

アユのグルゲア症に関する研究*

高 橋 誓

Studies on Glugea Infection
of Ayu, Plecoglossus altivelis

Sei . TAKAHASHI

* 本論文は1979年に東京大学農学系大学院に提出した学位論文である。

目 次

緒論	1
第 I 章 アユのグルゲア症—その症状、発生状況とびわ湖産種苗アユの感染状況	4
第 1 節 グルゲア症とその発生状況	4
(1) グルゲア症の概要	
(2) 発生状況	
第 2 節 びわ湖産種苗アユのグルゲア感染	7
第 II 章 寄生体の分類学的研究	10
第 1 節 胞子の形態	10
第 2 節 キセノマの発育	13
第 3 節 “グルゲアシスト”とその崩壊	15
第 4 節 生活史—胞子形成—	16
第 5 節 宿主	18
第 6 節 既存種との比較—新種の提案—	20
第 III 章 感染に関する研究	25
第 IV 章 防除に関する研究	34
第 1 節 水温調節による発症抑制	34
第 2 節 化学療法による防除	39
(1) スクリーニング試験	
(2) フマジリンに関する試験	
i) 投薬時期の検討	
ii) 投薬量の検討	
iii) 投薬期間の検討	
iv) 最小有効投薬量の検討	
(3) 自然感染の防除の検討	
(4) グルゲア症の化学療法による防除 —まとめ—	
補稿 電子顕微鏡による観察	49
要約	51
謝辞	53
引用文献	54

緒 論

SPRAGUE(1977)は微孢子虫類の分類に関する総説の中で、電子顕微鏡による研究等の最新の研究成果をとり入れ、従来、Protozoa 門の中に位置していた微孢子虫類を独立させて新たな門に位置づけ、さらに次のような綱、目、亜目等の分類体系を示した。

門 MICROSPORA Ph. n.

綱 RUDIMICROSPOREA cl. n.

目 METCHINIKOVELLIDA Vivier, 1975

綱 MICROSPOREA Corliss & Levine, 1963

目 OHYTRIDIOPSISIDA Weiser, 1974

目 MICROSPORIDA Balbiani, 1882

亜目 PANSPOROBLASTINA Tuzet,
Maurand, Fine, Michel & Fenwick, 1971

亜目 APANSPOROBLASTINA Tuzet,
Maurand, Fine, Michel & Fenwick, 1971

グルゲア (Glugea) 属は、KUDO(1966)によれば、Protozoa 門、Plasmodroma 亜門、Cnidosporida 綱、Microsporida 目、Monocnida、亜目、Nosematidae 科の中に Nosema 属やプリストホーラ (Plistophora) 属と共に置かれていたが、SPRAGUE は、その新分類の中で Glugea 属を Apansporoblastina 亜目の中に設けた Glugeidae 科の中に入れ、Nosema 属は同亜目の Nosematidae 科へ、また、Plistophora 属は Pansporoblastina 亜目の中の Plistophoridae 科にそれぞれ置いた。さらに、SPRAGUE は Glugea 属のすべての種の宿主は魚類であるとし、既知種 26 種 (Nosema 属から 4 種、Octosporia 属から 1 種の Glugea 属への編入と 3 種の Glugea Sp. を含む) を記載している。その中に、日本で知られている Gluger plecoglossi Takahashi & Egusa, 1977 は Glugea sp. として記載され、Glugea takedai Awakura, 1974 は含まれていない。

これらの微孢子虫のうち養魚場や天然水域の有用水産魚類に寄生し、被害を与えると報告された種は G. hertwigi, G. stephani, G. takedai, および G. plecoglossi の 4 種である。

Glugea hertwigi Weissenberg, 1911 は、WEISSENBERG(1911) がヨーロッパの smelt

(Osmerus eperlanus) に最初に見出し記載したものである。本種は米国およびカナダに棲息する American smelt (Osmerus mordax) にも寄生することが古くから知られていたが (SCHRADER, 1921), この寄生は、幼若な魚ほど寄生率が高く、O. mordax の資源量の減少の大きな原因となることが指適されている (HALEY, 1953)。また、五大湖の一つエリー湖では、その寄生率が 1960 年には 12.5% であったものが、年々上昇し、1971 年には 87.5% に達し、O. mordax の産卵後の斃死にも関連していることが指適されている (NEPSEY and DECHTIAR, 1972) として、この寄生率の季節変動や、感染に対する American smelt の感受性の地域差など多くの項目についての調査、研究がなされている (LEGULT and DELISLE, 1967; DELISLE, 1969, 1972; CHEN and POWDEER, 1972)。

Glugea stephani (Hagenmuller, 1889) Woodcock, 1904 は、海水魚寄生種として知られ、米国では winter flounder (Pseudopleuronectes americanus) (STUNKARD and LUX, 1965), English sole (Parophrys vetulus) (WELLINGS, ASHLEY & MCARN, 1965, OLSON and PRATT, 1973) ならびに starry flounder (Platichthys stellatus) (JENSEN and WELLINGS, 1972), また、カナダでは yellowtail flounder (Limanda ferruginea) (FANIHAM, PORTER and RICHARDSON, 1941), など、ヒラメ、カレイ類がその寄生によって被害を破ることが知らされている。例えば、米国の Yaquina 湾では、G. stephani の English sole への 1971 年から 73 年の各 11 月の平均寄生率が 79.8% に及び、特に稚魚の被害が大きいと報告されている (OLSON, 1976)。

わが国では北海道の千歳川ならびにトキト沼でサケ科魚類に寄生し被害を与える、G. takedai が古くから知られている。本種寄生症は、最近、阿寒湖で生簀養殖されていた“スチールヘッドトラウト” (Salmo gairdneri) にも発生し、除々にその分布地域が拡がりつつある (栗倉,

1978)。この微胞子虫は、最初、Plistophora sp. として報告されたが(武田, 1933), 後に栗倉(1974)によってGlugea属に分類され G. takedaiと命名された。栗倉は、本種が細胞内寄生でないことからGlugea属に分類することに疑問を残していたが、後に電子顕微鏡によるスポロゴニーの観察で、1個のスポロントから1個のスポロプラストのみ形成されることが判明し、Nosema属に分類するのが適当と考えられることを報告した(三木, 栗倉, 1977)。従って、本種をGlugea属のものとして扱うのはもはや適当ではないが、本論文では、以下、比較のために本種に言及することがある。

G. plecoglossiは、アユのグルゲア症の原因種として知られるものである。アユのグルゲア症は1964年に鹿児島県や徳島県の養魚場で認められて以来、各地のアユ養魚場で発生が認められるようになり、1970年には新たに発展して来たアユの種苗生産事業におけるアユ種苗の重要な疾病として登場し、さらに、1971年には天然河川のアユにも見出されるなど、細菌性疾病のピブリオ病と並ぶ重要疾病と考えられるようになった。アユの微胞子虫は、1967年に保科, 富村が Glugea sp. として水産学会で口頭報告したのが最初であり、PUTZ et al. (1970)の魚の微胞子虫に関する総説の中で日本の魚類微胞子虫として、ウナギ寄生の Plistophora anguillarum Hoshina, 1954と共に Glugea sp. として紹介された。G. plecoglossiは、後に高橋・江草(1977)によって命名、報告されたものであるが、上記 G. sp.と同じものと考えられる。

以上の4種以外に、有名な種として、Glugea属の代表種である Glugea anomala (Moniez, 1887) Gurley, 1893があげられる。この種はヨーロッパの stickleback (Gasterosteus aculeatus)に寄生し、産業的には問題となるものではないのであるが、多くの生物学的研究がなされた事で重要な種である。

上記の種々のグルゲア症に関しては、従来、解剖学的あるいは組織学的観察が報告されてはいるものの病理学的研究はあまりされていない。一方、微胞子虫そのものの生物学的研究はかなりなされてきた。即ち、種同定のための胞子の観察、およ

び生活史の説明である。

微胞子虫の胞子に関する研究は、それが10 μ 以下の微小なものであり、光学顕微鏡では明瞭に観察し難い内部構造をもつためにそれによる研究には限界があったが、近年、電子顕微鏡による研究が進み、その表面および内部構造がしだいに明らかにされつゝある。電子顕微鏡による Glugea属に関する研究は、G. wissenbergi Sprague & Varnick, 1968 についての SPRAGUE & VERNICK (1968); VERNICK, SPRAGUE and LLOYD (1969), G. stephani についての JENSEN and WELLINGS (1972), G. Takedai についての三木・栗倉(1977)の報告がある。しかし、いずれの場合も成熟した胞子の鮮明な像が得られているとは言い難く、固定ならびに包埋の方法についてさらに検討を加える必要がある。他方、最近、走査型電子顕微鏡による表面の構造に関する研究がなされ始め (LOM and WEISER, 1972; 中島・江草, 1976, 1979), 分類等への応用が論じられている。

生活史に関して、WEISSENBERG (1921, 1949, 1968)は Gasterosteus aculeatus に寄生する G. anomala の宿主体内における発育過程を光学顕微鏡によって詳細に研究し、この寄生体が、宿主細胞内に寄生するものであることを明らかにし、その宿主細胞・寄生体複合体にキセノマ (xenoma) なる呼称を与えた。この発見は、SPRAGUE and VERNICK (1968)の Apeltes quadracus に寄生する G. wissenbergi に関する電子顕微鏡による研究によって裏付けされ、Glugea属の寄生体と宿主細胞との親密な関係とその生活史が明らかにされた。アユに寄生する G. plecoglossi もまた同様にキヤノマを形成することが明らかにされている (高橋・江草, 1977)。

Glugea属を含め一般に魚類寄生微胞子虫の感染は、WISSENBERG (1921)が G. anomala の人為感染に成功して以来、経口的に胞子が摂取され、消化管内で極糸を弾出し、それを經由して、腸管上皮内にスポロプラズムが送りこまれることによって成立すると考えられている (SPRAGUE & VERNICK, 1968. PUTZ & MCLAUGHLIN, 1970)。しかし、最近では種々の人為感染法が試みられ、経口感染のほかに、胞子の注射や、胞

子懸濁液中に魚を浸漬することにより感染が起こることが明らかにされている (LOM, 1969 ; MCVICAR, 1975 ; 高橋・江草 1978)。これらのことから、微胞子虫は、自然水域や養魚場でも経口的に感染するのみならず経皮的にも感染することが考えられる。なお、栗倉 (1974) は、G. takedai (前述したとおり Nosema 属の可能性が高い) の感染には輪虫が媒介者、あるいは中間宿主として重要な働きをしていることを報告している。

グルゲア症の特異な症状の発現は、宿主体内における増員生殖によって大型“シスト”が形成されることによるが、その増員生殖は水温に決定的に支配され、従って、発症もまた水温に決定的に支配されることが、G. takedai (栗倉, 1974)、G. stephani (OLSON, 1976)、および G. plecoglossi (高橋・江草, 1977b) について実験的に確かめられている。このことは、水温制御によるグルゲア症制御が可能であることを示している。

グルゲア症の防除に関する研究はわが国である程度行なわれてきたが、諸外国では全くない。伝播体となる胞子の物理的・化学的要因に対する抵抗性が、G. takedai (栗倉, 1974) と、G. plecoglossi (中島・江草, 1975) について研究されている。それらによると、たとえば、G. plecoglossi は乾燥や 60℃ の高温で簡単に死滅し、凍結や紫外線にもよわく、したがって太陽光線による乾燥消毒が有効であり、また、界面活性剤や塩素剤による消毒も有効であることが示されている。

化学療法に関しては、栗倉 (1967) の G. takedai についての先駆的仕事がある。それによれば、抗コクシジウム剤のアンプロリウムの連続投与によって寄生体の増員生殖を阻止することが出来た。しかし、魚の歩留りが悪かった。またサルファ剤投与は、寄生体の増員生殖は阻止しえないが、魚の歩留りの向上に役立ったという。高橋・江草 (1976) は、アユのグルゲア症において抗マラリア剤、抗コクシジウム剤、抗生物質など9種の薬剤によるスクリーニング試験を行い、その中で抗生物質のフマジリンが顕著な効果を発揮することを報告すると共に、その投薬時期・投薬量・投薬期間を明らかにした。

免疫に関して、栗倉 (1974) は、G. takedai 罹病経験ニジマスに感染免疫が生じること、また、それも魚種によって異なることを報告している以外には報告はない。

従来の微胞子虫の研究はすべて in vivo に行われて来たが、in vitro 生育研究は重要な課題であると思われる。栗倉 (1974) は、G. takedai の RTG-2 細胞への感染を試み、“培養細胞内に寄生体様のものが出現したが、一定期間を過ぎると細胞が試験管壁から脱落し、それ以上の段階までの観察が不可能なことを知った。”と報告しており、in vitro 研究の可能性が示唆されている。

以上、有用水産魚類のグルゲア症について述べると共に、その研究史を概括した。その中でも一部触れているが、著者は、アユのグルゲア症について、1972年からその防除法の確立のため種々研究を行う中で、原因寄生体を Glugea plecoglossi n. sp. と命名することを提案すると共に、その生活史さらに防除法について報告して来た。

本論文は、それらの成果を踏まえて、第I章でアユのグルゲア症の発生状況とびわ湖種苗アユの感染状況について述べ、第II章で原因寄生体の分類について考察し、第III章でその研究方法のため的人為感染法の確立を計ると共に発症機序について考察し、第IVで防除の検討をしたものである。最後に、微胞子虫類の研究において重要な研究方法となる電子顕微鏡観察に関して、本寄生体を用いて行なった固定および包埋法の検討結果と、胞子ならびに生活史の各段階の寄生体の観察結果について補稿した。