単生類テトラオンクスと藻菌類イクチオホヌスの感染が サケ科幼魚の海水馴致に与える影響^{*1}

宇野 將 義^{*2}

(1989 年 11 月 17 日受付)

Effects of Seawater Acclimation on Juvenile Salmonids infected with *Tetraonchus* (Monogenea) and *Ichthyophonus* (Phycomycetes)

Masayoshi UNO

Aichi Prefectural Sea Farming Center, Ichizenmatsu 1-3, Atsumi,
Aichi 441-36, Japan

(Received November 17, 1989)

Effects of seawater acclimation on juvenile salmonids infected with gill monogeneans, *Tetraonchus awakurai* and *T. oncorhynchi*, and systemic fungus, *Ichthyophonus hoferi*, were investigated.

In the acclimation test from freshwater to 50% seawater, the serum sodium level of *Tetraonchus*-parasitized amago salmon smolts (*Oncorhynchus rhodurus*) increased during the first 24 hours but decreased afterward and reached the same level as in marine fishes (ca. 150 mM) after 4 days, indicating the infection has no negative effect against the seawater adaptation. The two species of *Tetraonchus* died when exposed to 4.5% NaCl for 10 min. or 2.5% NaCl for 60 min. This result indicated that they are eradicated in seawater during the course of seawater acclimation.

In *Ichthyophonus*-infected juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), on the contrary, the serum sodium level increased rapidly and exceeded 200 mM with 95% mortality after transfer to 100% seawater for 4 days. Apparently, *Ichthyophonus* was not affected by exposure of trout to seawater or the increment of the host NaCl level.

サケ科魚を放流あるいは養殖用種苗として、淡水から海水に移行して馴致する試みは広く行われている。サケ科魚類は塩分適応能が高いが、急激な淡水からの海水移行はストレスとなることが指摘されている (ELLIS, 1981)。このような環境変化に伴うストレス状態におかれた魚に、寄生体の感染があった場合には、その負荷がさらに増大し、適応への影響が心配される。実際、鞭毛虫 *Ichthyobodo necator* の寄生が大西洋サケや我が国のサケの海水馴致に影響を与えることが報告されている (ELLIS and WOOTTEN, 1978; 浦和, 1985)。

愛知県水産試験場で数種のサケ科魚類を海水養殖のために、海水馴致する実験を行っていたところ、単生類テトラオンクスと藻菌類イクチオホヌスに感染した魚を用

いる機会があった。我が国においては、テトラオンクス症による被害例は北海道産のヤマメで報告されている (栗倉, 1966)。一方、イクチオホヌス症は淡水魚、海水魚で数多く見られる。サケ科魚類はアマゴ、ヤマメの数例を除いては、ほとんどニジマスで蔓延しており、被害は 11 都道府県に及んでいる^{*3}。ニジマス海水養殖用種苗として用いる場合、イクチオホヌス感染魚が混入する機会が多くなるものと考えられる。また、イクチオホヌス感染魚へのへい死は慢性的であったが、選別によるストレスや酸素不足の場合には、へい死の増大があるとも言われる (鈴木・大渡, 1974)。従来、テトラオンクスやイクチオホヌス感染魚の海水移行による塩分適応への影響は検討されていない。そのため、これらに感染していた 2 種類のサケ科幼魚の海水適応性を実験的に検討し、あわせて寄生体の塩分抵抗と海水駆除効果を調べた。

^{*1} 本研究は平成元年度日本水産学会春季大会において発表した。

^{*2} 愛知県栽培漁業センター

^{*3} 第 12, 13 回全国養鱒技術協議会要録 (1987, '88)

Table 1. Changes in number of *Tetraonchus* spp. on amago salmon smolts after seawater bath*

Pond name	Water temp. (°C)	Bath period (hr.)	Elapsed time (hr.)	Number of fish	Number of parasites on gills (Mean±S.D.)
A	13.5	0	0	6	108.3±38.7
		3	2	7	39.4± 9.6
		3	48	5	0
B	14.0	0	0	5	176.4±36.5
		2	48	3	0

* The salinities in pond A and B were 34.7‰ and 32.7‰, respectively, during the seawater bath period.

材料と方法

供試魚

単生類のテトラオンクス寄生魚は愛知県水産試験場鳳来養魚場において継代飼育されていた 0⁺ 年魚アマゴ *Oncorhynchus rhodurus* のスモルト (平均魚体重 66.0 g, 約 2000 尾) である。外観上の異常は認められなかったが、鰓に 2 種類のテトラオンクスが 1 尾当たり平均 103.4 個体寄生していた (1984 年 11 月 24 日, 検査個体数 20 尾)。虫体の大きさ, 後固着盤の形態的特徴から *Tetraonchus awakurai* と *T. oncorhynchi* に同定された。対照群には他の民間養魚場で飼育されていた, 同年齢のアマゴスモルトで健康と思われる非寄生の魚を用いた。イクチオホヌス症の供試魚は愛知県内の民間養魚場で飼育していた 0⁺ 年魚ニジマス *Oncorhynchus mykiss* (平均魚体重 25.0 g) である。外観上は眼球の突出と腹部膨満, 体表の出血点および鰓の貧血が認められる個体が多く, 剖検的にも心臓, 脾臓, 腎臓等に結節が見られ, 特に腎臓の退色と腫脹が著しかった。また, 光学顕微鏡では, それらの諸器官に多数の *Ichthyophonus hoferi* の多核球状体が観察された。対照群には他の民間養魚場で飼育されていた, 健康と思われる非感染の魚を用いた。

実験 1 海水馴致実験

2 つの寄生体の試験群と対照群の供試魚 65 尾ずつを 2 m² コンクリート水槽内で淡水から直接 50% 海水 (平均塩分濃度 17.2‰, 平均水温 16.5°C) に移し, 4 日間の馴致飼育を行った。その間, 8 時間ないし 12 時間毎に各群の供試魚を 3 尾ずつ取り上げ, 約 150 ppm MS 222 で麻酔し, 魚体測定後, 尾柄部動脈から注射器により採血した。その試料から遠心分離 (3000 rpm×15 min) により血清を得, 原子吸光分析法 (日立 170-50A 型) で, Na 濃度を測定した。

さらに, 50% 海水へ移行した 48, 96 時間後に 100% 海水を毎分 0.3 l 注水した (34.7‰, 14.4°C) 別々の 100 l

角型塩化ビニール水槽へ両供試魚 12 尾を移行させ, その 24, 96 時間後に, 同様, 血清 Na 濃度を測定すると共に, 死亡率を求めた。

実験 2 海水による駆除実験

テトラオンクス寄生のアマゴスモルトを 4.5 m² (A 池), 4.0 m² (B 池) の 2 つのコンクリート水槽に, それぞれ 88 尾/m², 25 尾/m² ずつ収容して淡水で飼育中, それぞれ日間死亡率 3.2, 1.3% の散発的なへい死があった。飼育環境は平均溶存酸素量 7.94 ppm (飽和度 80.6%), 平均水温 14.4°C であり, 剖検では鰓のテトラオンクス寄生以外, 異常は認められなかった。そこで, へい死が増加した 6 日後に A 池, 5 日後に B 池の飼育水を全換水し, 2 時間ないし 3 時間の海水浴による駆除を試みた (Table 1)。

さらに, テトラオンクスの致死塩分濃度を求めるため, NaCl が 1.0% から 5.0% となるように 0.5% 間隔に希釈した液を調整した。アマゴスモルト 20 尾からテトラオンクスが寄生している鰓 (平均寄生数 34.4 個体) を採取して, 淡水中で血液等を洗浄した後, 10 分間または 60 分間, 対照の NaCl 濃度 0% も含め, 計 10 段階の濃度の試験液中へ浸漬した。その後, 再度, 淡水中へ各鰓を戻し, 20 分後にシャーレ内で, 鰓を左右に振り, 脱落して動かなくなった個体, あるいは鰓葉中で固着盤を外して動かなくなった個体等を死亡した虫体として生残率を求めた。実験は反復して行った。

前記, 海水馴致実験で 50% および 100% 海水から経時的に取り上げたイクチオホヌスの感染していたニジマス 3 尾の個体から血清採取と同時に, 24 時間以降の各個体については鰓, 心臓, 腎臓の組織を圧扁標本にし, 光学顕微鏡 150 倍 1 視野当りの寄生体数を 5 回検鏡した。これを 5 回繰り返して, 平均多核球状体数を調べた。

実験は 1984 年 11 月から 12 月にかけて, 静岡県浜名郡舞阪町の東京大学農学部付属水産実験所において行った。

Fig. 1. Changes in serum sodium level of amago salmon smolts infected or uninfected with *Tetraonchus* after transfer from freshwater to 50% or 100% seawater. Data are indicated as mean $\pm$ S.D. (solid line, 50% seawater; dotted line, 100% seawater). ● Fish with *Tetraonchus*, ○ Fish without *Tetraonchus*.

Fig. 2. Changes in serum sodium level of juvenile rainbow trout with or without *Ichthyophonus* from freshwater to 50% or 100% seawater. Data are indicated as mean $\pm$ S.D. (solid line, 50% seawater; dotted line, 100% seawater). ■ Fish with *Ichthyophonus*, □ Fish without *Ichthyophonus*.

結 果

海水適応に対する寄生体の影響

テトラオクス症のアマゴスモルト: 50%海水での馴致飼育における試験群および対照群の血清 Na 濃度は移行 8 時間から 16 時間後に 160 mM に増加するものの、その後は漸次減少し、96 時間後にはほぼ海水魚と同じレベルの 150 mM 程度になり、両群の変化には顕著な差は

認められなかった。また、48 時間後と 96 時間後に 100%海水へ移行した場合には、その 24 時間後には試験群の血清 Na 濃度の増加が目立ったが、96 時間後には対照群同様、ほぼ海水魚レベルの 150 mM 前後に低下した (Fig. 1)。そして、100% 海水移行に伴う両群のへい魚は全く見られなかった。

イクチオホヌス症のニジマス: 50%海水での馴致における血清 Na 濃度は移行 8 時間後には 180 mM に急増

Fig. 3. Changes in mortality of juvenile rainbow trout with or without *Ichthyophonus*, which were transferred to 100% seawater after acclimated for 2 days (solid line) and 4 days (dotted line) in 50% seawater. ■ Fish with *Ichthyophonus*, □ Fish without *Ichthyophonus*.

Fig. 4. Changes in mortality of amago salmon smolt infected with *Tetraonchus* in two ponds (A, B) by seawater bath method. Arrows indicate the day of seawater bath treatment.

し、その後、若干の低下は見られたものの、96 時間後でも、170 mm 程度と高いままであった (Fig. 2)。さらに、48 時間、96 時間後に 100% 海水へ移行した供試魚の血清 Na 濃度は 200 mm 以上に急増し続け、低下する傾向は見られなかった。それに対し、対照群の血清 Na 濃度は試験群同様、移行 8 時間後に増加するものの、158 mm と低く、その後も余り増加することなく、ほぼ海水魚レベルで推移した。また、48 時間、96 時間後の 100% 海水移行でも大きな変化は見られず、海水魚レベルの 150 から 160 mm の範囲であった。そして、両群の変化には

Fig. 5. Changes in survival of *Tetraonchus* spp. in different NaCl concentrations. Solid and dotted lines represent first and second experiments, respectively. ● 10 min-soak fish, ○ 60 min-soak fish.

BARTLETT と DUNCAN の検定法において、有意差 ($P < 0.05$) が認められた。また、100% 海水移行に伴う両群の死亡率は試験群と対照群には明らかな差があり、両群における移行 96 時間後の死亡率は 48 時間後移行、96 時間後移行の試験群で 91.6%, 83.3%, 対照群で 25.0%, 8.3% となった (Fig. 3)。

海水による駆除効果

テトラオンクス寄生のアマゴ: 海水浸漬による駆虫の可能性を見るために、淡水飼育のアマゴスモルトを一定時間、飼育水を海水に入れ替える方法で海水浴を行った (Table 1)。その後は再び淡水を注入した。A 池においては 3 時間の海水浴で、開始時に供試魚 1 尾当りの鰓 4 枚で平均 108 個体、寄生していた虫体数は 2 時間後 39 個体、そして 48 時間後には 0 個体となった。B 池においても同様、2 時間の海水浴で虫体数は開始時 176 個体、48 時間後 0 個体となった。そして、海水浴後は両池の蓄養魚のへい死は止まった (Fig. 4)。

そこで、希釈 NaCl 液により、テトラオンクスの致死塩分濃度を求めたところ、1.5% での 10 分間浸漬では全くへい死が見られなかったが、同濃度 60 分間浸漬で平均 91% の生残率であった (Fig. 5)。しかし、10, 60 分間浸漬区とも塩分濃度が増すにつれて生残率が低下し、4.5% NaCl 10 分間浸漬、2.5% NaCl 60 分間浸漬により総ての虫体がへい死することが確認された。一方、淡水

Table 2. Changes in number of *Ichthyophonus* multinucleate bodies in juvenile rainbow trout after transfer from freshwater to 50% or 100% seawater

Seawater concentration	No. Of fish	Gills	Heart	Kidney
Freshwater	6	0.8±0.4*	8.2±2.2	10.5±5.2
50%	21	1.2±0.4	6.8±2.1	11.0±3.5
100%	12	1.4±0.7	8.5±3.0	13.1±4.2

* Mean±S.D. of 5 counts at magnification of $\times 150$.

中ではへい死を見なかった。反復実験の結果も、ほぼ同様な塩分抵抗性を示した。

イクチオホヌスが全身に感染したニジマス：淡水時および 50% 海水での馴致と途中の 100% 海水へ移行した供試魚の多核球状体数は淡水時に比べ、海水移行後の寄生数もあまり変化はなく、有意差は認められなかった ($P>0.05$, Table 2)。

考 察

テトラオンクス症のアマゴスモルトの 50% および 100% 海水での馴致飼育では、寄生魚、対照群ともに血清 Na 濃度の一時的な増加は見られるものの、96 時間後には両群とも 150 mm 前後と海水魚と同じレベルとなることや、その供試魚に全くへい死の見られなかったことから、テトラオンクスの寄生は海水適応に対し、悪影響を及ぼさないものと思われた。

また、テトラオンクスの 100% 致死塩分濃度は 2.5% NaCl, 60 分間, 4.5% NaCl, 10 分間であり、前述した 2 つの駆虫例においても、2, 3 時間の海水浴により魚のへい死が止まったことから見て、テトラオンクスは海水馴致中に駆除されることが分かった。テトラオンクスの寄生は宿主魚の飼育密度や飼育方法に影響され (OGAWA and EGUSA, 1985), 多数寄生が呼吸困難をもたらし、魚をへい死させる (栗倉, 1966) と言われているが、海水馴致中に速やかに駆除され、アマゴの海水適応にはほとんど影響しないと考えられた。

イクチオホヌス症のニジマスにおける海水馴致飼育では開始直後から血清 Na 濃度が大きく増加した。その上、Na 濃度は時間経過による低下は見られず、非感染の対照魚との間に、有意な差 ($P<0.05$) が認められた。また、100% 海水移行による供試魚の死亡率も、4 日後の対照群の平均 16.7% に対し、試験群では平均 87.4% と大きな差が見られた。これらのことはイクチオホヌスが、腎臓や鰓を含む全身的な感染によって、浸透圧調節を阻害し、その海水適応に悪影響を与えているものと推察された。イクチオホヌスの寄生は多くの海水魚から報

告されている (江草, 1978; HENORICKS, 1972; 簡ら, 1979) ことから考えても、海水移行による魚へのストレスが、感染を増悪させることはあっても、その駆除効果は期待できないものと思われた。

謝 辞

本研究を進めるに当って、実験の協力をいただいた東京大学農学部水産学科水産学第 2 講座ならびに同大学付属水産実験所の各位、本原稿を校閲いただいた同講座、小川和夫博士に感謝する。

文 献

- 栗倉輝彦 (1966): 養殖ヤマメに寄生した単生吸虫類について, 魚病研究, **1**, 2-4.
- 江草周三 (1978): 魚の感染症, 恒星社厚生閣, 東京, 313-319.
- ELLIS, A. E. (1981): Stress and the modulation of defence mechanisms in fish. In "Stress and fish" (ed. by A. D. PICKERING). Academic Press, London. pp. 174-169.
- ELLIS, A. E. and R. WOOTTEN (1978): Costiasis of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. somlts in sea water. *J. Fish Dis.*, **1**, 389-393.
- HENDRICKS, J. D. (1972): Two new host species for the parasitic fungus *Ichthyophonus hoferi* in the Northwest Atlantic. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **29**, 1776-1777.
- 簡 筆衡・宮崎照雄・窪田三朗 (1979): 魚類のイクチオホヌス症に関する研究—IV, 自然感染魚の比較病理組織学的観察, 三重大学水産学部研報, **6**, 129-146.
- OGAWA, K. and S. EGUSA (1985): *Tetraonchus* in ffection of masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *Fish Pathol.*, **19**, 215-223.
- 小野 威・兼子樹広・栗倉輝彦・青梅昭紀 (1966): 日本におけるニジマス (*Salmo gairdnerii irideus* GIBONS) の *Ichthyosporidium* disease に関する病理学的研究, 北海道ふ化場研報, **21**, 43-55.
- 鈴木 栄・大渡 斎 (1974): 県内に発生した *Ichthyosporidium* 症について (資料), 埼玉水試研報, **33**, 57-61.
- 浦和茂彦 (1985): サケ・マスの寄生虫—I) コスチア症について, 魚と卵, **35**, 43-48.