

海産魚白点病の防除対策の開発*

堅田 昌英・木村 創・竹内 照文

目 的

海産魚白点虫 *Cryptocaryon irritans* Brown は原生動物の繊毛虫綱に属し、宿主範囲が非常に広くほとんど全ての海産硬骨魚類に寄生する。本虫の寄生によって引き起こされる海産魚白点病は、水族館の飼育魚や観賞魚に発生し、多大な被害を与えてきた¹⁻³⁾。しかし、1980年代になって海産魚の養殖が盛んになるにつれて、養殖魚の本虫による大量斃死が報告されるようになった⁴⁾。良永⁵⁾は被害事例をとりまとめ、それによると1996年には熊本県のトラフグ養殖場、1997年には高知県のマダイ養殖場で本疾病による大量斃死が発生し、被害額は前者で約2～3億円、後者で約5億円と推定されている。2003年には和歌山県のマダイ養殖場でも約2億3,000万円の被害をもたらした。これらの大発生事例以外にも、本疾病は頻発しており、海産魚類養殖業の大きな障害となっている。

本疾病の防除対策としては有効な治療薬がないことから、生活環を遮断するために潮通しの良い所への生簀移動や網替え等が一般的に行われている。し

かし、養殖場において本虫の動態が明らかにされていないため、生簀の移動時期や移動距離を適切に判断することができず、大きな被害を出している。

そこで本研究では、本虫の生態特性を明らかにし、現場海域における防除対策を確立することを目的に水槽および現場で宿主からの離脱時間、宿主への感染時間および本虫の拡散状況等について実験を行った。

方 法

供試魚 2004年10月に入荷し、当研究所で飼育していたマダイ（平均全長20 cm）および2005年8月に入荷したイシダイ（平均全長6.5 cm）を用いた。

C. irritans の継代 屋外に設置した1 t円形水槽（直径130 cm、深さ80 cm、有効水深50 cm）に20尾のマダイを収容し、生海水で飼育して海産魚白点病を自然発生させることで本虫を得た。得られた虫体は、Yoshinaga and Dickerson⁶⁾の方法に準じてマダイを宿主に用いて継代感染（図1：生活環）

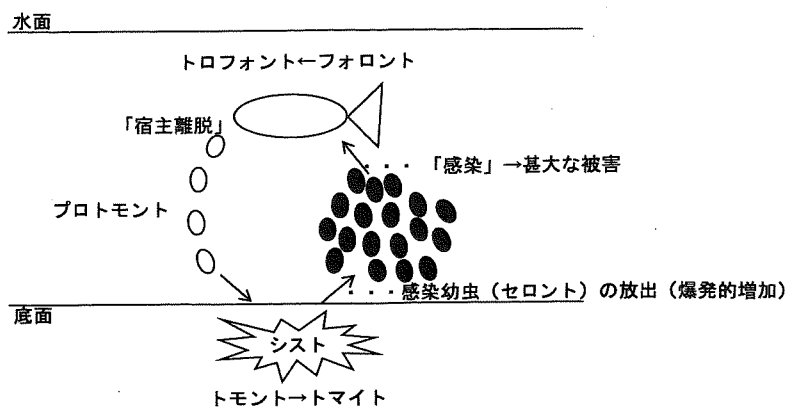


図1 海産魚白点虫の生活環

*海産魚白点病の防除対策の開発費による

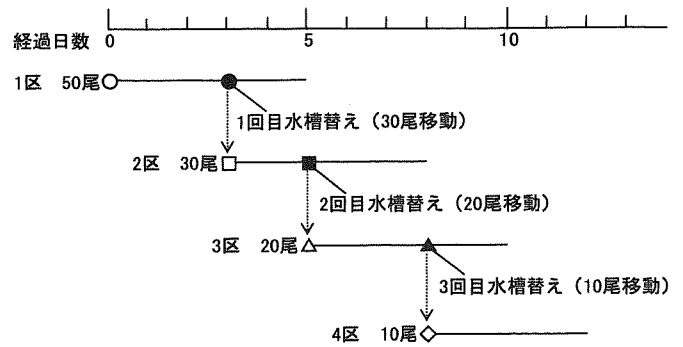
させ、本水槽を白点病感染水槽（以下、感染水槽）とした。

1. 水槽実験

水槽替えによる防除 実験手順を図2に示す。

1 t 角形コンクリート水槽（100×100×100 cm）を4面用意し、1～4区とした。1区に健康マダイ40尾と白点病マダイ10尾を収容して実験を開始した。1回目の水槽替えは、実験開始3日後に1区から30尾採取し、2区へ移動させることで行った。2回目の水槽替えは、2区へ移してから2日後に2区から20尾を採取し、3区へ移動させることで行った。3回目の水槽替えは、3区へ移してから3日後に3区から10尾を採取し、4区へ移動させることで行った。なお、各水槽とも換水率は30回転/日とした。

水流に関する実験 試験区の設定を図3に示す。実験は、水槽中央で仕切られており、その仕切り板の底部中央に直径6 cmの円孔のある1 t 角形水槽（200×100×50 cm）を2つ用意して行い、A区およびB区とした。A区は、仕切り板を隔てて注水側に白点病マダイ5尾、排水側に健康イシダイ120尾を入れ、B区は両者を逆にした。なお、注水側と排水側の試験魚が交流しないように円孔部分は網で仕切りをし、両区とも換水率は32回転/日とした。



1区スタート時：健康マダイ40尾+白点病マダイ10尾

図2 水槽替えによる海産魚白点病防除実験

離脱虫体の拡散状況 実験装置を図4に示す。10×4×0.5 mの20 t 屋外角形コンクリート水槽に、白点病マダイ5尾を0.5 m角の網かごに入れて垂下し、感染源とした。トラップ（直径9 cm、深さ4.5 cm；ポリビン）は、感染源より1 m注水側に1個、排水側に1 m間隔で8個垂下した。トラップの垂下時間は24時間で、トラップを回収した後、1%の割合でホルマリンを添加して固定し、実体顕微鏡下で離脱虫体を計数した。なお、換水率は3.1回転/日、流速は3.1 cm/秒とした。

白点病マダイからの距離と寄生数 実験装置を図5に示す。前述の実験と同じ屋外コンクリート水

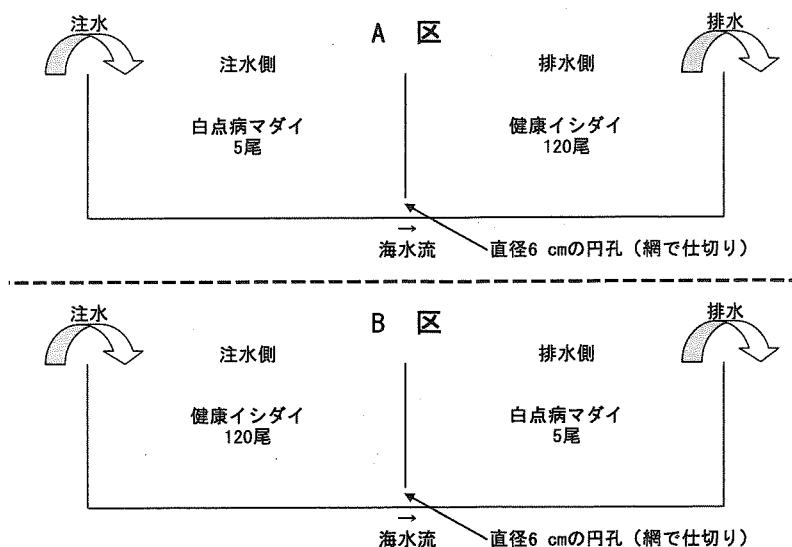


図3 海産魚白点病と海水流に関する実験

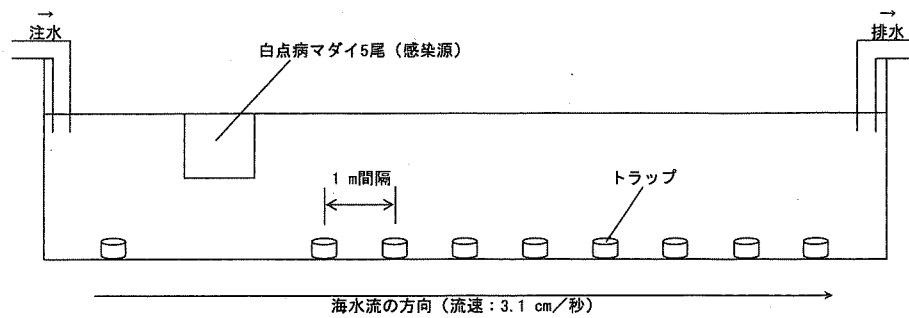


図4 離脱虫体の拡散状態を調べる実験

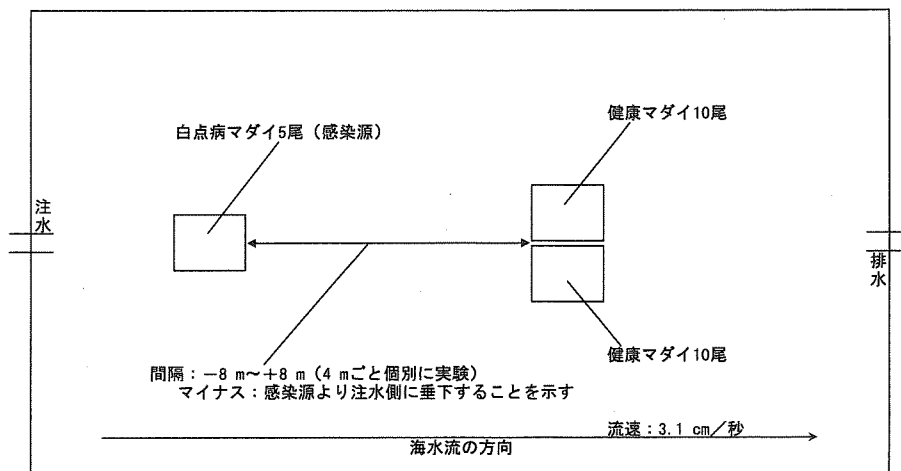


図5 白点病マダイからの距離と健康マダイへの寄生数を調べる実験

槽に、白点病マダイ5尾を0.5 m角の網かごに入れて垂下し、感染源とした。健康マダイは、0.5 m角の網かご2個にそれぞれ10尾ずつ入れ、感染源より-8 m, -4 m, 0 m, +4 m, +8 mの距離(-:感染源より注水側, +:感染源より排水側)で垂下した。なお、これらの実験は同時に行わず、距離ごとに分けて行った。健康マダイの垂下期間は1週間とし、回収した後、速やかに鰓を光学顕微鏡で観察して100倍1視野当たりの寄生数を計数した。本虫は宿主が死亡すると速やかに魚体から離脱する⁷⁾ため、寄生数は生残していたマダイから10尾を無作為に抽出して調べた。なお、換水率は3.1回転/日、流速は3.1 cm/秒とした。

宿主からの離脱時間 ポリビン(口径9 cm, 深さ

4.5 cm)をセディメントトラップとして感染水槽の底面3箇所に垂下して行った。実験は2005年9月20日12時から翌21日12時まで24時間実施し、トラップを3時間ごとに垂下・回収した。回収したトラップには1%の割合でホルマリンを添加して固定し、実体顕微鏡下で本虫の離脱虫体を計数した。なお、離脱虫体数は、3個のトラップの平均値で算定した。

宿主への感染時間 円柱形トリカルネット(直径20 cm, 深さ35 cm)に入れた20尾の健康イシダイを感染水槽に収容して行った。実験は2005年9月20日12時から翌21日12時まで24時間実施し、イシダイを3時間ごとに収容・回収した。回収したイシダイは別の水槽へ移し、その後の死亡状況を9

月30日まで追跡することで感染時間を検討した。

離脱虫体の沈降速度 ガラス管(内径8 mm, 長さ130 cm)に砂ろ過海水(水温20℃)を満し、感染水槽から採取した離脱虫体を水面下2 cmの位置にパスツールピペットを用いて静かに入れた。虫体が水面から10 cmの位置を通過した時をスタートとし、100 cmの距離を沈降するのに要した時間を測定し、沈降速度(m/分)を算出した⁷⁾。

2. 現場実験

宿主からの離脱時間 調査は、2005年10月24日～25日にかけて本疾病が発生している田辺湾の養殖場で行った。セディメントトラップ(口径9 cm, 深さ21 cmのポリビン)は、直径30 m, 深さ10 mのマダイ養殖筏の周囲4箇所の生簀網の底より5 m下の層に垂下した。実験時間、トラップの垂下・回収、サンプル固定および検鏡は水槽実験と同様にした。

結果および考察

1. 水槽実験

水槽替えによる防除 供試マダイの生残率の変化を図6に示す。なお、実験期間中の水温は26.6～28.8℃であった。水槽替えを行わなかった1区のマダイは実験開始翌日から本疾病により死亡し、5

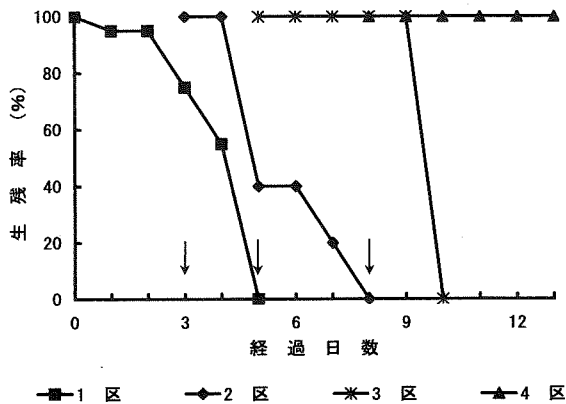


図6 水槽替えによるマダイ生残率の変化 (↓は水槽替えを示す)

日目には全滅した。2区のマダイは2日後に急激な死亡を呈し、3区のマダイは4日後まで全く死亡しなかったものの、いずれも5日後に全滅した。一方、4区のマダイは、全く死亡せず、実験終了後の検査でも本虫の寄生は認められなかった。良永⁵⁾は、水温25℃付近では3日おきに魚を新しい水槽へ移すことによって感染の拡大を防ぐことができるとしている。なお、今回の実験期間中は26.6～28.8℃の高温で推移した。水温が上昇すると虫体の発育が早くなり、生活環(図1)の回転が早くなることが知られている⁸⁾。従って、今回の実験では新しい水槽への移動は1～2日おきに行ったが、3回の水槽替えで本疾病を防除することができた。

水流に関する実験 注水側および排水側のイシダイの累積死亡率を図7に示す。なお、実験期間中の水温は25.9～27.4℃であった。注水側に白点病マダイ、排水側に健康イシダイを入れたA区では、イシダイは3日目から死亡するようになり、6日目に急激な死亡を呈し、7日目には累積死亡率が100%に達した。一方、排水側に白点病マダイを入れたB区では、イシダイの死亡は全く見られなかった。従って、白点病は上流から下流にかけて伝播するものの、下流から上流へは感染が広がらないことが明らかになった。これは、流れの速度が感染幼虫の遊泳力を上回ったためであると考えられる。よって、

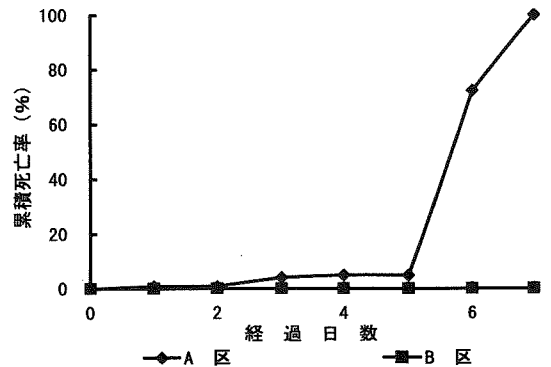


図7 注水側および排水側のイシダイ累積死亡率
A区: 注水側に白点病マダイ、排水側に健康イシダイ
B区: 注水側に健康イシダイ、排水側に白点病マダイ

白点病の感染には流れが重要な役割を果たしているものと言える。

離脱虫体の拡散状況 本虫離脱虫体の拡散状況を図8に示す。なお、実験期間中の水温は26.7～28.4℃であった。上段に1トラップ当たりの宿主離脱数、下段に宿主離脱率（全設置トラップの中に入った離脱虫体数の合計に占める各距離の離脱数の割合）を示した。拡散状況は感染源から3m下流の地点をピーク（宿主離脱数490個体、宿主離脱率40%）に放物線状の分布を示した。感染源近くでの捕捉が少なく、3m離れたトラップに多くの虫体が捕捉されたのは、離脱虫体が水流により流されて到達した結果であると思われる。

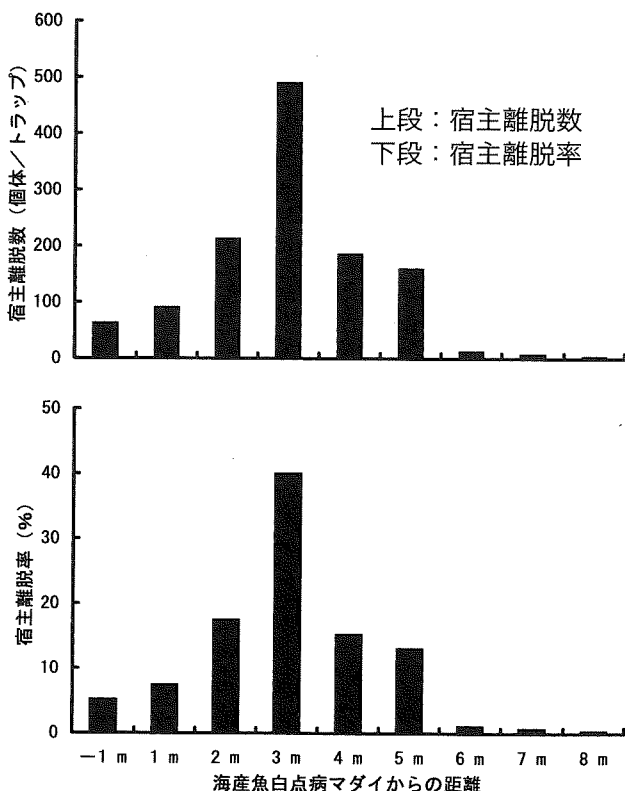


図8 海産魚白点虫離脱虫体の拡散状況（水槽）

白点病マダイからの距離と寄生数 健康マダイへの本虫の距離別寄生数を図9に示す。なお、実験期間中の水温は24.6～26.3℃であった。寄生数

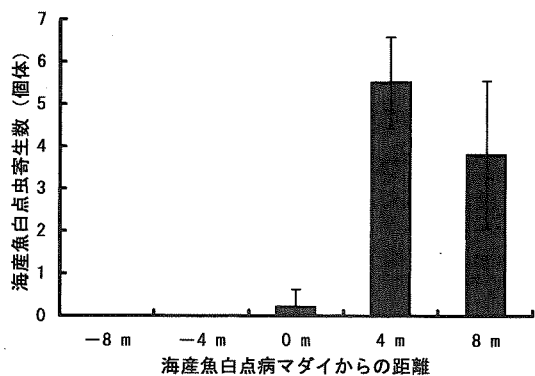


図9 健康マダイの鰓への海産魚白点虫寄生数（顕微鏡100倍1視野当たり）

は、感染源から4m排水側の地点に設置したマダイが最も多く、平均5.5個体（標準偏差：1.1）であった。今回の実験は、前述の離脱虫体の拡散状況を調べる実験と同じ流速条件で行っていたため、感染源より3m排水側の地点に最も多くの離脱虫体が流れ着いていたものと思われる。その後、シストは感染幼虫を放出し、直近、すなわち感染源より4m排水側の地点に設置されたマダイに多く寄生したものと考えられる。なお、感染源より8m排水側の地点に設置したマダイにも平均3.8個体の寄生が認められたことから、感染幼虫も自らの遊泳能力に加え、水流によって流されたものと思われる。一方、感染源よりも注水側（-4mおよび-8mの地点）に設置した健康マダイへの寄生は認められなかった。

宿主からの離脱時間 水槽での宿主からの離脱状況を図10に示す。なお、実験期間中の水温は26.8～27.1℃であった。虫体の離脱数は12:00～24:00までは少なく、宿主離脱率（全時間帯の設置トラップの中に入った離脱虫体数の合計に占める各時間帯の離脱数の割合）は2～9%（3～17個体/トラップ）であった。最も多かったのは、0:00～3:00で、捕捉した全虫体の61%（121個体/トラップ）が離脱した。3:00～6:00にも17%の離脱（34個体/トラップ）が見られたが、6:00～12:00にかけてはほとんど離脱しなかった。マダイを宿主として用いた今回は、ボラやブラックモーリーでの

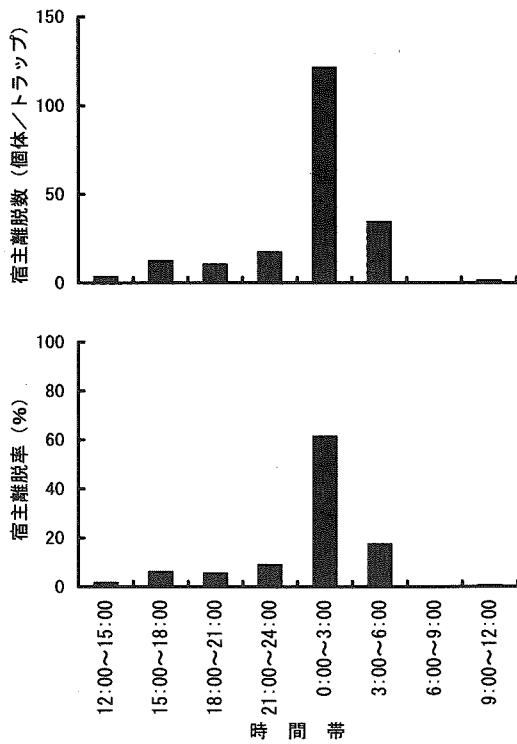


図 10 水槽での海産魚白点虫の離脱時間 (24 時間調査)

事例^{6,9)}よりも3時間程度早かった。しかし、宿主からの離脱は夜間に行われるというここでの結果は良永⁵⁾と一致し、一定のリズムがあることが示された。

宿主への感染時間 感染時間の実験に供したイシダイの累積死亡率の推移を図 11 に示す。なお、実験期間中の水温は26.1~27.4℃であった。0:00~3:00に垂下したイシダイは2日目に急激な死亡が見られ、累積死亡率が80%に達した。また、21:00~24:00に垂下したイシダイでは2日目から多く死亡し、3日目には累積死亡率が75%に達した。一方、他の時間帯では2~3日目の早期に急激な死亡は見られなかった。従って、21:00~翌3:00の間に多数の感染幼虫による多くの寄生を受けていたことが考えられる。イシダイを宿主として用いた今回は、宿主への感染時間のピークは深夜が中心であり、他魚種での事例^{6,9)}よりも3時間程度早かった。なお、18:00~21:00に垂下したイシダイは7

日目に急激な死亡を呈しており、9日目に累積死亡率が95%にまで達した。これは、垂下時に寄生した虫体が一旦離脱し、シストを形成して感染幼虫の放出に至った結果、7日目の急激な死亡を引き起こしたものと考えられる。

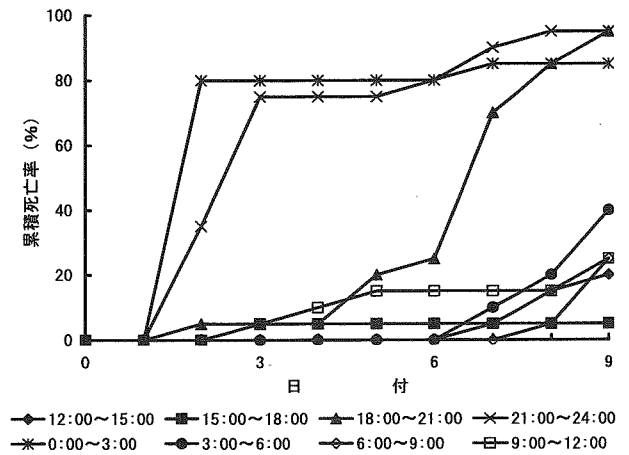


図 11 イシダイの累積死亡率と感染時間の関係 (水槽での24時間調査; 3時間ごとに健康イシダイを設置) グラフの凡例に示した各時間帯は感染水槽への垂下時間を示す

離脱虫体の沈降速度の測定 マダイから離脱した虫体の長径と沈降速度の関係を図 12 に示す。ガラス管内の水柱に入れられた離脱虫体はゆっくりと等速で沈降することが示されており⁷⁾、今回も同様の沈降状況を示した。離脱虫体の長径と沈降速度との間には正の相関 ($y=0.0007x - 0.0725$, $R^2=0.7415$, $P < 0.01$) が見られ、平均沈降速度は0.22 m/分であった。仮に、網生簀の深さが10 mの養殖現場でトラップを水深15 mの層に垂下した場合、水面付近の魚体から虫体が離脱したと考えると、トラップに到達するまでに68.2分間要する計算になる。また、網生簀の最も底にある魚体から虫体が離脱したと考えると、トラップまでの距離は5 mであるため、捕捉までに22.7分間を要する。ただ、これらは潮流が全くないという仮定下での理論

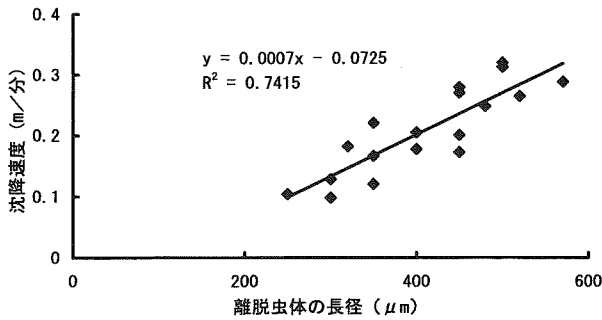


図 12 離脱虫体の長径と沈降速度の関係

値であり、潮流を加味するとトラップに捕捉されるまでのタイムラグが生じると考えられ、時間が更に長くなる可能性がある。

2. 現場実験

宿主からの離脱時間 現場海域での宿主からの離脱状況を図 13 に示す。なお、実験期間中の水温は 22.1～23.2℃であった。虫体の離脱数は昼間が

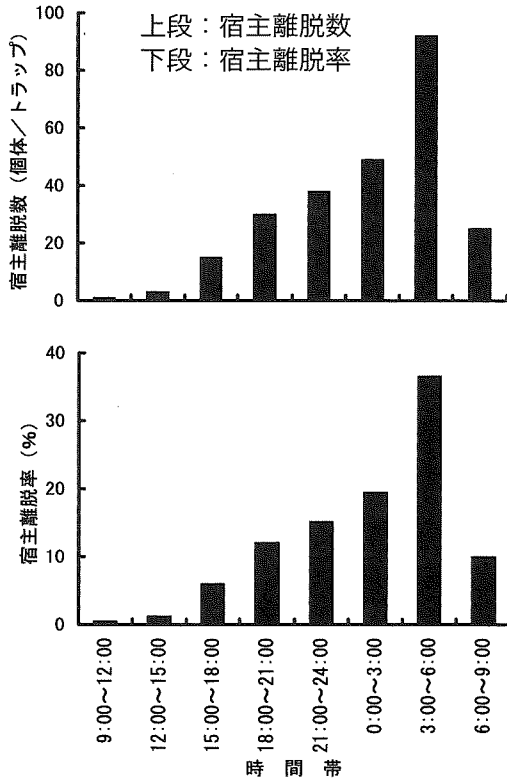


図 13 現場海域での海産魚白点虫の離脱時間 (24 時間調査)

少なく、夕方から夜間にかけて徐々に増加した。3:00～6:00 が最も多く、宿主離脱率は 36 % (92 個体/トラップ) に達したが、その後 6:00～9:00 には 10 % (25 個体/トラップ) に減少した。今回の実験結果では、宿主からの離脱時間のピークは水槽で 0:00～3:00、現場海域で 3:00～6:00 となり、両者に若干の違いが見られた。理由として、トラップを設置した層は水深 15 m であり、離脱虫体が捕捉されるまでにタイムラグが生じたためと思われる。すなわち、0:00～3:00 の間に離脱した虫体が 3:00～6:00 に垂下したトラップに捕捉されたと考えられる。現場海域では潮流や地形の影響を受けるため、個々の漁場で検討していく必要があるが、宿主からの離脱は昼間に少なく、夜間にピークが見られるという一定のリズムが存在することが示された。

文 献

- 1) 四竈安正 (1937) : 鹹水性白点病について (予報). 水産学会報, 7, 149-160.
- 2) Wilkie, D.W. and H. Gordon (1969) : Outbreak of cryptocaryoniasis in marine aquaria at Scripps Institute of Oceanography. *Calif. Fish Game*, 55, 227-236.
- 3) Colomi, A. (1987) : Biology of *Cryptocaryon irritans* and strategies for its control. *Aquaculture*, 67, 236-237.
- 4) Kaige, N. and T. Miyazaki (1985) : A histological study of white spot disease in Japanese flounder. *Fish Pathol.*, 20, 61-64.
- 5) 良永知義 (1998) : 月刊海洋号外 No.14. 海洋出版株式会社, 東京, pp73-76.
- 6) Yoshinaga, T. and H.W. Dickerson (1994) : Laboratory propagation of *Cryptocaryon irritans* on a saltwater-adapted *Poecilia* hybrid, the black molly. *J. Aquat. Anim. Health*, 6, 197-

201.

7) 良永知義 (2004) : 魚類の新興・再興性疾病における感染環の解明 平成14年度～平成15年度科学研究費補助金(基盤研究(A)(1))研究成果報告書. 東京大学大学院農学生命科学研究科, 東京, pp95-107.

8) Cheung,P.J., R.F.Nigrelli and G.D.Ruggieri (1979) : Studies on cryptocaryoniasis in marine fish : effect of temperature and salinity on the reproductive cycle of *Cryptocaryon irritans* Brown, 1951. *J.Fish Dis.*,**2**,93-97.

9) Burgess,P.J. and R.A.Matthews (1994) : *Cryptocaryon irritans* (Ciliophora)- photoperiod and transmission in marine fish. *J.Mar.Biol.Ass.U.K.*,**74**,535-542.