.9	5月16日	10
4週間	6月21日	23.9	6月26日	5
6週間	7月4日	25.2	7月10日	6
7週間	5月27日	20.3	6月7日	11

## IV 脱酸素剤の有効性の検討

### 1 目的

白点虫の研究を進めるためには、魚体を用いた継代飼育に頼らざるを得ず、多大な時間と労力を要するため、脱酸素剤を利用し白点虫シストを脱酸素状態に置くことで休眠させ、インキュベーター内で、長期間の保存が可能かを検討した。

### 2 材料及び方法

本年度は、脱酸素剤による保存状況を経時的に観察して対照区と比較した。試験区は、マダイまたはカンパチの継代飼育により得られた白点虫のシャーレシストと脱酸素剤をジャーあるいは専用パウチ袋に入れて嫌気状態として、18.5℃のインキュベーター内で12月17日から最長2ヶ月間保存した。なお、脱酸素剤は酸素吸収・炭酸ガス発生剤の商品名アネロパック（三菱ガス化学(株)、嫌気培養用）を用いた。同様に対照区として、マダイまたはカンパチから得られたシャーレシストを同じインキュベーターに収容して試験区と比較した。また、両区とも観察時にはシャーレ内海水を18.5℃に調整したろ過・殺菌海水で交換した。

### 3 結果及び考察

試験区の脱酸素状態にしたシストは、非常に状態がきれいで、開始時の状態が2ヶ月後の終了時まで維持できていた。一方、対照区では10日目頃より遊出が始まり、20日目頃までにはほぼ遊出が終了していた（図10）。対照区の状態は、前年度に報告のあった保存温度帯別仔虫遊出状況の結果ともほぼ一致していた<sup>(11)</sup>。

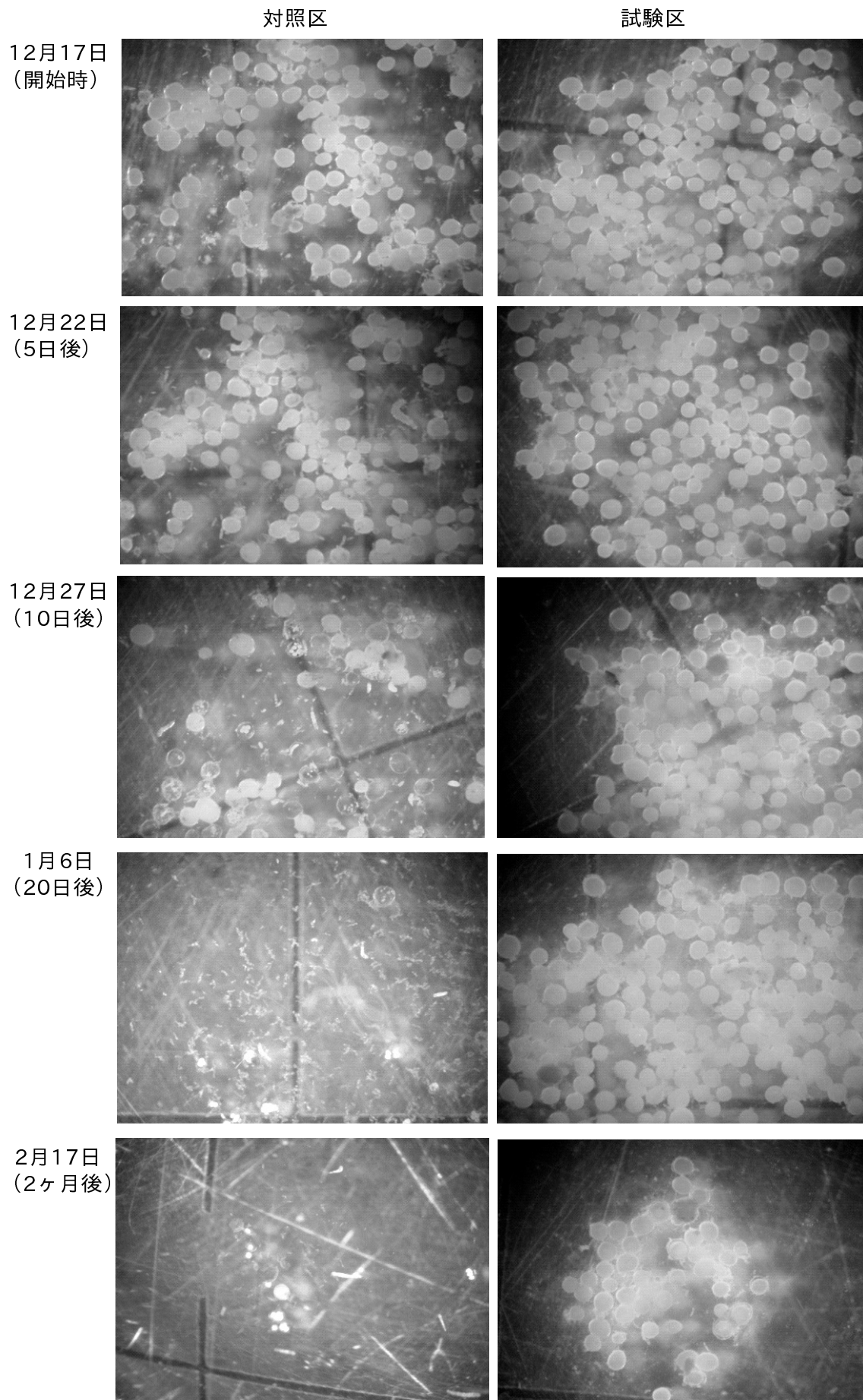


図10 脱酸素条件下（アネロパック）と対照区におけるシャーレシストの日毎変化の様子

このことから、シャーレシストは脱酸素により休眠状態となり、脱酸素状態が長期にわたって維持されることで、代謝が抑制され発生が抑えられていたことが推測された。脱酸素状態による保存のメリットは、シャーレシストの継代に魚を介するため多大な時間と労力を要する従来の方法に比べて簡単であること、しかも長期間の保存でもシストの状態がほぼ開始時のまま維持されることであった。

今後は、脱酸素条件下で長期間保存したシストを、通常的环境下に戻したときに、発生が進行して魚体に寄生する能力を有するのか、さらにその後、魚体を離脱してシストを得ることができるのかなど、異なる環境での保存がその後に及ぼす影響について検討していく必要がある。

## 参考文献

- (1) 小川和夫 (2004) 白点病, 魚介類の感染症, 寄生虫病 (江草周三監修), 恒星社厚生閣, 295-303.
- (2) 良永知義 (2006) 白点病, 新魚病図鑑(畑井喜司雄・小川和夫監修), 緑書房, pp179.
- (3) 黒原健朗 (2005) 養殖衛生管理体制整備事業, 平成15年度高知県水産試験場事業報告書, 101, 135-145.
- (4) 黒原健朗 (2006) 養殖衛生管理体制整備事業, 平成16年度高知県水産試験場事業報告書, 102, 99-110.
- (5) 黒原健朗・安藤裕章 (2008) 養殖衛生管理体制整備事業, 平成18年度高知県水産試験場事業報告書, 104, 109-115.
- (6) 黒原健朗・安藤裕章 (2009) 養殖衛生管理体制整備事業, 平成19年度高知県水産試験場事業報告書, 105, 102-109.
- (7) 黒原健朗 (2010) 養殖衛生管理体制整備事業, 平成20年度高知県水産試験場事業報告書, 106, 92-98.
- (8) 渡辺 貢 (2011) 養殖衛生管理体制整備事業, 平成21年度高知県水産試験場事業報告書, 107, 114-120.
- (9) 安藤裕章・林芳弘・大河俊之 (2008) 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, 平成18年度高知県水産試験場事業報告書, 104, 125-130.
- (10) 安藤裕章・林芳弘・大河俊之 (2009) 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, 平成19年度高知県水産試験場事業報告書, 105, 141-151.
- (11) 渡辺 貢・荻田淑彦・明神寿彦 (2011) 白点病のモニタリングと発生予測手法の開発, 平成21年度高知県水産試験場事業報告書, 107, 121-134.