

第三章 感染に関する研究

魚類に寄生する微胞子虫の人為感染を最初に報告したのはWEISSENBERG(1921)である。彼はG. anomalaの胞子を摂食させた動物プランクトン(ミジンコ類やケンミジンコ類)を摂食させる、あるいは飼育水中へ胞子を加えることにより、stickleback(Gasterosteus aculeatus)をG. anomalaに感染させることに成功した。後に、WEISSENBERG(1968)は、G. hertwigiを同様の方法で、sticklebackに感染させたことを報告している。

一方、SUMMERFELT(1964)は golden shiner(Notemigonus crysoleucas)寄生微胞子虫 plistorphora ovariaeに感染した魚の卵巣を魚に摂食させたが感染に成功せず、また、STANKARD et al. (1965)は、カレイやヒラメ寄生種の G. stephaniの“シスト”を winter flounder(Pseudopleuronectes americanus)に摂食させる実験を4回行ったが人為感染に成功せず、中間宿主として小型甲殻類が必要と考えられると述べた。さらに、WEIDNER(1973)は、G. hertwigiや G. stephaniの胞子は摂食させ2週間経過した後のヨコエビ類の筋肉内に、微胞子虫の生活史の各段階が観察されたと報告した。そして、OLSON(1976)は、G. stephaniの胞子を摂食させたブラインシュリンプ(Artemia salina)や端脚類の一種 Corophium spinicorneを用いて English sole(Parophrye vetulus)への感染に成功した。MCVICAR(1974)は、G. stephaniの plaice(Pleuronectes platessa)への感染実験として、(1)水中へ胞子を加える、(2)胞子を摂食させた端脚類 Corophium veltatonを与える、(3)細切されたヤリイカ“white worm”と胞子懸濁液とをまぜて与える、(4)胞子を直接胃内へ注入する、(5)胞子を腹腔内へ注入する、の5通りの方法を行い、前二者では感染に成功せず、後三者で成功し、感染には中間媒介生物は不用であると述べた。

人為感染の注射法に関しては、LOM(1969)は熱帯魚のネオンテトラ(Hyphessobrycon

inessa)の寄生種 Plistophora hypheobryconisの経口感染は、H. inessaに対しても実験条件によって左右され、成功しないことがよくあるが、胞子の筋肉内注射によっていろいろな魚類に感染させることが出来ると報告している(但し詳しくは不明)。大島(1936, 1937)は、Nosema bombycisが酸とアルカリの中和によって極糸を放出する性質を持つことを利用して、蚕(Bombyx mori L.)の皮下に、その処理をした胞子を接種することによって人為感染に成功している。

胞子接触法については、DELSLE(1969)の実験がある。彼は smelt(Osmerus eperlanus mordax)を G. hertwigiと“1ヶ月間接触させた”が感染に成功せず、感染には魚の“physiological resistance”が関与すると述べた。また、栗倉(1974)は G. takedaiの胞子を浮遊させた水中にニジマス(Salmo gairdneri)を浸漬する方法を試み、低率ながら感染が成立したことを認めた。いっぽうで、その水でサケ科魚類を飼育すればかならず G. takedai感染症が起こることと知られる北海道千歳川河川水を、 $0.12 - 0.18 \times 0.04 - 0.12$ mmの網目のネットで濾過すれば感染源が除去されることを見出し、実際には G. takedaiの感染は胞子の直接摂食や接触によるのではなく、上記の網目を通過し得ない大きさの輪虫(Eucharis dilate)が媒介生物として関与していると推論している。

一般に、魚類における微胞子虫の感染は経口的なものと考えられている(PUTZ et al., 1970)が、上述した接触による感染の場合の感染経路が経口的か否かは必ずしも明らかではない。

種々の方法による人為感染の試みは、感染の経路や機序を知る上に不可欠のものであるばかりでなく、それによって微胞子虫症の病理や宿主寄生体関係の検討を容易になしうるし、さらに防除法の検討にも強力な手段を与える。そこで、著者も、アユの微胞子虫の人為感染について実験を試み、この微胞子虫が経口だけでなく、胞子浮遊液への浸漬や、皮下、腹腔内への胞子接種によっても感

染が成立することを明らかにした。そして、得られた事実を総合して、このアユの微孢子虫症の発症機序を考察した。

材 料

供試孢子：グルゲア症のアユより“グルゲアシスト”を摘出し、蒸留水中でピセットを押し潰し、濃厚な孢子懸濁液を得て、混入している狭雑物を取りのぞくため東洋濾紙No.2で濾過した。雑菌の繁殖を防ぐため、ペニシリンとストレプトマイシンを各約200 ppm量入れ、冷蔵庫内で保存した。使用時には孢子懸濁液の一部をとり、等量の30% H₂O₂液を加え、極糸を弾出する孢子が過半数であることを確認して使用した。孢子懸濁液の孢子濃度は約10⁸孢子/mlである。なお、一部の試験では、蒸留水のかわりに0.85%食塩水や10%蔗糖液を使用した。その場合には孢子懸濁液作成直後に試験に使用した。

供試アユ：4月から6月にかけてびわ湖で採捕された直後のアユを購入し、直ちに0.5-2gのアユを選別し、餌付けた後、試験に供した。また、一部の試験では試験場で養成した10-20gのアユも使用した。なお試験には、試験に供した魚群の魚を用いた対照区は必ず設けた。

感染方法

I, 経口法, 実験(a) 孢子懸濁液中にミジンコ池から採集した動物プランクトン(輪虫, ミジンコ類, ケンミジンコ類を含む)を加え、約3時間後、当初白濁していた孢子懸濁液(約10⁷孢子/ml)がほぼ清澄になった時点で取り上げ直ちに試験アユに摂餌させた。対照には孢子懸濁液に入れない動物プランクトンを摂餌させた。

実験(b) 孢子懸濁液をしみこませた配合飼料を投餌し摂食させた。このさいアユ1尾あたり摂取孢子数は10⁵-10⁶であった。

実験(c) 0.8%になるようCMCを添加した孢子懸濁液を、カテーテルを用いて強制的に胃内に注入した。この場合アユ1尾あたりの投与孢子数は10⁵-10⁶であった。

なお、実験(a), (b), (c)とも2回行なった。供試魚の大きさは結果と共に示す。

II, 浸漬法 10ℓまたは20ℓの水を入れたコンテナ水槽に孢子懸濁液を混じて孢子浮遊液(10⁴-

10⁵孢子/ml)とし、その中に供試アユを収容した。水槽には通気した。浸漬時間は24時間(実験a), および17時間(実験b)の二通りとした。実験(a)は2回, 実験(b)は1回行った。

III, 皮下接種法 10%砂糖水と0.85%食塩水に魚体より採集された“グルゲアシスト”の内容物を懸濁させ(それぞれ(a)および(b)とする), 直ちにその0.05mlをツベルクリン注射器により、アユの軀幹背側部背鳍側下の一点に注入した。また、冷蔵庫内で保存された孢子の蒸留水懸濁液(c)を、(a), (b)と同様に皮下へ接種した。なお、(c)の皮下接種部位の接種直後から13日後まで毎日1回スタンプ標本(メチルアルコール固定, ギムザ染色)を作成し、孢子の行方に関して観察した。また、その組織学的検討を行うため、(b)の皮下接種後、7日目から33日目まで魚を採集し、接種部位の組織のパラフィン切片を常法に従って作成し(ブアン氏液固定, ヘマトキシリン・エオシン染色), 顕微鏡下でキセノマの発育を観察した。

IV, 腹腔内接種法 III(c)と同様に保存された孢子懸濁液0.1mlをツベルクリン注射器で腹腔内に接種した。

結果判定

上記の感染操作を行った魚はガラス水槽(60cm×30cm×37cm)またはコンテナ水槽(41cm×57cm×30cm)に収容し、地下水を流し、一日一回配合飼料を投与し飼育した。試験期間中の水温はすべて17.9-21.8℃の間であった。感染操作を行なった日より短かくて22日間、長くて39日間飼育した後、供試魚を取り上げ、剖検し、“グルゲアシスト”が肉眼的に確認された個体を感染発症魚とし、検査個体数に対する百分率を発症率とした。

結 果

I 経口法 結果をまとめて表3-1に示した。各2回の結果での発症率は、実験(a)では85.0%と93.5%, 実験(b)では82.4%と80.0%を示し、これらの方法により人為感染はきわめて高率に成立することがわかった。これらの方法によったとき“シスト”の形成は、幽門垂の間およびその近くの脂肪組織や腹膜に認められ、その他の部分には全く見い出せなかった(図22)。一方、実験(c)の場合、(1)では実験区は対照区より低い発症率であ

表3-1 アユに対するG. plecoglossiの経口法による人為感染実験結果

注1 感染方法	実験年月日	検査魚数		感染魚数	感染率 (%)	“グルゲアシスト”形成部位				水温 (C)	実験期間 (日数)	供試魚の 平均体重(g)
		実験区	対照区			腹腔内器官 (含脾臓)	脾臓	皮下 ^{注2}	皮膚			
(a) 動物プランク トン法による 経口法	(1) 1973年 5-7月	31	29	29	93.5	29	-	0	39	19-20	1.3(s)	
		30	0	0	0							
(b) クランプル法 による経口法	(1) 1973年 7-8月	17	14	14	82.4	14	-	0	36	198-210	2.7(s)	
		15	5	4	33.3	4	-	1				
(c) カテーテル法 による経口法	(2) 1975年 5-6月	20	16	16	80.0	16	0	0	37	179-208	1.1(f)	
		20	0	0	0							
(c) カテーテル法 による経口法	(1) 1972年 8-9月	17	6	6	35.3	6	-	0	36	20-21	240(s)	
		17	7	7	41.2	-	-	-				
(2) 1976-77年 12-1月	実験区	6	5	5	83.3	5	0	0	35	194-218	16.1(f)	
	対照区	8	3	3	37.5	3	0	0				

注1. 本文参照

注2. 皮膚, 皮下, 表皮に近い筋肉組織, 鰓, 鰓を含む。

注3. (s): 実験開始時, (f): 実験終了時

り、人為感染が成立したとは認めることが出来なかったが、(2)での発症率は、対照区で37.7%であったのに対し実験区では83.3%であり、孢子懸濁液を直接経口的に与えることによっても感染せしめることがわかった。この場合の“シスト”形成部位は、実験(a)、(b)の場合とほぼ同様であったが、肛門部に近い腸管壁の脂肪組織にもしばしば認められた点が異なっていた。

なお、第II章第2節で述べたキセノマの発育の観察は、この実験の経口法(a)、(b)によって得た感染魚・発症魚を材料としたものである。

II. 浸漬法 結果をまとめて表3-2に示した。実験(a)、(b)とも100%発症し、浸漬法は安定した人為感染法であることを示した。“シスト”形成は、剖検によってはもとより、外観的にも認められた。まず、外観的には体表に小隆起が認められたが(図23)、これは皮膚ならびに皮下組織、さらに表層に近い筋肉に“シスト”が形成されることによるものである。鰓蓋や頭部の皮下、鰓葉、鰓の軟条部にも“シスト”形成が認められたものもあった。このように外観的に認められる“シスト”形成は、実験(a)の(1)では100%の魚に、実験(b)では86.7%の魚に認められ浸漬法感染の一つの特徴といえるが、むしろすべての供試魚にみられたわけではなく、(a)の(2)では僅かに10%の魚にみられたに止まった。また、その体表に近い“シスト”の形成部位は、実験(a)では体表全体に散在し、(b)では背鰭前方背部に集中して認められるなどの相違があった。これらの差を生じた原因は明らかでない。

剖検によると、経口法によった場合とほとんど同様に幽門垂を中心とする部分に“シスト”形成を認めたが、経口法と異なったのは実験(b)において11.1%の感染魚の脾臓に“シスト”形成が観察されたことである。

III. 皮下接種法 結果をまとめて表3-3に示した。発症率は実験(b)の(1)で95%、(c)の(2)で92.9%であったが、他の(a)の(1)、(b)の(2)、(c)の(1)はすべて100%であった。発症率は、孢子を浮遊させた液(10%蔗糖水、0.85%食塩水、蒸留水)の種類には関係がなく、また、“シスト”の形成部位にもとくに差は認められなかった。すなわち、接種部位の皮膚、皮下、表層に近い筋肉に多くの“シスト”が形成され、外観的に“シスト”塊に

表3-2 アユに対するG. plecoglossiの浸漬法による人為感染実験の結果

浸漬時間	実験年月日	検査魚数	感染魚数	感染率 (%)	“シスト”形成部位			実験期間 (日数)	水温 (C)	供試魚の平均体重(g)
					腹腔内器官 (含脾臓)	皮下 ^{注2}	脾臓			
24時間	(1) 1973年 5-7月	実験区	17	17	100	13	17	39	20-21	1.3 (s)
		対照区	31	0	0	-	-	-	-	-
	(2) 1975年 7月	実験区	20	20	100	20	2	31	19.7-21.0	1.9 (f)
		対照区	21	0	0	0	0	0	0	0
17時間	1976年 6-7月	実験区	45	45	100	43	39	33	18.9-20.2	2.4 (f)
		対照区	20	2	10.0	2	0	0	0	0

注1. 本文参照
 注2. 皮膚、皮下、表層に近い筋肉組織、鰓、鰓を含む。
 注3. (s): 実験開始時 (f): 実験終了時

表 3-3 アユに対する G. plecoglossi の皮下接種法^{注1} による人為感染実験の結果

胞子懸濁に 使用した溶液	実験年月日	検査魚数	感染魚数	感染率 (%)	“グルジアシスト”形部位				水温 (°C)	実験期間 (日数)	供試魚の 平均体重 (g)
					腹腔内容管 (含脾臓)	脾臓	皮下 ^{注2}	皮膚			
10%蔗糖液	(1) 1976年 8-9月	実験区12 対照区30	12 0	100 0	7	7	12	7	19.3-20.1	23	9.4
	(2) 1976年 9-10月	実験区12 対照区-	12 -	100 -	12	6	7	6	18.6-19.9	38	16.7
	(1) 1976年 8-9月	実験区20 対照区30	19 0	95.0 0	7	7	19	7	19.3-20.1	22	8.9
	(2) 1976年 9-10月	実験区27 対照区30	27 14	100 46.7	21	10	26	0	18.4-19.4	35	14.0
蒸留水	(1) 1976年 9-10月	実験区16 対照区-	16 -	100 -	13	9	16	9	18.6-19.4	22	15.1
	(2) 1976年 9-10月	実験区14 対照区30	13 14	92.9 46.7	9	7	13	0	18.5-19.4	35	14.0

注1. 本文参照
 注2. 皮膚, 皮下, 表層に近い筋肉組織, 鰓, 鳍
 注3. 実験終了時の平均体重

よる膨隆となって現われた(図24, 25)。実験(b)の(1)では半数以下の魚であったが, その他の実験では半数以上の魚で, 幽門垂および腸の周囲の脂肪組織, 腹膜, 生殖腺, 脾臓に“シスト”形成が認められた。なお, 実験(b)の(2)(c)の(2)の対照区において, 幽門垂の周囲に“シスト”形成が認められた個体が46.7%あったが, これは種苗として採捕される以前に自然感染していたことによるものである。しかし, その時の実験区はいずれの場合も発症率がそれよりも遥かに高かったこと, さらに, 皮下接種点と脾臓における“シスト”形成が, 対照区の魚では全く認められないことから, 皮下接種法によって人為感染が成立したことは明らかである。

接種点における筋肉ならびに皮膚のスタンプ標本を, 接種直後から13日目まで毎日作成し検鏡したところ, 組織球または食細胞による胞子の食作用が認められ(図26, 27), 一部では胞子が破壊, 消滅する像が認められた(図28, 29)。一方では, 接種後2週間後においても, 組織球または食細胞の中にとらえられた胞子が, 接種直後と同様の状態で認められるものも存在した。また, 6日目の標本にシゾントの核と思われるものを有する遊走細胞(図30, 31)や形態の変化した遊走細胞(図32)が認められ, さらに8日目の標本では多くの小さな核を有するものや遊走細胞とは大きく異なる細胞(図33, 34)が認められた。しかし, これらの細胞が, 寄生体がシゾゴニーを開始しているキセノマであるか否かは, 今のところはっきりしない。なお, 組織球や食細胞にとらわれない胞子が, 3日目まではよく認められ(図35), また, それは6日目の標本内にも散見されることも注目されることである。以上, 接種後の胞子の行えや感染, そしてキセノマの発育などを明らかにする上でスタンプ標本による追跡が有効な方法となりうると思われるので, 今後, スタンプの方法, 固定, 染色法などの改良を行い, さらに検討を加える予定である。

一方, 接種点の組織学的観察では, 真皮の鱗囊内, 疎性結合組織, コラーゲン線維組織, 皮下脂肪組織, また, 表層の筋肉組織などにキセノマの形成が認められた(図36 37)。宿主反応は接種14日後までは殆んど認められなかったが, 24日後には各種の遊走細胞や線維芽細胞がキセノマの周

表3-4 アユに対する *G. plecoglossi* の腹腔内接種による人為感染実験の結果

実験年月日	検査魚数	感染魚数	感染率 (%)	注1 “クワケシスト”形成部位			実験期間 (日数)	水温 (C)	注3 供試魚の平均体重 (g)
				腹腔内器官 (含脾臓)	脾臓	皮下			
(1) 1977年 5-6月	実験区 4	4	100	4	4	1	31	18.9-19.6	15.5
	対照区 5	0	0	0	0	0			
(2) 1977年 6-7月	実験区 6	5	83.3	5	3	5	25	19.7-21.7	9.3
	対照区 7	0	0	0	0	0			

注1. 本文参照

注2. 皮膚, 皮下, 表層に近い筋肉組織, 鰓, 鱗

注3. 実験終了時の平均体重

囲に現われ被包化が始まっていた(図37)。しかし、これらのキセノマにおいて、前述(第Ⅱ章第2節)した経口感染の場合のような移動に関してはなら認めることが出来なかった。

Ⅳ. 腹腔内接種法、結果を表3-4にまとめて示した。孢子懸濁液の腹腔内接種により10尾中9尾に“シスト”が認められ、対照区ではまったくそれが認められなかったことから、腹腔内接種により人為感染が成立することは明らかである。なお、1尾の接種魚に“シスト”形成を認めなかったが、その原因は不明である。外観的には、体表の各所に小隆起が認められたが(図38)、これは皮膚や皮下組織、さらに表層に近い筋肉組織内に“シスト”が形成されたことによるものである。また、鰓にも“シスト”が認められた。腹腔内では、幽門垂や腸の周囲の脂肪組織、腹腔、生殖腺、脾臓に認められたが、ここでも脾臓における“シスト”形成がみられた例が多かった(図39)。さらに、特徴的なことは、形成されている“シスト”数が、経口法に比して非常に多く、かつ、その感染部位が多岐にわたっている状態は、自然感染した重症魚に近いものであったことである。

考 察

前述したように、中間媒介生物を用いた経口法が、G. anomala, G. hertwigi (WEISSENBERG, 1921, 1968), G. stephani (OLSON, 1976)およびG. takedai(栗倉, 1974)で、孢子の直接経口法がG. stephani (MCVICAR, 1974)で、接種法がPlistophora hypheobryconis (LOM, 1969)とG. stephani (MCVICAR, 1974)で、そして浸漬法がG. takedai(栗倉, 1974)で試みられ、それぞれ成功したことが報告されている。しかし、本人為感染実験のように、直接的、間接的経口法、浸漬法、接種法のいずれにおいても極めて高い率で感染が成立した例はかってみない。いずれの人為感染法も、アユの微孢子虫症の生物的研究や防除に関する研究に、目的に応じて、また、供試魚の大きさに応じて利用することが出来る。とくに、接種法は小さい魚体には適当ではないが、その簡便さと確実さから最も有効な人為感染法といえる。

人為感染実験の結果で興味深いことの一つは、

経口法と浸漬法とにおいて“シスト”の形成状態が異なることである。経口法の“シスト”発現部位が、幽門垂および腸のまわりの脂肪組織、腹膜に限られているのに対し、浸漬法における“シスト”発現部位は、外観的には、皮膚、皮下組織、表層に近い筋肉組織、鰓葉、鰭の軟条部に認められ、剖検では、経口法と同様な幽門垂や腸のまわりの脂肪組織、腹膜での発現以外に脾臓における発現が認められた。経口法の感染の場合、第Ⅱ章第2節で述べたようにキセノマが幽門垂または腸の粘膜固有層から腹腔内へ移動し、それらの器管のまわりの組織表面に定着して、そこで“シスト”を形成することによると考えられる。それに対し浸漬法の場合、経口法による感染と同様の部位におけるシスト形成がおこることから、一部孢子は経口的に摂取される可能性が考えられるが、経口感染ではみられない部位すなわち皮膚、皮下組織、表層に近い筋肉組織、鰓葉、鰭の軟条部、脾臓に多くの“シスト”形成が起こる。これは、経口以外の感染経路、即ち、経皮や経鰓などがありうることを示唆する。そのことを直接説明するだけの具体的資料は現在のところ不足しているが、図40のように、皮下に一連に並ぶ“シスト”を観察するにつけ、経皮感染の可能性は高いと思われる。

人為感染実験のもう一つの興味深いことは、接種法による感染機序に関することである。前述したように、接種法による“シスト”の発現部位は、皮膚、皮下組織、表層に近い筋肉組織ならびに幽門垂や腸のまわりの脂肪組織、腹腔、腹膜、生殖腺、脾臓であり、経口法とは大きく異なる。このことは、MCVICAR(1974)もG. stephaniの人為感染実験で腹腔内接種法によった時には“シスト”は腹腔内各所に形成されているのに比して、経口法によった時には消化器およびその周囲に限って“シスト”が形成されたと述べている。

いっぽう、皮下接種後、接種点のスタンプ標本の観察から孢子的行くえを追うと、(1)食細胞や組織球による食作用により消滅する孢子、(2)長く食細胞や組織球の中にとどまっている孢子、(3)細胞内寄生が成立してシゾントの形成が行われ、キセノマとなっていると思われる細胞、(4)単独で血流内をただよっている孢子、が認められた。微孢子虫が食細胞や組織球にとりこまれることは、

DYKOVÁ & LOM(1978)も“シスト”の崩壊

時に観察しているし、また、大島(1935)は、蚕に寄生するN. bombycisを二化螟虫(Chilosimplex butler)に接種する実験で、孢子が血淋巴細胞によって捕食され退化させられているのを観察したことを報告している。

この接種された孢子が感染しうる事実は、第二章第3節でのべた“シスト”の崩壊によって魚体組織内に散在する孢子の行くえに一つの示唆を与える。即ち、“シスト”崩壊による散出した孢子による感染がありうることを意味する。経口法における“シスト”発現状態が自然感染魚における初期の軽症魚のそれと似ていること、そして腹腔内接種法による“シスト”発現状態が自然感染重症魚のそれと似ていることは、わずかの孢子(たとえば1個でもよい)に自然経口感染した魚が、その後の外来孢子による感染の機会がなくとも、発育した“シスト”の崩壊により生じた孢子による感染が継起し重症魚となると推論される根拠となる。もちろん、この推論には、接種された孢子が、生体内へ注入される物理的刺激以外の要因で極糸を放出するという仮説が必要である。

以上、人為感染実験の結果等から、感染経路ならびにグルゲア症の発症機序について、いくつかの仮説を持ちつゝ推論したが、ここで、実際の養魚場におけるグルゲア症の発症に関しても考察しておくことは重要なことと思われる。

まず、養魚場におけるグルゲア症の発生は次の二つの条件が満たされたときに起こる。その一つは、G. plecoglossiの養殖池内の侵入、または存続、具体的には既感染種苗の搬入、用水による孢子の流入、前年の罹病魚由来の孢子の残存があること、である。このうち、罹病魚由来の孢子の存在であるが、孢子は、乾燥、高温(60℃)、凍結、紫外線によって容易に殺滅され、また、塩素剤や界面活性剤処理によっても殺滅しうる事が判っている。アユ養魚場では使用開始前に池の天日乾燥と生石灰による消毒が一般に行われていることから、孢子の養魚池内の残留は殆んどありえない。しかし、感染種苗による。また、用水中に孢子が存在する場合のG. plecoglossi侵入防止は困難である。もう一つは養殖用水の水温が20℃以上であることである。水温が18℃附近であれば“シスト”は形成されるが(第四章第1節)、実際には、18℃前後の水温の養魚池では、グルゲ

ア症の被害はほとんどおこらない。その被害が生じるのは20℃以上の水温の場合がほとんどである。

ところで、びわ湖産種苗アユを18℃以上の水温である期間飼育して“シスト”の形成を調べると、その形成部位は幽門垂を中心とする消化管の周囲の脂肪組織に限られている(第1章第2節)。そして、形成される“シスト”の数は1魚体あたり多くて5個であり、ほとんどは1-3個にすぎない。孢子の経口投与による人為感染をさせた魚の“シスト”形成部位はやはり幽門垂を中心とする消化管周囲の脂肪組織である。このことから湖での感染は恐らく孢子を摂取した動物プランクトン捕食によるものと考えられるが、それは別として、人為感染の場合に形成される“シスト”の数は自然感染魚よりも遥かに多い。これを摂取孢子量が多いためとすれば、びわ湖内で稚アユが多量の孢子を摂取することの殆んどないことを上記の事実は物語っている。そこで、湖内での自然感染だけであり、その後の感染が起こらないとすれば、“シスト”の数は限られグルゲア症として恐れられうる状況は起こりえないはずである。しかし、現実には養魚場では大量のシストが形成されたグルゲア症がしばしば発生する。この事集は養魚場に収容後に新たな感染が継起していることを示唆する。ここに“グルゲアシスト”崩壊の意味がある。“シスト”は孢子形成の終了とともに、PAS染色陽性膜の消失が起こり“シスト”は崩壊し、同時に周辺に肉芽腫が形成される。そして、“シスト”内に多量に蓄積された孢子は、肉芽腫内に拡散する。これらの孢子が、腹腔内接種法によって腹腔内に注入された孢子と同様に、新たな感染を引き起こすと考えられる。グルゲア症は、このように魚体内で形成された多数の孢子が“シスト”崩壊後魚体内で感染を起こすことによって起こると考えられる。

一方、グルゲア症の重症魚の存在する養魚用水20ℓを高速連続遠心分離機(久保田製KCF-62型)で濃縮し検鏡すると、G. plecoglossiの孢子が、新しい注入水からは認められないが、排水ならびに循環二次水からは多く認められる。したがって、病アユから、肉芽腫内に拡散した孢子が何らかの経路を通じて体外に排出されることが考えられる。これは、養魚場内で生じた感染源であり、新たな感染をおこすであろう。孢子を懸濁させた

水中にアユをおくことにより人為感染が成立する事実から、この推察は裏付けられる。特に、養魚用水が、循環して再利用されている場合には、孢子濃度は上昇し感染は助長される。また、再利用水が養魚場の多数の池間を循環しているときは、感染は当然養魚場全体に波及する。

以上、“グルゲアシスト”の崩壊が、養魚場内でのグルゲア症発生と罹病魚増加に主要な役割を持っていることを論じた。この“グルゲアシスト”の崩壊は、G. anomalaにおいても認められていることから、Glugea 属に一般的なものであり、種々のグルゲア症における多数の“シスト”形成に関与するものと推察される。

これらの推論を確かめるために、今後、さらに、接種法による感染での孢子の行くえについて、スタンプ法ならびに電子顕微鏡、さらには組織培養法等を用いて検討する予定である。