

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

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^{1,2)}。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、主要な海面養殖漁場である野見湾で、マダイやカンパチにおいて過去に報告されている。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っていく。

本疾病は、白点虫の効果的な駆除方法がないことや、体表に白点を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ることが、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、その対策としては、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へ避難し、白点虫の生活環を断ち切ることで大規模な被害を軽減できると考えられる。

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を開発する計画で、平成 21 年度から 3 年計画で実施した。

平成 21 年度は、魚体感染試験で間接的にシストの存在を確認し、さらに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を検討したが、直接白点虫シストを観察する手法については適当なものが見つからなかった。

平成 22 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、白点病の発生機序についての知見を深めるため、マダイとカンパチの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、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も検討した。

平成 23 年度は、白点虫寄生のモニタリングを引き続き継続するとともに、平成 22 年度に検討した、脱酸素剤を用いてインキュベーター内で長期間保存したシストを、魚と共存する環境下に戻し、魚体に寄生して害作用を示すかシストの動態を観察した。更に、ナマコを使った白点虫の防除策について、混合飼育試験と白点虫捕食試験を行って検討した。

1 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

これまでに実施してきた魚病診断の記録から³⁻⁹⁾、野見湾のカンパチではエラムシ (*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。このため、カンパチについては平成 22 年度までと同様の調査を継続することとし、あわせてマダイについてもエラムシ (*Bivagina tai*) の有無を調べた。

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23年9月7日から12月5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通じ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19回、カンパチ35回で検査尾数は1回あたり1～20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70～2,000g、カンパチでは150～3,490gの範囲にあり、今年度も場所、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サンプルとすることができた。

サンプル魚は持ち込まれた後、両魚種とも左側の鰓の最も外側を切り出し、1枚ずつ切り離して、一次鰓弁が30枚以上となるよう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。

また、野見湾の環境データについて、別事業で定期的に調べている野見湾の環境調査の結果を活用した。

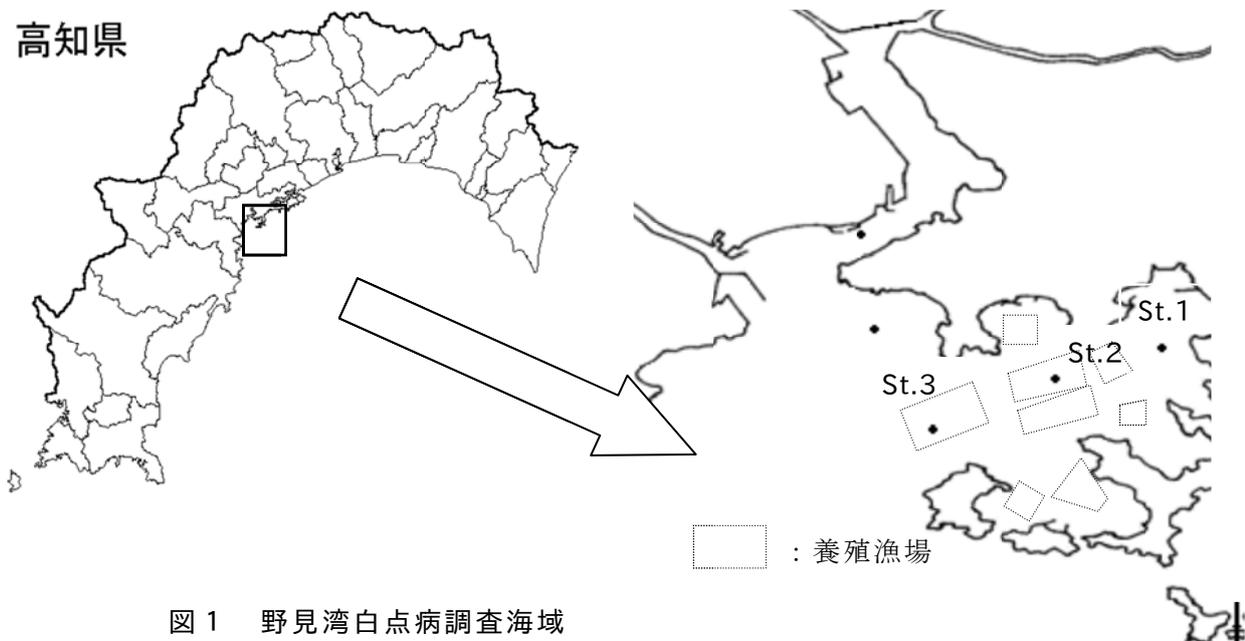


図1 野見湾白点病調査海域

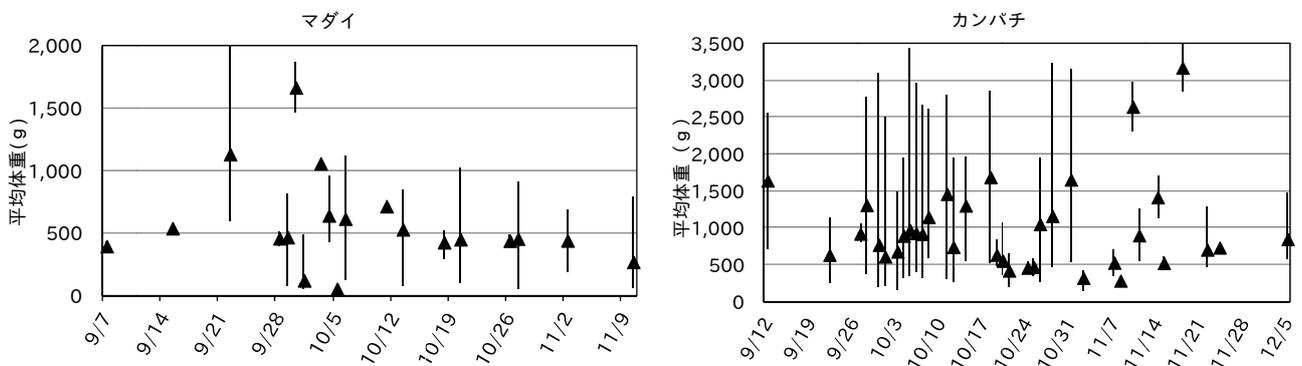


図2 検査魚の平均魚体重の推移（▲は平均値、線は最大～最小を示す）

(3) 結果及び考察

モニタリング期間を含む8月22日から12月19日までの野見湾の水温と溶存酸素濃度を図3に示した。

環境調査の結果では、水温は、図1に示す湾奥ブイ (St.1:水深16.4~17.3m) では、9月7日に最高水温27.7℃を示し、12月19日には17.3℃まで低下した。約2週間毎に約1℃下がる傾向にあったが、途中、11月24日から12月19日の調査の間で湾奥ブイ、馬ノ背 (St.2:水深23.0~24.6m) では一気に約4℃、ガラク (St.3:水深14.0~16.3m) では約3℃下がったのが目立った点であった。各調査回において、地点毎の水温差は、観測水深5mで小さかったが、B-1mでは、9月7日頃まで躍層の形成が原因と思われる水温差がみられていた。その後は、躍層が崩れ上下層の混合が起こっていた。

一方、溶存酸素濃度は、水温の変動とは逆に、8月22日から12月19日にかけて増減はあるものの全体としては徐々に上昇していく傾向にあった。期間を通じて地点毎には湾奥ブイで8月22日に4.73mg/l、10月5日に4.81mg/lと低かったものの、概ね5mg/l以上で良好な環境にあったと言える。また観測水深による違いは小さかった。

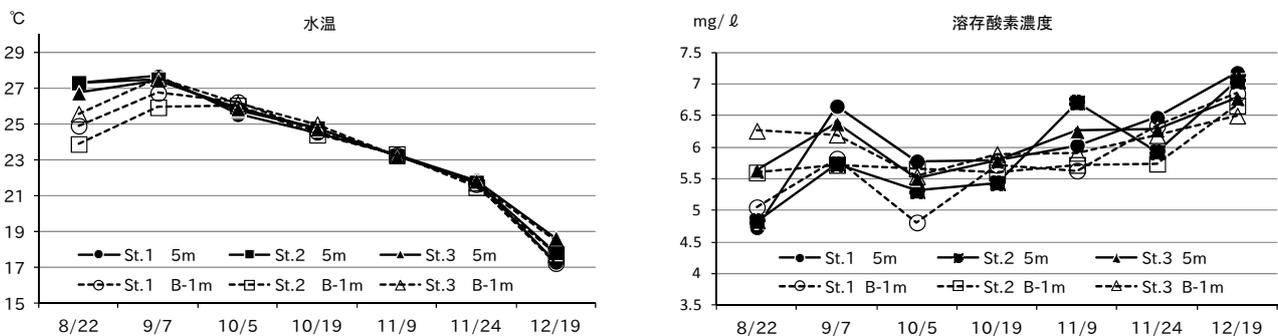


図3 環境調査結果 (黒塗り: 5m、白抜き: B-1m)

モニタリングによるマダイの白点虫の寄生状況の結果を表1に示した。また、図4には白点虫とエラムシのマダイへの寄生割合と、1尾あたりの白点虫数の推移も併せて示した。なお、平成23年度の白点虫の寄生数に関しては、平成22年度までと比較するため鰓弁60枚あたりに換算した。

検査の結果、9月22日以降、11月2日まで白点虫の寄生が確認され、寄生確認尾数の割合は9月28日、10月11日、10月26日にそれぞれ100%で最高になった。また、1尾あたりの白点虫数は10月18日に32.5個体となり、10月26日には45.2個体と最高になった。この10月中~下旬は他の期間と比べて飛び抜けて高く、海域が非常に危険な状況に陥った時期であったことが分かる。なお、9月7日、22日にはエラムシの寄生が確認されていたが、その寄生確認尾数の割合は9月7日で50%、22日で33.3%であった。エラムシの寄生の割合と、白点虫の寄生の割合とは因果関係はないように思われ、マダイにおいてはエラムシとの合併症による白点病の被害は確認できなかった。

表1 マダイにおける白点虫の寄生状況ほか

月 日	白点虫					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*	1尾あたりの白点虫数*	1尾あたりの最大寄生数*	寄生確認尾数の割合(%)
9/7	2	0	0.0	0.0	0.0	0.0	50.0
9/15	2	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
9/22	3	2	66.7	7.2	2.4	6.0	33.3
9/28	3	3	100.0	10.1	3.4	7.7	0.0
9/29	12	3	25.0	16.2	1.4	8.6	0.0
9/30	2	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10/1	5	1	20.0	0.9	0.2	0.9	0.0
10/3	1	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10/4	3	1	33.3	14.0	4.7	14.0	0.0
10/5	4	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10/6	6	1	16.7	2.0	0.3	2.0	0.0
10/11	2	2	100.0	6.4	3.2	3.5	0.0
10/13	14	7	50.0	19.0	1.4	7.1	0.0
10/18	4	3	75.0	130.1	32.5	107.7	0.0
10/20	5	1	20.0	2.9	0.6	2.9	0.0
10/26	4	4	100.0	180.8	45.2	76.4	0.0
10/27	7	3	42.9	16.2	2.3	10.9	0.0
11/2	10	3	30.0	5.4	0.5	2.4	0.0
11/10	7	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

*：鯉弁60枚あたりに換算した

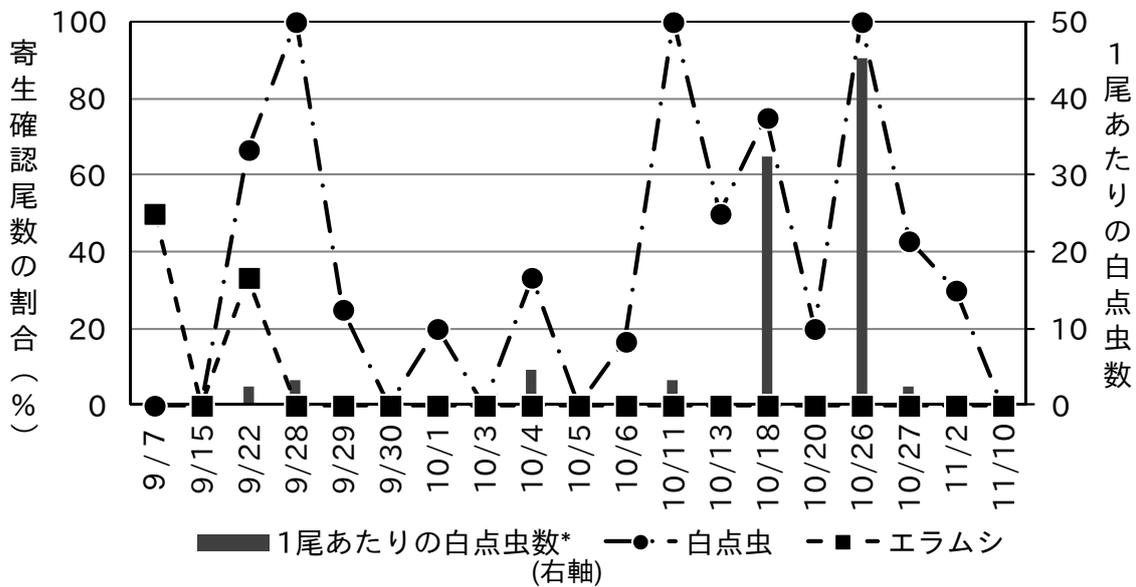


図4 マダイにおける白点虫とエラムシの寄生確認尾数の割合と1尾あたり白点虫数の推移

次に、カンパチにおける白点虫の寄生状況の結果を表2に示した。また、図5には白点虫とエラムシの、カンパチへの寄生の割合と、その時の1尾あたりの白点虫数の推移も併せて示した。なお、マダイ同様、鯉弁60枚あたり（カンパチでは鯉弁総数の約2.3%に相当する¹⁰⁾）の数である。

検査の結果、9月22日から12月5日までの計29回にわた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マダイと同様、最高は100%であった。寄生が確認されなかったのは9月12日、11月10、11、14、22、24日の6回のみで、1尾あたりの白点虫の最大寄生数は9月28日、10月4日の約190個体が最も多く、10月28日までは概ね二桁台が観察されていた（表2）。

一方、エラムシが寄生した個体は、9月12日の調査開始時から見られ、その割合は10月18日以降に最高で100%を示すようになり11月24日まで続いた。白点虫とエラムシの寄生の割合のピークはずれており相関があるとは言い難く、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。

1尾あたりの白点虫数のピークの出現時期は、カンパチの方がマダイより早く、同じ養殖漁場を利用する、カンパチからマダイへ感染するような事態が起こっていたことも考えられた。

表2 カンパチにおける白点虫の寄生状況ほか

月日	白点虫						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*	1尾あたりの白点虫数*	1尾あたりの最大寄生数*	寄生確認尾数の割合(%)
9/12	2	0	0.0	0.0	0.0	0.0	50.0
9/22	10	3	30.0	5.8	0.6	2.0	30.0
9/27	5	4	80.0	11.0	2.2	5.0	0.0
9/28	20	17	85.0	1204.1	60.2	189.6	50.0
9/30	14	11	78.6	61.9	4.4	11.4	85.7
10/1	9	5	55.6	5.6	0.6	1.5	66.7
10/3	8	4	50.0	21.7	2.7	8.9	50.0
10/4	11	4	36.4	271.7	24.7	189.7	54.5
10/5	8	7	87.5	78.1	9.8	63.4	25.0
10/6	12	12	100.0	428.3	35.7	165.0	75.0
10/7	10	8	80.0	102.9	10.3	33.8	60.0
10/8	8	8	100.0	365.6	45.7	63.1	75.0
10/11	11	7	63.6	67.9	6.2	16.5	81.8
10/12	5	4	80.0	37.9	7.6	19.0	80.0
10/14	8	7	87.5	56.3	7.0	31.6	87.5
10/18	2	2	100.0	12.2	6.1	9.7	100.0
10/19	5	4	80.0	79.5	15.9	73.2	60.0
10/20	3	2	66.7	15.9	5.3	14.6	33.3
10/21	4	4	100.0	197.2	49.3	133.2	100.0
10/24	7	5	71.4	25.9	3.7	8.2	100.0
10/25	3	1	33.3	1.6	0.5	1.6	33.3
10/26	12	4	33.3	70.2	5.8	58.4	66.7
10/28	9	6	66.7	43.1	4.8	17.1	100.0
10/31	7	4	57.1	14.9	2.1	5.1	85.7
11/2	6	4	66.7	12.6	2.1	5.8	66.7
11/7	5	4	80.0	14.1	2.8	6.7	80.0
11/8	5	5	100.0	21.1	4.2	6.8	100.0
11/10	2	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
11/11	4	0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
11/14	4	0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
11/15	5	3	60.0	8.4	1.7	5.8	100.0
11/18	2	1	50.0	2.0	1.0	2.0	100.0
11/22	6	0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
11/24	2	0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
12/5	4	1	25.0	1.5	0.4	1.5	75.0

*：鰓弁60枚あたりに換算した

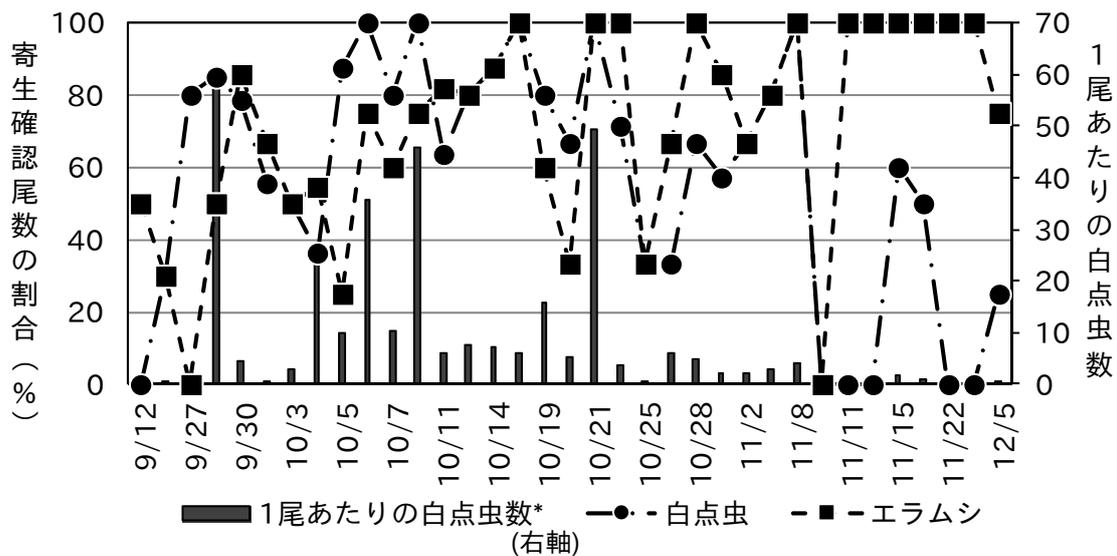


図5 カンパチにおける白点虫とエラムシの寄生確認尾数の割合と1尾あたり白点虫数の推移

平成15年度以降の本事業報告書に記載されている魚病及び健康診断の結果を見ると³⁻⁹⁾、例年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、平成23年度については、カンパチの被害の発生時期は例年より約1ヵ月早い9月下旬であり、白点虫による被害の規模は例年以上であった。図6では平成21年度、22年度のデータと1尾あたりの白点虫数で比較したが、マダイ、カンパチとも平成21年度、22年度、23年度と年を追うごとに1尾あたりの白点虫数は大きな数字を示すようになり、マダイよりカンパチで大きかった。

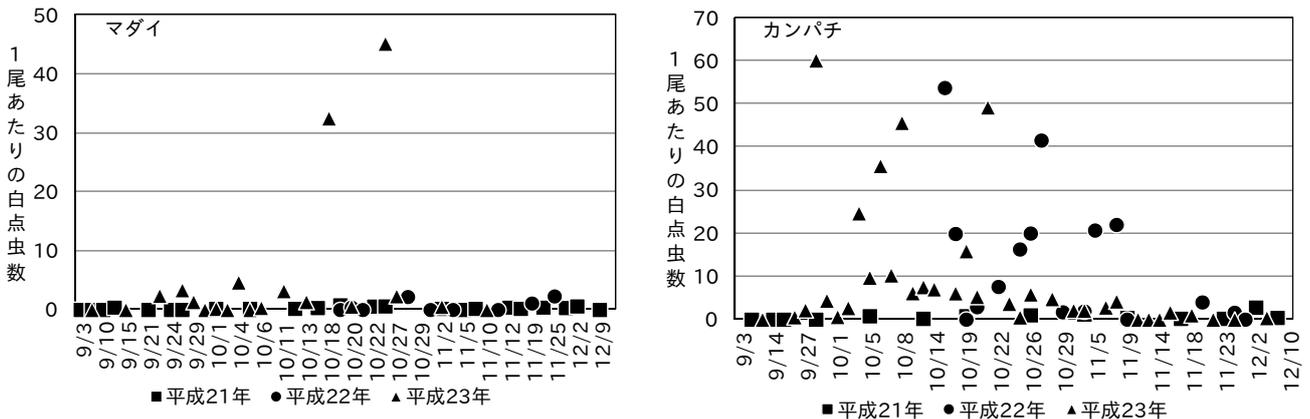


図6 1尾あたりの白点虫数

2 追加試験

本事業の本来の目的には合致しないが、白点虫について考えるなかで、参考になると思われる次の2つについて検討した。

2-1 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、平成22年度は脱酸素剤を利用し白点虫の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。

平成23年度は、このようにして得られたシストを再度海水中に戻して、活性化して魚体に寄生し、魚の死亡を引き起こすのか確認することを目的とした。

(2) 材料及び方法

平成22年度は、白点虫のシストの脱酸素剤による保存状況を経時的に観察した。平成23年度はシャーレ上に得られたシストを、インキュベーター内で表3に示す各温度別（10～35℃）、または各期間別（30～210日）に保存した後に、マダイの入った水槽中に戻し、シストが仔虫を遊出して魚体に寄生し、死亡に至るのか平成22年12月から平成23年12月にかけて観察した。

なお、脱酸素剤として酸素吸収・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）を用いて嫌気状態にし、また、白点虫の日周期活動に合わせるため、水槽上部に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の間点灯した。魚の入った水槽に戻した日を0日とし、試験期間中は無給餌で、実験魚が死亡するまでの期間観察した。

(3) 結果及び考察

脱酸素状態での保存日数と、インキュベーター内保管温度の様々な組み合わせで実験を行

った結果、18.5℃の保管温度で1ヵ月ほどの脱酸素状態での保存から、10、35℃で約半年間の脱酸素状態を維持した保存の場合まで幅広い条件で魚体への寄生が確認された（表3）。シストの魚体への寄生能力は、脱酸素状態に置かれても180日間維持された事例を確認したことから、シストの環境への適応力の強さが窺われた。

表3 保存日数と保管温度の組み合わせ

脱酸素での 保存目安日数	インキュベータでの保存温度 ℃						
	10	15	18.5	20	25	30	35
30			◎				
60		◎	○				
90			◎	◎		○	
120	○	◎		○	◎	○	○
150	○			○		○	○
160					○		
180	◎						◎
210					○		

◎：魚体への寄生と死亡が見られた事例

○：上記以外の実験事例

2-2 ナマコ混合飼育・摂餌試験

(1) 目的

ナマコが砂泥域に生息し、底泥等から有機物を濾し取って餌としている点に着目して、シャーレシストを入れた水槽でブリと混合飼育し、ブリの死亡する状況とシャーレシストの出現状況を観察し、シストそのものを摂餌しているのかを確認することを目的とした。

(2) 材料及び方法

混合飼育試験は、室内200ℓダイライト水槽（使用水量120ℓ）に、ニセクロナマコ（*Holothuria leucospilota*：体長約20～30cm、以下「ナマコ」という）とブリ（全長11.8～14.8cm、体重17.9～33.7g）を、前もって混合飼育して馴致したあとに開始した。飼育海水はろ過・殺菌海水とし、エアレーションをして2日毎に全換水した。実験期間中は水温調整せず無給餌とした。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、水槽上部にはタイマー連動の蛍光灯を設置して5:00～17:00の間点灯した。

実験は、同じサイズの水槽に収容尾数を変えて3回実施し、ブリ単独（対照区）とナマコとブリの混合飼育（実験区）で比較した。事例1では、実験区はブリ6尾とナマコ2個体を、対照区にはブリ5尾を収容し、マダイから7月26日に採取し18℃で保存していたシャーレシスト33個のシャーレを実験区と対照区に投入した。事例2では、実験区はブリ10尾とナマコ5個体を、対照区にはブリ10尾を収容し、ブリから8月8日に事例1で採取し18℃で保存していたシャーレシスト231個と257個のシャーレを実験区と対照区にそれぞれ投入した。事例3では、実験区はブリ15尾とナマコ15個体を、対照区にはブリ16尾を収容し、ブリから8月19日と20日に事例2で採取し18℃で保存していたシャーレシスト235個と263個のシャーレを実験区と対照区にそれぞれ投入した。

水槽に収容した日を0日とし、以後、毎日供試魚の生残状況と、新たなシャーレシストの付着の有無を観察した。

摂餌試験では、ナマコとシストが付着したシャーレを3枚入れ、4日後にそのシャーレを取り上げナマコの摂餌状況を観察した。さらに、底泥等と共にシストを取り込む可能性について、シストを砂泥で覆う区を作り3日後の摂餌状況を観察した。

(3) 結果及び考察

事例 1、2 のいずれの場合でも、ナマコに死亡はなく、実験区と対照区のブリの死亡状況は同じであった。また、ブリに対するナマコを増やしても、死亡状況は実験区と対照区で差は見られなかった。ナマコは、海底に堆積している有機物を摂餌して成長するため、今回は餌料としてシストを取り込んで摂餌するのを期待したが、利用はしていなかった(表 4、5)。

事例 3 ではナマコに死亡はなく、実験区は対照区と比べ、供試魚が全滅に至る期間が少し長かった。この事例は、ブリとナマコの比率が 1:1 で他の事例よりもナマコの比率が高く、また実験区のシャーレシストの出現数は対照区よりも少なかったことから、ナマコがシストそのものを摂餌したことも考えられたが詳細は不明であった(表 6)。

摂餌試験では、3~4 日後のシャーレシストの状況を砂泥の有無で比較した。その結果、砂泥なしではまったく変化が見られなかったが(図 7 上)、シャーレシストを砂泥で覆った場合では、3 枚中 2 枚で剥ぎ取ったような痕跡(表面がきれいに舐められた様になっているもの)のある事例が見られた(図 7 下)。砂泥で覆う区だけに剥ぎ取ったような痕跡が見られたものの、それが積極的にシストを摂餌している状態とまでは言い切れなかった。

ナマコの摂餌量などの摂餌生態に関する知見は少なく、シスト自体を摂餌するのかよくわかっていない。嗜好の問題もあるが、シストを剥ぎ取ったような痕跡が見られたことや、ナマコ混合飼育・摂餌試験の結果から、ナマコに加えて他の堆積物食者の浄化機能も活用すれば、白点虫被害を低減させる効果が少しは期待できるかもしれない。ナマコのような生物による除去は、環境に負荷をかけず、底質浄化も期待できることから、現状では根本的な対策が打てないでいる白点虫対策として有効な手段の一つになりうるが、ナマコの生態には情報の蓄積が必要である。

表 4 事例 1 (ブリ 6:ナマコ 2) の結果

経過日数	月日	実験区 全 6尾			対照区 全 5尾		
		水温	死亡魚	シャーレシスト	水温	死亡魚	シャーレシスト
0	8/1	—	—		—	—	
1	8/2	26.5	0		—	0	
2	8/3	26.6	0		26.6	0	
3	8/4	26.3	0	シャーレ追加	—	0	シャーレ追加
4	8/5	26.6	0	0	26.6	0	0
5	8/6	—	—	—	—	—	—
6	8/7	—	—	—	—	—	—
7	8/8	26.9	0	231	26.9	0	257
8	8/9	26.9	0	1	—	0	1
9	8/10	27.6	0	0	27.7	0	0
10	8/11	27.5	6	184	—	5	2

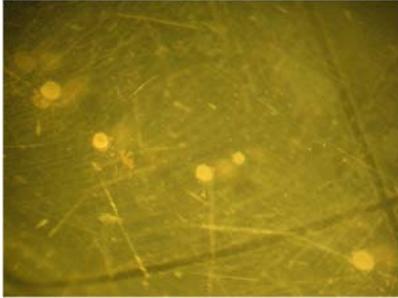
表5 事例2 (ブリ 10:ナマコ 5) の結果

経過日数	月日	実験区 全10尾			対照区 全10尾		
		水温	死亡魚	シャーレシスト	水温	死亡魚	シャーレシスト
0	8/15	28.4	—		28.6	—	
1	8/16	27.9	0		28	0	
2	8/17	28.1	0	シャーレ追加	28.2	0	シャーレ追加
3	8/18	28	0	4	28.2	0	2
4	8/19	27.7	1	235	27.8	2	107
5	8/20	27.3	0	194	27.3	1	263
6	8/21	—	—		—	—	
7	8/22	27.1	0	886	27.2	1	1000以上
8	8/23	27	5	7	27	1	0
9	8/24	26.8	4	3	27.1	5	0

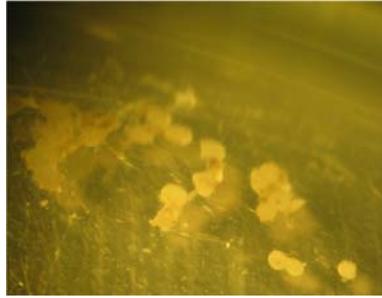
表6 事例3 (ブリ 15:ナマコ 15) の結果

経過日数	月日	実験区 全15尾			対照区 全16尾		
		水温	死亡魚	シャーレシスト	水温	死亡魚	シャーレシスト
0	8/26	28.1	0	シャーレ追加	28.2	0	シャーレ追加
1	8/27	26.9	0	0	26.9	0	1
2	8/28	—	—	—	—	—	—
3	8/29	26.8	0	0	26.7	0	1
4	8/30	26.7	0	4	26.7	2	958
5	8/31	27.2	1	84	27.3	6	826
6	9/1	27.6	4	83	27.6	2	413
7	9/2	27	3	38	27	0	35
8	9/3	27.3	0	13	27.3	0	17
9	9/4	26.9	0	1	27.3	6	43
10	9/5	26.2	1	1			
11	9/6	25.1	6	3			

開始時 ①



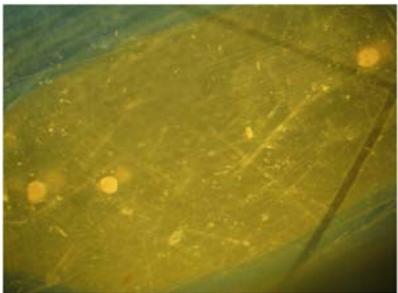
②



③



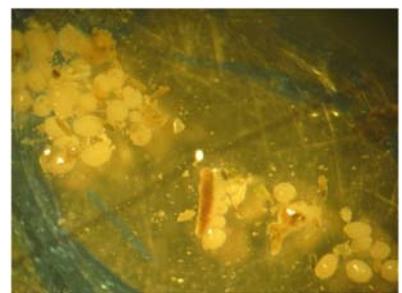
終了時 4日後 ①



②



③



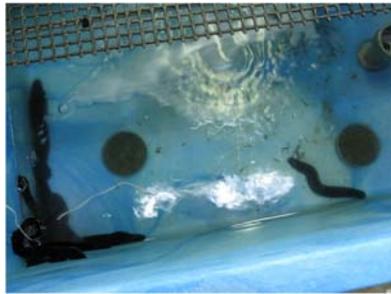
①～③のシャーレに変化は見られない。

次に、シャーレシストを砂泥で覆ってみた。

開始時

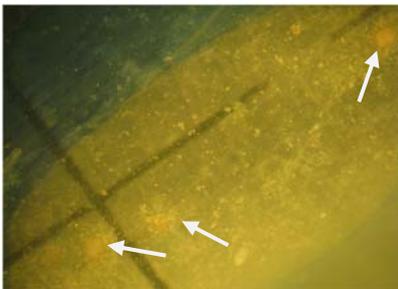


試験の様子

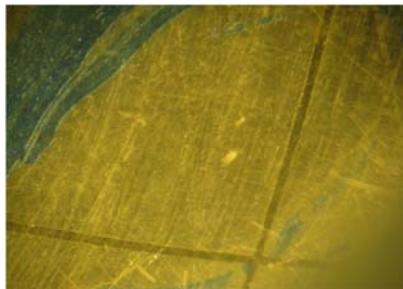


砂泥を洗い流して

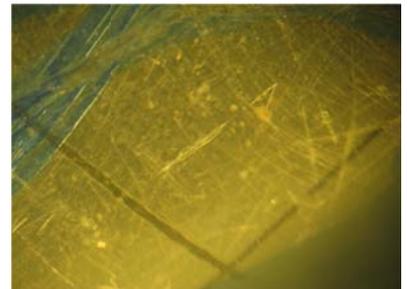
終了時 3日後 ①



②



③



①：シャーレに変化は見られない

②～③：シャーレにシストは見えない

図7 シャーレの状態の変化

5 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) 角原美樹雄・渡辺貢 (2012) 養殖衛生管理体制整備事業, 平成22年度高知県水産試験場事業報告書, 108, 98-105
- (10) 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、
- (11) 角原美樹雄・渡辺貢・荻田淑彦 (2012) 白点病のモニタリングと発生予測手法の開発、平成22年度高知県水産試験場事業報告書, 108, 106-117