養殖ウナギの鰓に寄生する *Pseudodactylogyrus microrchis* (単生目)—II

産卵、孵化及び宿主上での發育

今田 良造・室賀 清邦

(1977 年 12 月 3 日受理)

Pseudodactylogyrus microrchis (Monogenea) on the Gills of Cultured Eels—II Oviposition, Hatching and Development on the Host

Ryozo IMADA*¹ and Kiyokuni MUROGA*²

The influence of water temperature on oviposition, hatching and development of *P. microrchis* were studied.

The results obtained are as follows:

1) The average number of eggs laid by an individual parasite per day was 1.2 at 10°C, 9.6 (4.9-19.0) at 20°C and 7.7 (3.0-9.8) at 28°C, respectively.

2) The oncomiracidium of the species hatched out mostly in 5-8 days at 20°C and 2-5 days at 28-30°C, but did not hatch out at 10°C in the experimental period of 40 days.

3) A *Pseudodactylogyrus*-free eel (*A. anguilla*) was brought into contact with the swimming oncomiracidia in a small aquarium, and sequential observations of the young forms attaching to the host were made at 28°C. As a result, the young stages could be divided into 5.

Stage 1 (0-1 day after attachment to the host): the shape and the size of the anchor were almost the same as those of the swimming larva (oncomiracidium). Stage 2 (1-2 days): the anchor developed in size. Stage 3 (2-3 days): the bar of the anchor appeared. Stage 4 (3-4 days): the ventral and the dorsal processes of the anchor appeared. Stage 5 (4-6 days): the reflexed part of the ventral process was formed.

In 6-7 days after attaching to the host, the worm became adult morphologically, and actually laid eggs.

前報¹⁾で広島大学構内の実験水槽及び徳島県下の養殖場で飼育されていたヨーロッパウナギ (*Anguilla anguilla*) における *Pseudodactylogyrus microrchis* の寄生数の季節的变化について報告した。それによれば, *P. microrchis* は夏から秋にかけてその寄生数が最高になるという明らかな季節的变化が認められ, 本種の出現には水温が大きく影響していることが示された。そしてこの変化は主として本種の生殖生態, すなわち産卵, 孵化及び宿主上での發育などのすべてもしくはいずれかに水温が影響を与えるために生じるものと考えられた。

そこで本研究では *P. microrchis* の産卵, 孵化及び宿主上での發育と水温の関係について検討を行つてみた。

材料および方法

産卵および孵化 材料魚として広島大学水畜産学部構内で飼育されていたヨーロッパウナギ (全長 12.0~23.6 cm, 体重 9.2~17.1 g) を用い, 1976 年 4 月から同年 12 月にかけ数回の実験を行つた。これらのウナギはすべて大学構内の井戸水 (chlorinity 1.03~1.90‰) を用いて飼育されていたが, *P. microrchis* の産卵実験及び發育実験には汚過した井戸水を, また孵化実験には滅菌したものをそれぞれ用いた。

まず *P. microrchis* の産卵数を調べるために, 予備的な検査から本種のみが寄生していると判断されたヨーロッパウナギの魚群の中から 1 ないし 3 尾取りあげ, 井戸水を入れた小ガラス水槽に 24 時間収容した。ウナギを

*¹ 福井県水産試験場 (Fukui Prefecture Fisheries Experimental Station, Tsuruga, Fukui, 914).

*² 広島大学水畜産学部 (Faculty of Fisheries and Animal Husbandry, Hiroshima Univ., Fukuyama, Hiroshima, 720).

水槽から取り出した後、その水槽中に産みだされた本種の卵をすべて採集し計数した。一方実験に供したウナギの鰓葉を精査し、寄生していたのが *P. microrchis* のみであったことを確認するとともにその成体数を数え、先に得られた水槽中の卵数とから本種1個体・1日当りの産卵数を算出した。実験水温としては約 10°C (9.0~11.0°C), 20°C (18.9~22.8°C) 及び 28°C (27.0~29.0°C) の3段階を設け、各水温につき数回の実験を行った。また実験中は通気を行った。なお各水温区の供試魚は各々の実験水温とほぼ同じ水温の下で1か月以上予備飼育されていた。

次に上記の方法で得られた *P. microrchis* の卵を 10~20 個ずつまとめて井戸水を入れたシャーレに収容し、10°C、20°C 及び 28~30°C の恒温器に入れて各々の孵化を観察した。この実験も各温度につき数回行い、実験に供した卵数の合計は 10°C で 39 個、20°C で 45 個、28~30°C で 82 個であった。なおこの孵化実験には各々の孵化実験水温と同じ水温下で産みだされた卵を用いた。すなわち、例えば 10°C での孵化実験には 10°C で産みだれた卵を用いた。また本実験で使用した恒温器の扉はガラス製であったため、恒温器内には室内とほぼ同程度の光があたっていたと考えられるが、それ以外の特別な照明は行わなかった。孵化の観察は毎日1回ずつ行い、その際水質の悪化を防止するために飼育水を新しい水と交換した。また孵化数については孵化した遊泳幼生 (oncomiracidium) を観察するとともに、幼生が遊出して空になった卵殻数を数え確認した。

宿主上での発育 ここではまず薬浴により人為的に非感染魚群を作り、これらの魚群に *P. microrchis* を感染させ、その後の本種の宿主上での発育を調べた。

まずヨーロッパウナギ 120 尾をプラスチック水槽に収容し (水温 26.0~28.0°C)、これらの魚群に対してトリクロルホン 0.5 ppm・24 時間薬浴を中4日おいて2回行った。2回目の薬浴を行ってからさらに9日間放置した後、これらの魚群の中から無作為に 10 尾の魚を取りあげそれらの鰓葉を調べたところ *Pseudodactylogyrus* の寄生は全く認められなかったため、残りの 110 尾を非感染魚とみなし実験材料魚とした。これらの非感染魚群から 31 尾の魚 (全長 10.1~18.2 cm, 体重 0.9~6.0 g) を取りあげ、それまで *P. microrchis* 感染魚 1 尾 (全長 36.2 cm, 体重 29.7 g) を飼育していたプラスチック水槽 (容量約 20 l) に 24 時間収容し本種の幼生の感染を計った。すなわち感染魚に寄生していた *P. microrchis* が産出した卵から孵化した本種の遊泳幼生に非感染魚を接触させることによつて感染させた。次にこのようにして感染させた魚を別に用意した水槽に収容し、これらの魚の中から毎日 3 尾ずつを取りあげその鰓葉に寄生して

いた本種の発育状況を調べた。寄生していた *P. microrchis* は 5% ホルマリンで固定し、ピクリン酸アンモニウム・グリセリン混液 (1:1) で染色を施すか、あるいはシャウジン液で圧扁固定し鉄ヘマトキシンで染色し、観察に供した。また毎日飼育水の半分を新しい水と交換するとともに通気を行った。なお感染時及び発育実験中の水温は 28.0~28.2°C であった。

結果および考察

卵の形態、卵内発生状況および遊泳幼生の形態 *P. microrchis* の卵は一時に1個ずつ産み出され、産み出された卵は鶏卵状で黄褐色あるいはオレンジ色を呈し、大きさは平均 83×65 μm (74~101 μm×59~72 μm, 生標本 12 個測定) であり、一端に長さ平均 5 μm (3~7 μm) の1本の柄を有していた。本種の卵は沈降性であり産み出されると水槽の底に沈み、また軽度の粘着性を示すため、各種のごみが多量に付着していることが多かった。

水温 20°C における孵化までの卵内発生の状態を観察したところ、産み出されてから 1~2 日後までは卵内に変化は認められなかったが、2~3 日後には卵内中央部に胚と思われるほぼ円形の灰白色の部分が認められるようになり、3~4 日後には眼点が認められた。そして 4~5 日後には纖毛、周辺小鉤などを有した完全な胚子 (embryo) が形成され、卵内で盛んに動いているのが観察され、この頃から孵化するものが見られた。

遊泳幼生は生標本で体長 131~170 μm、体幅 55~79 μm で、すでに咽頭 (16×19 μm)、鉤 (長さ 27 μm) 及び周辺小鉤 (長さ 15 μm) を有し、また虫体前端部、中央部及び後端部の3か所に纖毛帯を有しており、その纖毛を使つて水中を自由に泳ぎ回るのが観察された。これらの幼生を井戸水を入れたシャーレに収容して室内 (約 18~20°C) に放置しておいたところ、約5時間後にはまだ遊泳しているのが観察されたが、1日後にはすべてのものが水底に沈み纖毛が脱落し死亡していた。

産卵数 水温約 10°C、20°C 及び 28°C における本種の産卵数を Table 1 に示した。そこに示したように 10°C での産卵数は成体1個体・1日当たり平均 1.2 個と少なかった。また 20°C 及び 28°C では1個体・1日当たりでそれぞれ平均 9.6 個 (4.9~19.0 個)、平均 7.7 個 (3.0~9.8 個) の卵が産み出され、ともに 10°C の時と比べ産卵数の増加が認められた。なお 28°C での平均産卵数は 20°C での平均産卵数に比べ幾分少なくなっているが、統計的 (*t* 検定) にはこれらの平均値の間には有意な差はなく (*p*=0.05)、20°C と 28°C の産卵数の間にはほとんど差がないと考えた。従つて 20°C 及び 28°C の水温の下では本種は1個体当たり1日ではほぼ 8~10 個の卵を産むとすることができよう。例えばコイ (*Cyprinus*

Table 1. Number of *P. microrchis* eggs laid at various water temperatures

Water temperature	Size of fish		Number of adult parasites on fish	Number of eggs laid in a day	Number of eggs laid per individual parasite per day
	Total length (cm)	Body weight (g)			
10°C (9–11°C)	13.2	3.0	5)	22	1.2
	15.7	4.6	4)		
	15.3	3.6	9)		
	17.0	5.3	14)	27	1.2
	20.8	12.0	0)		
	17.4	6.5	8)		
20°C (18.9–22.8°C)	21.5	13.2	20	168	8.4
	19.0	7.9	2	38	19.0
	20.0	9.7	24	280	11.7 (9.6)
	15.0	4.8	10	49	4.9
28°C (27.0–29.0°C)	14.2	1.8	14	132	9.4
	14.4	2.3	13	80	6.2
	16.5	4.0	10	61	6.1
	16.2	3.0	8	24	3.0 (7.7)
	12.7	1.4	29	243	8.3
	14.8	1.6	19	187	9.8
	13.3	1.2	30	224	7.5

* Average number of eggs laid per individual parasite per day at each temperature.

Fig. 1. Hatching rate of the eggs of *P. microrchis* at 10°C, 20°C and 28–30°C. Number of eggs investigated: 39 (10°C), 45 (20°C), 82 (28–30°C).

carpio)に寄生する *Dactylogyrus vastator* は水温 12～18°C の下では1日平均 4～10 個の卵を産むとされている²⁾が、上記の *P. microrchis* の産卵数は水温の違いはともかくとして比較的近い値であるといえよう。

卵の孵化率および孵化日数 孵化実験の結果をまとめ Fig. 1 に示した。この図には 10°C、20°C 及び 28～30°C の各水温区での産卵後の日数と卵の累積孵化率との関係を示したが、そこに示されたように水温 10°C で

は *P. microrchis* の卵は1か月経過しても全く孵化せず、また胚子の形成も全く認められなかつた。しかし、産卵後約 40 日目にこれらの 10°C 下においた卵の一部(18 個)を 20 °C の下に移したところ2日後には多くのもの(16 個/18 個)に胚子の形成が見られ、3～4 日後には約半数(8 個/18 個)のものが孵化した。従つて本種の卵は 10°C 程度の低水温の下でかなり長期間にわたつて生存し、その後水温が上昇すれば孵化しうることが

わかった。今回は 40 日間しか確認することができなかったが、更により長期にわたり低温中で本種の卵が生存しうるとすれば、本種が卵の状態越冬することが可能であると考えられ、本種の防除対策上十分考慮されなければならないことと思われる。

一方本図に示したように水温 20°C 及び 28~30°C の下ではともに良好な孵化が見られ、最終的な孵化率は 20°C で 95.6% (43 個/45 個), 28~30°C で 92.7% (72 個/82 個) であった。また卵が産み出されてから孵化するまでに要した時間、すなわち孵化日数は 20°C で 4~22 日, 28~30°C で 2~11 日であった。

PAPERNA³⁾ は *D. vastator* の卵は水温 28°C の下では 2~3 日で孵半するとし、また PROST⁴⁾ は *D. anchoratus* の卵は水温 28~29°C で 1.5~2 日, 20~21°C で 3~4 日で孵化し、また *D. extensus* の卵は 22~26°C で 3 日, 20°C で 4 日で孵化すると報告している。本実験の結果をこれらの結果と比較してみると本種の卵の孵化日数にはやや幅がありすぎるように思われる。しかしながら、本実験の結果について、卵の孵化率が 20% を越え 70% に達する期間に着目してみると、20°C では 5~8 日, 28~30°C では 2~5 日となっており、この期間内に多くのものが孵化したとすることができる。とすれば、*P. microrchis* の卵の孵化日数はコイに寄生する *Dactylogyrus* のそれと比較してやや長めではあるが、

さほど大きな違いはないと見ることができよう。

宿主上での発育 感染実験終了直後から 8 日間にわたり毎日取りあげ観察した魚にはそれぞれ *P. microrchis* の幼若個体の寄生が認められ、それらの形態の経日的な変化から感染後の経過日数と *P. microrchis* の発育の関係を明らかにすることができた。それらの結果に基づき、本種の発育段階を以下に説明するように 5 つに分け、各発育段階の形態を Fig. 2 に示し、また各発育段階の虫体の大きさ及び各部測定値を Table 2 に示した。以下に *P. microrchis* の各発育段階の形態及び構造について述べる。

Young stage 1 (Fig. 2-A): この stage のものは体長 84~136 μm , 体幅 34~57 μm と小さく、鉤、周辺小鉤及び咽頭を有していたが、生殖器官及び連結桿は有していなかった。これらのものの鉤は長さ 24~33 μm , 最大幅 1 μm 未満で、遊泳幼生にみられた鉤と比べ形、大きさとも大差なく、おそらく寄生後まもない個体と判断された。感染後 0~1 日に寄生していたほとんどのもの (14 個体中 13 個体) がこの stage のものであった。

Young stage 2 (Fig. 2-B): この stage のものは体長 95~136 μm , 体幅 44~58 μm で、虫体の大きさは young stage 1 と変らなかつたが、鉤は長さ 34~50 μm , 幅 1~4 μm と発達しているのが認められた。感染後 1~2 日に寄生していた 14 個体中 10 個体がこの

Table 2. Young stages of *P. microrchis* after attachment to the host fish

Item	Stage				
	1	2	3	4	5
Days after attachment	0- 1	1- 2	2- 3	3- 4	4- 6
Total length	84-136 (102)* ¹ μm	95-136 (110)	109-153 (138)	182-192 (187)	164-404 (232)
width	34- 57 (46)	44- 58 (52)	63- 81 (70)	81- 85 (83)	66-116 (88)
Haptor l.	26- 42 (29)	25- 38 (31)	40- 53 (46)	66- 71 (69)	64- 99 (83)
w.	40- 64 (48)	44- 66 (54)	62- 77 (67)	84- 89 (87)	74-121 (101)
Anchor l.	24- 33 (31)	34- 50 (40)	54- 74 (64)	73- 77 (75)	75- 95 (85)
reflexed part l.	lack	lack	lack	lack	3- 32 (17)
ventral process l.	lack	lack	lack	21- 23 (22)	17- 26 (21)
dorsal process l.	lack	lack	lack	5- 7 (6)	3- 9 (6)
Bar l.	lack	lack	19- 35 (28)	34- 35 (35)	36- 47 (42)
w.	lack	lack	1- 6 (3)	6- 7 (7)	5- 10 (8)
Marginal hook l.	14- 16 (15)	14- 15 (15)	15- 16 (15)	15	14- 16 (15)
Cirrus accessory l.	lack	lack	lack	lack	present* ²
Prostatic reservoir (diam.)	lack	lack	lack	lack	present* ²
Ovary l.	lack	lack	lack	lack	5- 18 (10)
w.	lack	lack	lack	lack	13- 25 (18)
Testis l.	lack	lack	lack	lack	8- 22 (13)
w.	lack	lack	lack	lack	15- 28 (21)
Pharynx l.	diam.	diam.	diam.	18- 21 (20)	18- 41 (26)
w.	8- 14 (12)	15- 17 (16)	17- 18 (18)	20- 21 (21)	20- 29 (26)
	n=13* ³	n=10	n=10	n=2	n=17

*¹ range and (mean), *² present, but could not be measured, *³ number of parasites measured.

Fig. 2. Young stages of *P. microrchis* after attachment to the host.

A: young stage 1, B: young stage 2, C: young stage 3, D: young stage 4, E: young stage 5. Scales in the figure represents 50 μm .

stage のものであつた。

Young stage 3 (Fig. 2-C): この stage のものは体長 109~153 μm , 体幅 63~81 μm , 鉤の長さ 54~74 μm で, 長さ 19~35 μm の連結桿を有していた。またこの stage の一部のもの (12 個体中 2 個体) の鉤基部にくびれが認められ, これは背側突起及び腹側突起の分化の始まりと思われた。感染後 2~3 日に寄生していた 5 個体はすべてこの stage のものであつた。なお感染後 0~1 日, 1~2 日及び 3~4 日にも少数 (それぞれ 1 個体, 4 個体及び 2 個体) ではあつたが, この stage のものが観察された。

Young stage 4 (Fig. 2-D): この stage のものは体長 182~192 μm , 体幅 81~85 μm で, 鉤基部はすでに

長さ 21~23 μm の腹側突起及び長さ 5~7 μm の背側突起に分化していた。しかし腹側突起の折れ曲り部分は存在しなかつた。感染後 3~4 日に寄生していた 5 個体中 2 個体がこの stage のものであつた。

Young stage 5 (Fig. 2-E): この stage のものは体長 164~404 μm , 体幅 66~116 μm で, 長さ 3~32 μm の腹側突起の折れ曲り部分を有していた。また初めて精巢, 卵巣及び交接器などの生殖器官を有する個体がみられたが, いずれの個体も卵黄腺を有しないか, あるいは有していても発達が不十分であつた。感染後 4~5 日に寄生していた 24 個体中 21 個体及び 5~6 日に寄生していた 6 個体中 5 個体がこの stage のものであつた。なお感染後 3~4 日にも 1 個体ではあつたがこの stage の

ものが観察された。

感染後 4~5 日に寄生していたもののうち 3 個体は体長 444~525 μm 、体幅 128~217 μm で、鉤、交接器官、卵巣及び精巣など各器官がすでに完成し、卵黄腺も十分に発達していることから成体と判断された。そして感染後 5~6 日に寄生していたもののうち 1 個体が、また感染後 6~7 日、7~8 日及び 8~9 日に寄生していたものすべてが成体であつた。さらに感染後 6~7 日に寄生していた成体の中にはすでに卵を産む個体も認められた。

以上述べたように、水温 28°C の下で *P. microrchis* は宿主に感染後 0~1 日では鉤は遊泳幼生のそれと比べてほとんど発達しておらず (young stage 1), 1~2 日で鉤の発達が認められるようになり (young stage 2), 2~3 日で連結桿を生じ (young stage 3), 3~4 日で鉤基部の分岐が生じ (young stage 4), 4~6 日で腹側突起の折れ曲り部分がでく (young stage 5), そして遅くとも 6~7 日には成体となり、すでに一部は産卵可能となることがわかつた。

以上のことと先に述べた *P. microrchis* の産卵数及び孵化日数の実験結果を合わせると、水温 28~30°C の下において産卵された *P. microrchis* の卵は産卵後 2~5 日で孵化してウナギに寄生し、寄生後 6~7 日目にはすでに産卵可能と言うことになる。従つて水温 28~30°C

の下での本種の生活史の 1 サイクルは最も短く見積つた場合 8~12 日とみることができ、先の産卵数と合わせてみると、本種は 28~30°C という高水温の下では急激に増殖しうることが明らかとなつた。このことは前報²⁾で述べた本種の出現の季節的变化、すなわち高水温時ににおいて寄生数が増加することと良く符合していると考えられる。

最後に本研究をまとめるにあたり有益な御助言をいただいた広島大学水畜産学部中村中六名誉教授、笠原正五郎教授及び村地四郎教授に厚く御礼申し上げます。また原稿を御校閲していただいた福井県水産試験場長今岡要二郎博士に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 今田良造・室賀清邦：日水誌，**43**，1397-1401 (1977).
- 2) B.E. BYCHOWSKY: Monogenetic Trematodes, Their Systematics and Phylogeny (Translation of a russian monograph), American Institute of Biological Science Graphic Arts Press Inc., Washington D.C., 1961, 85-107.
- 3) I. PAPERNA: *Bamidgeh*, **15**, 8-26 (1963).
- 4) M. PROST: *Acta Parasit. Polonica*, **6**, 17-32 (1963).