

海産白点虫 *Cryptocaryon irritans* の動態

堅田昌英*

Masahide KATATA

Key word : 海産白点病, *Cryptocaryon irritans*, 離脱時刻, 感染時刻, 拡散, 離脱虫体, 感染幼虫

まえがき

海産白点虫 *Cryptocaryon irritans* 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白点病は、しばしば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⁾。さらに、1980年代になって海産魚の養殖が盛んになるにつれて、本虫の寄生による養殖魚の大量斃死が報告されるようになった⁴⁾。良永⁵⁾はトラフグ *Takifugu rubripes* およびマダイ *Pagrus major* 養殖場における被害事例をとりまとめたが、和歌山県においても2003年に養殖マダイに約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、本疾病は各地で頻発しており、海産魚類養殖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、感染環を遮断するために潮通しの良い漁場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、養殖漁場における本虫の動態が明らかでない

め、効果的な生簀の移動時期や移動距離が不明であり、的確な対応ができていないのが現状である。

そこで本研究では、現場海域における防除対策を確立するために水槽および現場での宿主からの離脱時刻、宿主への寄生時刻および本虫の拡散状況等について調査・実験を行い、本虫の生態特性を明らかにした。

材料および方法

供試魚 マダイ当歳魚およびイシダイ *Oplegnathus fasciatus* 当歳魚を用いた。

海産白点虫の継代 当試験場の魚病研究棟内に設置した1t円形水槽を海産白点病感染水槽（以下、感染水槽）とし、これに10尾のマダイ当歳魚（以下、マダイ）を収容して本疾病に感染したマダイを同居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、マダイを宿主として継代した。

1. 水槽実験

離脱虫体の拡散状況 屋外角形コンクリート水槽

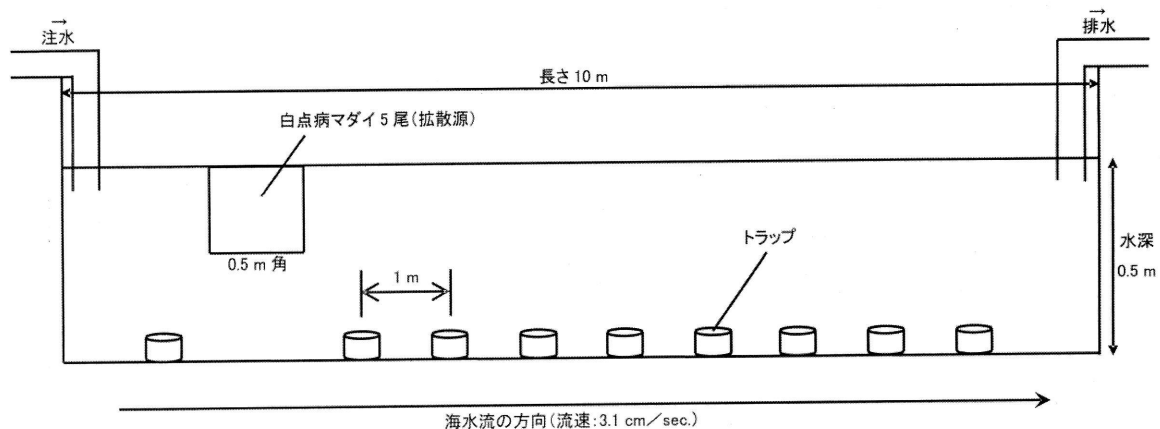


図1 離脱虫体の拡散状況に関する実験

*和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場 (Fisheries Experimental Station, Wakayama Research Center of Agriculture, Forestry and Fisheries, 1557-20 Kushimoto, Kushimoto-cho, Higashimuro-gun, Wakayama 649-3503, Japan) .

(幅4×長さ10×水深0.5 m)に、拡散源として0.5 m角の網かごに白点病マダイ5尾を入れて設置し、離脱虫体を捕捉するセディメントトラップ(以下、トラップ)としてポリエチレン製円筒容器(口径9 cm, 深さ4.5 cm)を拡散源より1 m注水側に1個、排水側に1 m間隔で8個設置した(図1)。

トラップは24時間後に回収して内容物をホルマリン固定(1 %M/M)し、実体顕微鏡下で虫体を計数した。なお、水槽内の一定点で測定した流速は3.1 cm/sec.であり、実験期間中の水温は26.7～28.4 °Cであった。実験は2005年9月13日から14日に実施した。

感染源からの距離による宿主への寄生状況 前実験と同じ屋外コンクリート水槽に、感染源として白点病マダイ5尾を0.5 m角の網かごに入れて設置した。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)に、健康マダイ10尾を入れた0.5 m角の網かごを2個設置し、寄生状況を調べた(図2)。なお、この実験は同時に行わず、距離ごとに分けて行った。健康マダイの設置期間は7日間とし、回収した後、速やかに光学顕微鏡を用いて鰓25 mm²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、水槽内の一定点で測定した流速は3.1 cm/sec.であり、実験期間中の水温は24.6～26.3 °Cであった。

宿主からの離脱時刻 感染水槽の底面3箇所

し、前述と同様にサンプルの固定を行った後、実体顕微鏡下で計数した。なお、各時間帯の離脱虫体数を3個のトラップの平均値で算定し、24時間で捕捉された全虫体数に占める割合(宿主離脱率)を算出した。実験期間中の水温は26.8～27.1 °Cであった。

宿主への寄生時刻 感染水槽内にトリカルネットかご(直径20 cm, 深さ35 cm)を設置し、2005年9月20日12:00から翌21日12:00まで3時間ごとに20尾の健康インダイを収容・回収した。回収したインダイは時間帯ごとに別々の水槽に移して9月30日まで観察し、死亡状況から寄生時刻を検討した。なお、実験期間中の水温は26.1～27.4 °Cであった。

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 °C)を満たし、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、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/min.)を良永⁷⁾の方法により算出した。

水流による感染防除効果の検討 2 t 循環水槽(水深0.5 m)に0.5 m角の網かごを設置し、中に白点病マダイ10尾と健康マダイ(スパゲティタグにより標識)10尾を同居させ、水槽の一方から流速が1.8,3.3および6.9 cm/sec.となるように注水し、流速ごとに本疾病による健康マダイの死亡状況を8日～14日間観察した(図3)。なお、死亡魚は細菌・ウイルスチェックと体表および鰓の検鏡を行い、死因が本疾病であることを確認した。実験は2006年10月23日から12月23日にかけて実施し、実験期間中の水温は19.5～

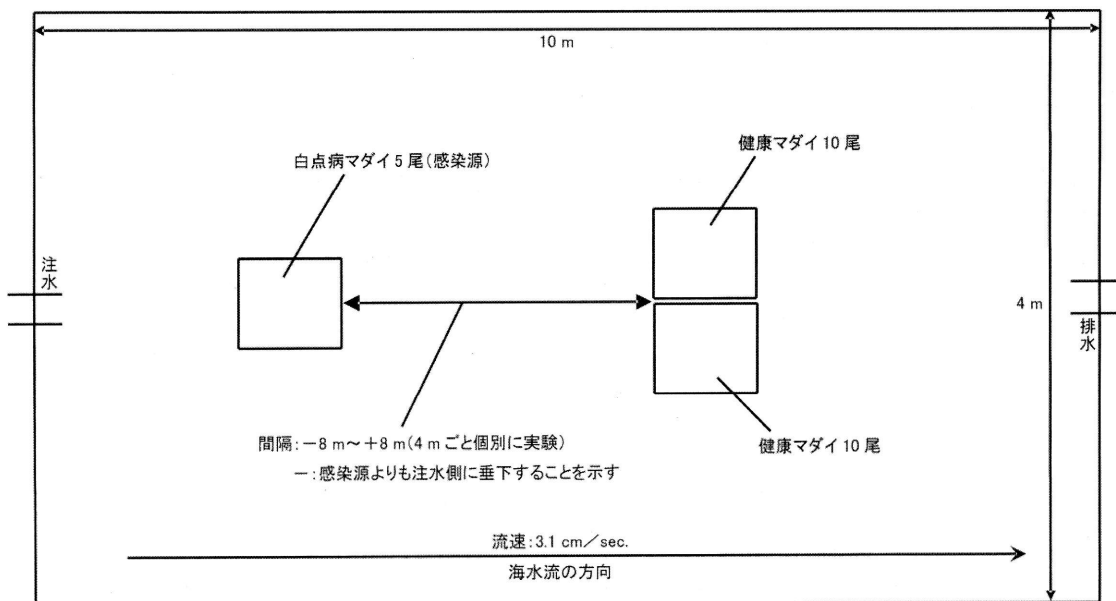


図2 白点病マダイからの距離と健康マダイへの寄生数に関する実験

海産白点虫 *Cryptocaryon irritans* の動態

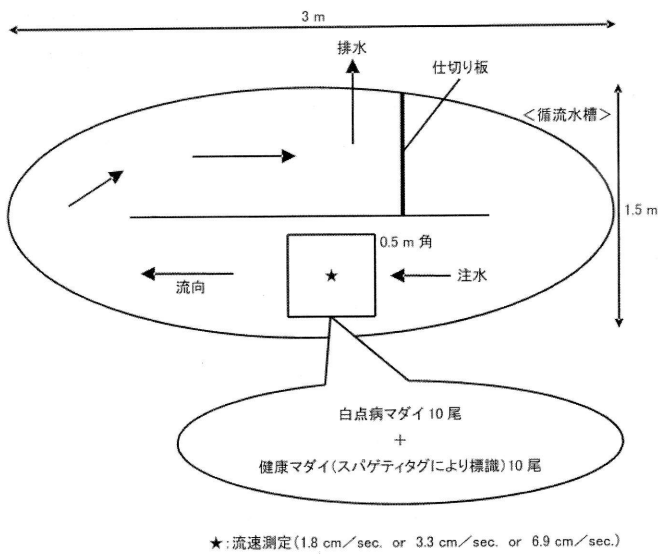


図3 水流による感染防除実験

イ養殖場において、養殖小割網(直径30 m, 深さ10 m)の周囲4箇所の網底より5 m下にトラップ(口径9 cm, 深さ21 cm)を垂下し、離脱虫体を捕捉した。調査は2005年10月24日9:00から24時間実施し、トラップの垂下・回収時刻、サンプルの固定および検鏡は水槽実験と同様とした。なお、実験期間中の水温は22.1～23.2℃であった。

宿主への寄生時刻 本疾病発生中の田辺湾の養殖場において、イシダイ養殖小割網(直径30 m, 深さ15 m)の周囲4箇所の水深10 m層に巾着型網かご(直径0.45 m, 深さ0.4 m)を設置し、健康マダイ5尾を収容して感染状況を調べた。調査は2006年9月8日12:00から24時間行い、健康マダイは3時間ごとに収容・回収し、水産試験場へ輸送して時間帯ごとに100 l水槽で飼育した。飼育開始後、3日目から水槽底面にトラップを設置し、マダイから離脱する虫体を96時間捕捉した。水槽実験と同様にサンプルの固定と計数を行い、離脱虫体数をもってイシダイ養殖小割網周辺での感染の度合いを検討した。なお、実験期間中の水槽の水温は24.5～25.3℃であった。

23.5℃であった。

2. 現場実験

宿主からの離脱時刻 本疾病発生中の田辺湾のマダ

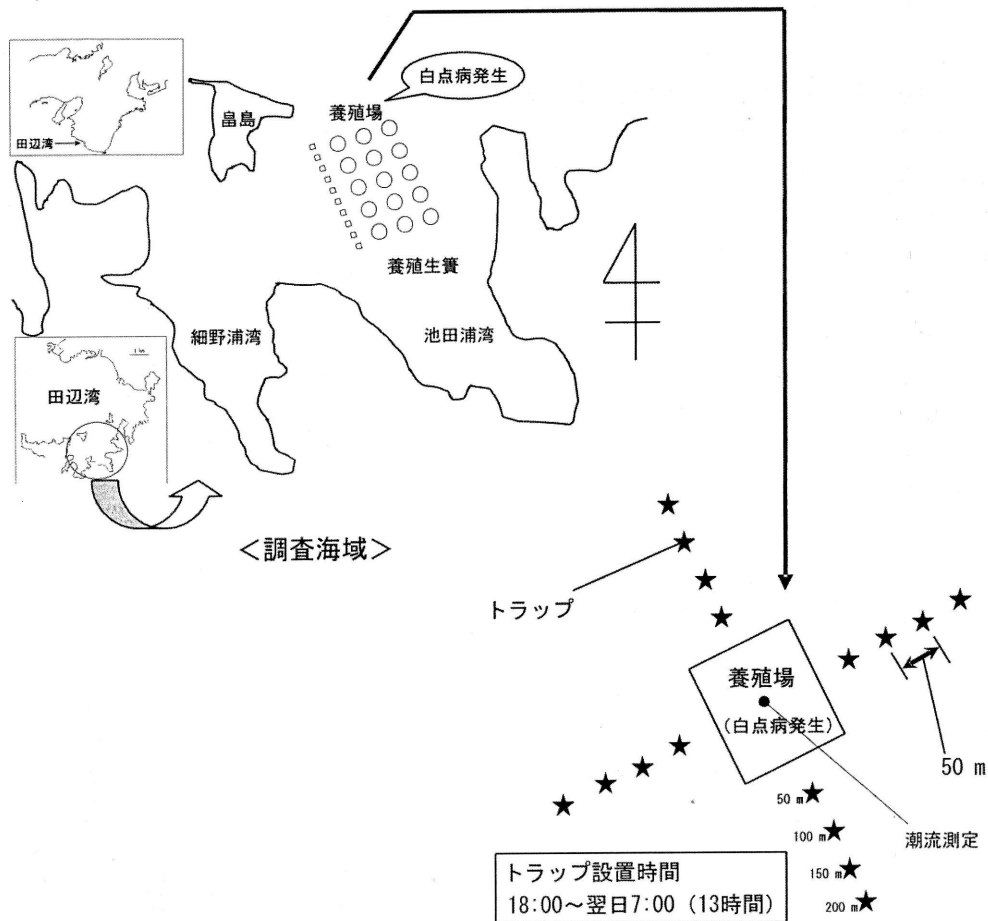


図4 離脱虫体の拡散状況に関する現場実験

離脱虫体の拡散状況 前出の養殖場にある生簀群 (200 × 230 m) の周辺に 16 定点を設定して行った。調査海域の状況を図 4 に示す。各定点の水深 10 ~ 15 m 層に 2006 年 9 月 19 日 18 時から翌日 7 時までトラップ (口径 9 cm, 深さ 21 cm) を設置し、回収後、前述と同様にサンプルの固定を行い、実体顕微鏡下で離脱虫体を計数した。また、電磁流向流速計 (アレック電子株式会社製、型式: ACM210-D) を用いて潮流の流速および流向を生簀群の中央部で「干潮時」、「干潮から満潮へ向かう中間時」、「満潮時」および「満潮から干潮へ向かう中間時」に水深 1 m, 5 m, 10 m および 15 m 層で測定した。調査時の水温は 24.5 ~ 24.9 °C であり、流速は 1.5 ~ 5.5 cm/sec. の範囲であった。

結果および考察

1. 水槽実験

離脱虫体の拡散状況 本虫離脱虫体の拡散状況を図 5 に示す。拡散状況は、拡散源から 3 m 下流の地点をピーク (宿主離脱数 490 個体 / トラップ, 宿主離脱率 40 %) に放物線状の分布を示した。拡散源近くでの捕捉が少なく、3 m 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運ばれて到達した結果であると思われる。

感染源からの距離による宿主への寄生状況 健康マダイへの本虫の距離別寄生数を図 6 に示す。寄生数は、感染源から 4 m 排水側の地点に設置したマダイが最も多く、平均 55 個体 / 鰓 25 mm² であった。なお、感染源より 8 m 排水側の地点に設置したマダイにも平均 38 個体 / 鰓 25 mm² の寄生が認められたことから、感染幼虫は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 (-4 m および -8 m 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。

宿主からの離脱時刻 水槽での宿主からの離脱状況を図 7 に示す。虫体の離脱は 0:00 ~ 3:00 が最も多く、宿主離脱率は 61 % (宿主離脱数 121 個体 / トラップ) であった。3:00 ~ 6:00 でも 17 % の離脱 (同 34 個体 / トラップ) が見られたが、6:00 ~ 15:00 の間ではほとんど離脱しなかった。本調査結果における離脱のピークは、ボラ *Mugil cephalus* やブラックモーリー *Poecilia latipinna* での事例^{6,7)} よりも 3 時間程度早かった。しかし、宿主からの離脱のピークが夜間に見られたことは良永⁵⁾ の報告とも一致し、一定の日周リズムがあることが示された。

宿主への寄生時刻 感染時刻の実験に供したインダイの累積死亡率の推移を図 8 に示す。0:00 ~ 3:00 に設置したインダイは 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 に設置したインダイでは 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つ

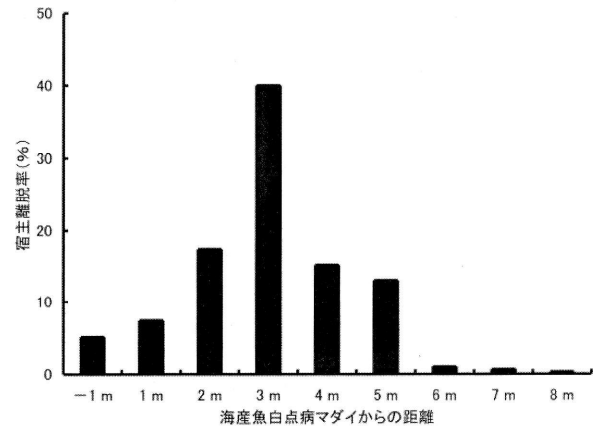


図 5 水槽実験における海産白点虫離脱虫体の拡散状況 (-1 m は感染源よりも上流側 (注水側) に設置したトラップを示す)

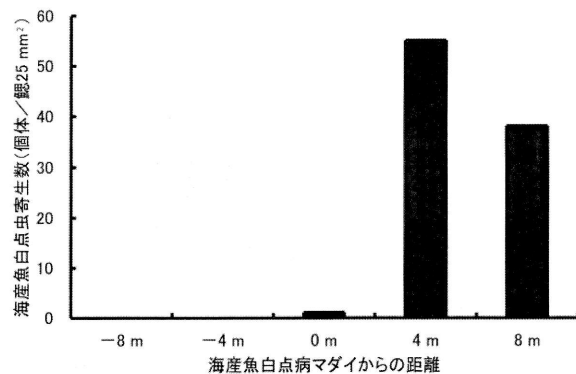


図 6 水槽実験における海産白点虫感染幼虫の拡散状況 (-8 m および -4 m は感染源よりも上流側 (注水側) に設置したマダイを示す)

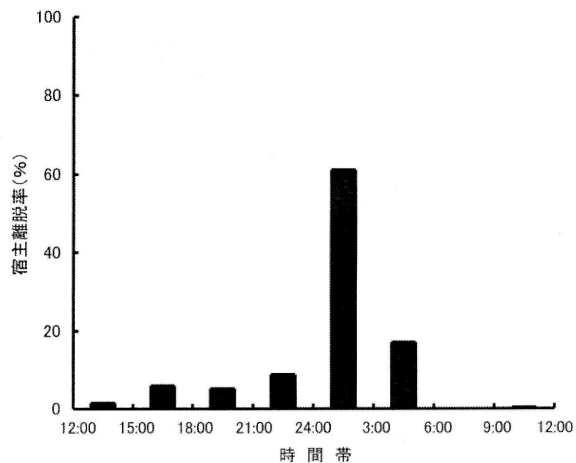


図 7 水槽実験における宿主からの海産白点虫離脱時刻

海産白点虫 *Cryptocaryon irritans* の動態

た．従って, 21:00～翌3:00の間に多数の感染幼虫による寄生を受けていたことが考えられる．本実験では宿主への感染のピークは深夜であり, ボラやブラックモーリー^{6,7)}と比較すると, 離脱のピークが見られたのと同様の結果となった．なお, 18:00～21:00に設置したインダイは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, 設置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．

離脱虫体の沈降速度 マダイから離脱した虫体の長径と沈降速度の関係を図9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($y=0.0007x-0.0725, R^2=0.742$)が見られ, 離脱虫体の平均長径は $420 \pm 94 \mu\text{m}$, 平均沈降速度は $0.22 \pm 0.1 \text{ m/min}$ であった．仮に, 網生簀の深さが10mの養殖現場でトラップを水深15m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5mであるた

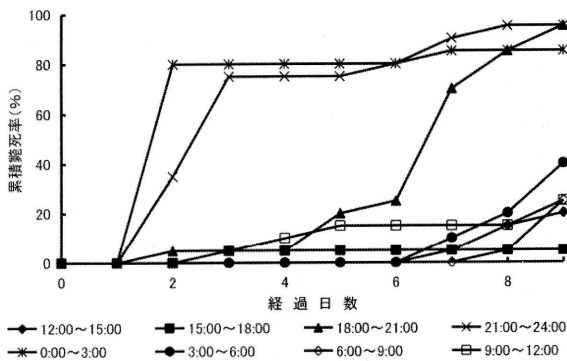


図8 水槽実験における海産白点虫の宿主への寄生時刻

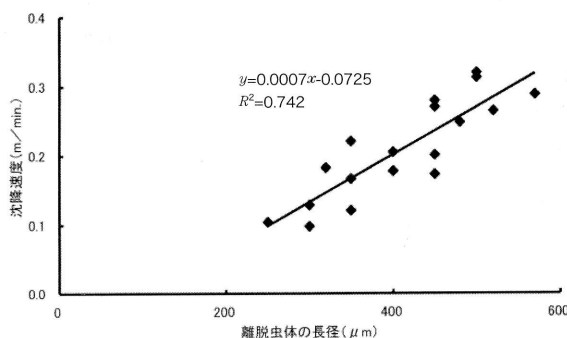


図9 海産白点虫離脱虫体の沈降速度

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．

水流による感染防除効果の検討 図10に流速1.8, 3.3および6.9 cm/sec.の条件下における健康マダイの累積死亡率を示す．流速1.8 cm/sec.の条件下では, 健康マダイは実験6日目から死亡が見られ始め, その後, 急激に死亡率が上昇して8日目には全滅した．また, 流速3.3 cm/sec.の条件下では, 健康マダイは実験11日目と12日目に死亡し, 実験終了時(14日目)の累積死亡率は30%であった．流速1.8 cm/sec.に比べて, 流速3.3 cm/sec.の方が感染を低減する効果は見られるものの, 本疾病を完全に防除することはできなかった．流速3.3 cm/sec.の水流では幼虫の感染を阻害する程度がそれほど大きくなく, 一部の感染幼虫が健康マダイに寄生したと思われる．一方,

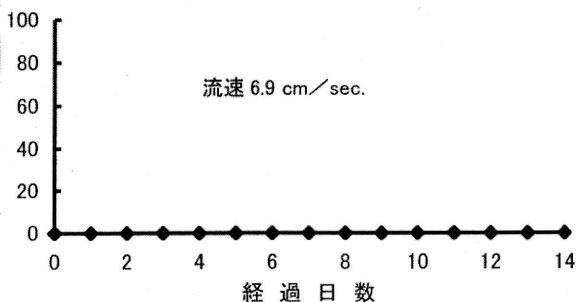
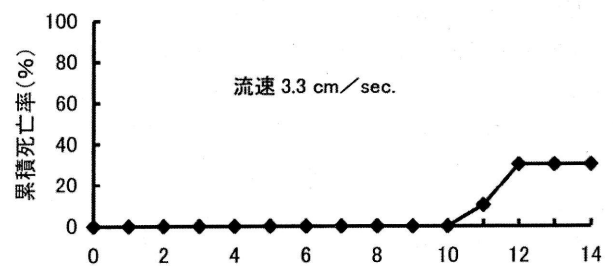
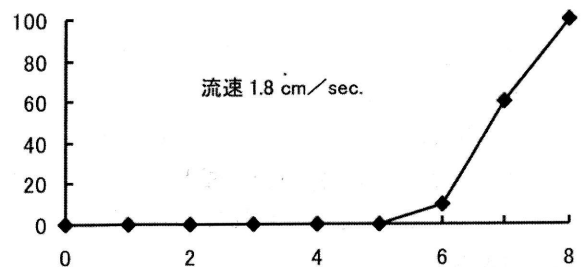


図10 海産白点病マダイと同居させた健康マダイの累積死亡率

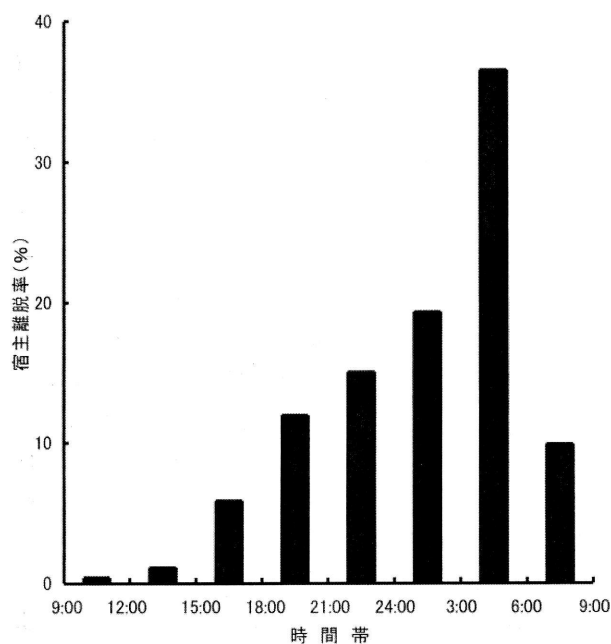


図 11 現場海域における海産白点虫の宿主からの離脱時刻

流速 6.9 cm/sec. の条件下では、実験期間中、健康マダイは全く死亡せず、実験終了時の体表および鰓の検鏡でも本虫の寄生は認められなかった。流速 6.9 cm/sec. の水流では幼虫の感染をほぼ阻害し、感染防除効果が認められたものと考えられる。

2. 現場実験

宿主からの離脱時刻 現場海域での宿主からの離脱状況を図 11 に示す。虫体の離脱数は昼間が少なく、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% (宿主離脱数 15,336 個体/m²) に達したが、その後 6:00～9:00 には 10% (同 4,168 個体/m²) に減少した。これまでの実験結果では、宿主からの離脱時刻のピークは水槽で 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、現場海域でトラップを垂下した層は水深 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日リズムが存在することが示された。

宿主への寄生時刻 本疾病の発生しているイシダイ養殖小割網の周囲で時間帯別に垂下したマダイからの本虫の離脱状況を図 12 に示す。虫体の離脱数は昼間の時間帯に垂下したマダイでは少なく、0:00～3:00 のものにピーク (宿主離脱数 33 個体/トラップ、宿

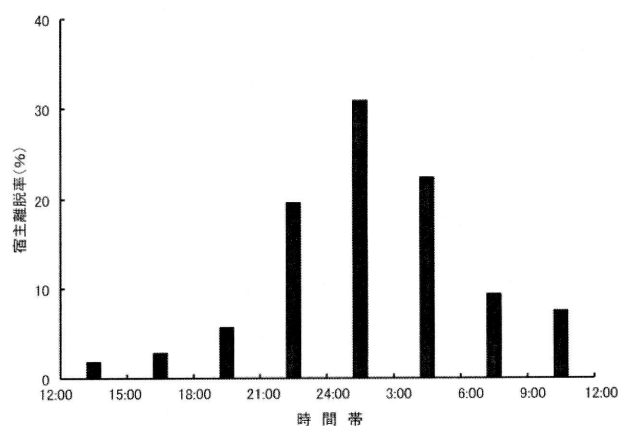


図 12 現場海域における海産白点虫の宿主への感染時刻

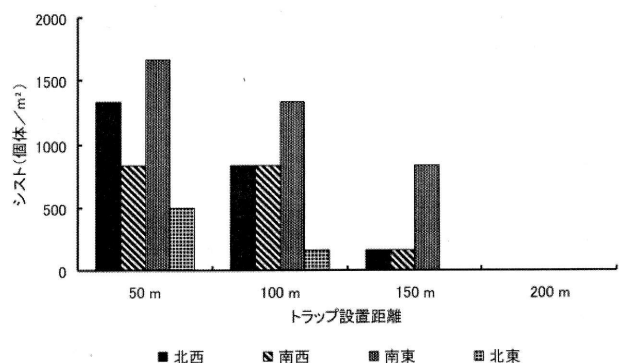


図 13 現場海域における海産白点虫離脱虫体の拡散状況

主離脱率 30.8%) が見られ、この時間帯を中心に感染が起こっていたものと考えられた。現場実験の結果もボラやブラックモーリーでの事例^{6,7)} よりも 3 時間早かったが、イシダイを宿主に用いて水槽で感染時刻を調べた前述の結果とほぼ一致していた。

離脱虫体の拡散状況 現場海域における本虫の離脱虫体の拡散状況を図 13 に、潮流データを図 14 に示す。離脱虫体は養殖場から離れるにつれて捕捉数が少なくなり、200 m 離れた地点に垂下したトラップには捕捉されなかった。従って、今回の海況下では、養殖場から最低でも 200 m は生簀を移動させる必要があると推定された。また、方向別では、南東方向に垂下したトラップに最も多くの虫体が捕捉されていた。前述したとおりマダイを宿主として用いた時の本虫の離脱のピークは深夜であったが、調査時の深夜の潮流 (上げ潮) が概ね南から南東方向であった (図 14) ことが影響したと思われる。

海産白点虫 *Cryptocaryon irritans* の動態

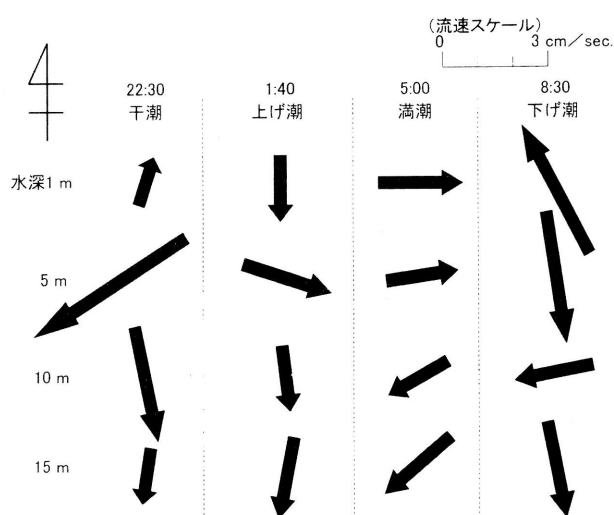


図 14 現場海域における離脱虫体の拡散状況調査時の潮流 (矢印の方向は流向, 長さは流速を示す)

要 約

マダイおよびイシダイを宿主として, 水槽および現場海域において海産白点虫の離脱時刻, 感染時刻および拡散状況等について明らかにした. 本虫の宿主からの離脱および宿主への寄生は, 水槽および現場海域ともに夜間に多かった. 拡散状況は, 水槽では流速 3.1 cm/sec. の条件下で, 感染源から 3 m の地点に離脱虫体が多く拡散しており, 4 m の地点に設置したマダイに最も多く感染していた. 現場海域では, 養殖場から 150 m 地点まで離脱虫体が拡散していたが, 200 m 地点では確認されず, 宿主からの離脱がピークを迎える深夜の時間帯の流向に多くの離脱虫体が見られた.

謝 辞

本研究を進めるに当たり, 有用な助言をして頂きました東京大学大学院農学生命科学研究科水圏生物科学専攻魚病学研究室の良永知義准教授にお礼申し上げます. また, データ収集にご協力頂きました和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場の皆様に感謝申し上げます.

文 献

- 1) 四竈安正. 鹹水性白点病について (予報). 水産学会報 1937; 7: 149-160.
- 2) Wilkie D, Gordon H. Outbreak of cryptocaryoniasis in marine aquaria at Scripps Institute of Oceanography. *Calif. Fish Game* 1969; 55: 227-236.

- 3) Colorni A. Biology of *Cryptocaryon irritans* and strategies for its control. *Aquaculture* 1987; 67: 236-237.
- 4) Kaige N, Miyazaki T. A histological study of white spot disease in Japanese flounder. *Fish Pathol.* 1985; 20: 61-64.
- 5) 良永知義. 海産白点虫 *Cryptocaryon irritans* の防疫と対策. 「月刊海洋号外 No.14 総特集 魚類防疫 - 魚病と人間の関わり -」, 海洋出版株式会社, 東京. 1998; 73-76.
- 6) Yoshinaga T, Dickerson H. Laboratory propagation of *Cryptocaryon irritans* on a saltwater-adapted *Poecilia* hybrid, the black molly. *J. Aquat. Anim. Health* 1994; 6: 197-201.
- 7) 良永知義. 海面魚類養殖場における海産白点虫の感染環に関する研究. 「魚類の新興・再興性疾病における感染環の解明 (課題番号 14206024) 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」 (研究代表者 小川和夫), 東京大学大学院農学生命科学研究科, 東京. 2004; 95-107.