

シラスウナギのシュードダクチロギルス症と その感染源について

松山 創^{*1}・田中 真^{*1}・佐藤孝幸^{*2}・飯田益生^{*3}

シラスウナギに発生したシュードダクチロギルス症について調査したところ、病魚の鰓には多数のシュードダクチロギルス (Pd) が観察され、その Pd は、中型でサイズが揃っていたことから、飼育後同時期に感染したものと推察された。また、沿岸域及び河口域で採捕された飼育前のシラスウナギには Pd の寄生は見られなかったが、飼育を開始する前の池の中には多数の Pd 卵が残存していることが明らかとなった。この池中の Pd 卵を用いた実験感染により、孵化した Pd はシラスウナギに対して致死的な病原性を示したことから、池に残存する Pd 卵が感染源と推定された。

なお、シラスウナギを池に入れる前に、一定期間飼育水温を上昇させることで Pd 卵を孵化・死滅させることができることから、これにより本病の予防が可能であると考えられる。

キーワード：シュードダクチロギルス、ニホンウナギ、感染源、疾病対策

シュードダクチロギルス (*Pseudodactylogyrus*) 属の単生虫がニホンウナギ (*Anguilla japonica*) に寄生することは露地池養殖時代から知られているが¹⁾、その当時ニホンウナギを養殖する上で問題となることはなかった。1970 年代にはいるとヨーロッパウナギ (*A. anguilla*) 種苗がニホンウナギ種苗の不足を補うために我国に輸入されるようになり、感受性が高いヨーロッパウナギ²⁾は、シュードダクチロギルス寄生を受け被害が生じた³⁾。また、ヨーロッパウナギでは夏季の露地池で「はしり」と呼ばれる大量死がしばしば発生していた。この原因としてシュードダクチロギルスが疑われたが、明らかにされていない。シュードダクチロギルスの深刻な被害については我国に留まらず、ヨーロッパ及びアメリカ合衆国でも発生し、それぞれヨーロッパウナギ (*A. anguilla*) 及びアメリカウナギ (*A. rostrata*) で問題になっている^{4,5)}。我国ではヨーロッパウナギ種苗の導入の減少に伴い、本病は問題にならなくなった。ところが、1975 年以降急速に進んだ養殖池のハウス加温化により、飼育水温が 28℃ から 30℃ と年間を通して高く安定したものになると、ニホンウナギにも本虫が大量寄生するようになった。本虫寄生の成魚に対する影響は摂餌不良による成長低下が見ら

れる程度で死亡することはなかった。

しかし、2004 年以降、本病による大量死がシラスウナギにしばしば発生するようになり問題となっている。このシラスウナギにおける本病の発生は以前からあったものの、薬事法の一部改正によりホルマリンが使用できなくなったことにより顕在化したものである。

今回、シラスウナギに発生した本病の発生原因を推定し、この推定に基づきシュードダクチロギルス卵を用いた実験感染を実施したところ、シュードダクチロギルスがシラスウナギに対して致死的な病原性を持つことが明らかになり、飼育池に残留していたシュードダクチロギルス卵が、本症発生の原因であることが特定できたので報告する。

なお、本研究では *Pseudodactylogyrus anguillae* と *P. bini* が混在していたことから、以下、両者を合わせて Pd と表記し、調査時点での両者の出現割合を記した。

2012 年 2 月 29 日受理

静岡県水産技術研究所浜名湖分場 業績第 153 号

^{*1} 静岡県水産技術研究所浜名湖分場 現富士養鱒場

^{*2} 静岡県水産技術研究所浜名湖分場 現水産振興課

^{*3} 静岡県水産技術研究所浜名湖分場

材料および方法

発生状況

2007年2月に静岡県下のA養殖場で発生した本病について、飼育開始8日目の瀬死魚5尾(平均体重0.13g)を水産技術研究所浜名湖分場に持ち帰り、一般的な寄生虫及び細菌検査を実施した。このとき観察されたPdについては、その数、種類及びサイズについて調査した。調査対象池は広さ100㎡、水深0.5mのハウス加温池で、約10万尾のシラスウナギが収容され30℃で飼育されていた。また、2006年12月から2007年3月までに収容されたシラスウナギの本病発生状況について、トレーサビリティのために記録していた養鰻日誌を基に、浜名湖周辺の32養殖業者に対して聞き取り調査を実施した。発生の確認された業者にはそれ以前の発生状況も合わせて聞き取った。

養殖前のシラスウナギにおけるPd寄生状況

静岡県西部の沿岸域、河口域あるいは浜名湖内で採捕され、蓄養施設に収容されていたシラスウナギについてPd寄生状況を調査した。調査は2006年12月、2007年2月、3月及び2008年3月、11月に、各調査時点60尾ずつ計300尾(平均体重0.16g)について実施した。なおこの時、シラスウナギの蓄養施設における収容状況について聞き取った。

池水交換後に残留するPd卵

浜名湖周辺の32養殖場のうち被害の大きい4養殖場に対して、5月にウナギの選別・移動に伴う池水交換前後の飼育水及び排水後露出した底泥に存在するPdの卵を調査した。飼育水は5Lを、底泥は池中心部付近の泥(直径5.8cm、深さ約2cm)を採取し、これらの中に含まれるPd卵を計数した。また、計数值から池全体のPd卵数を算出した。

Pdのシラスウナギに対する病原性

シラスウナギ130尾(平均体重0.12g)を供試魚とした。15L容のプラスチック製水槽(水量5L)を2槽準備し、水温を26℃に保った。一方を感染区、他方を対照区とし、感染区については供試魚を収容する3日前に約5,000個のPd卵を投入した。供試魚を40尾ずつ水槽に収容し、その後は28℃で20日間イトミミズを給餌して飼育した。死亡状況を観察し、死亡魚については寄生しているPdを計数した。残りの50尾は試験開始前にPd寄生の有無を確認した。

実験感染用Pd卵は、ウナギ15尾(平均体重120g)を75L容水槽(水量15L)に2時間収容し、その間に産卵されたものを回収して使用した。

Pd浮遊卵の係数方法

採取した池水あるいは底泥は100 μ mのメッシュで大きな異物を取除き、このろ液を再度45 μ mのメッシュにかけ、メッシュに残ったPd卵を回収した。回収卵をプランクト

ン計数板に広げ、顕微鏡下で大きさ50~100 μ mの卵円形で一端に柄を持つものをPd卵として計数した。

Pd寄生数の計数方法

ウナギをアミノ安息香酸エチルで麻酔し、切り出した鰓のウェットマウント標本を作製し、顕微鏡下で鰓に寄生しているPdを計数した。

Pd種類の判別方法

切出した鰓を0.2%ホルマリン水で10分間固定した後、攪拌してPdを鰓から剥離した。その後、鰓を取り除き、3,000rpm、5分間の遠心分離により得られた沈殿物を顕微鏡で観察した。確認されたPdについてはエナメル腺とフックの大きさを計測し、その大きさの違いから*P. anguillae*と*P. bini*に区別した。

結果および考察

発病調査

調査した32業者中4業者に1,000尾(約1%)以上、2業者に100尾以上の死亡が記録されていた。摂餌不良まで含めると28%の業者が本病による被害を受けていた。この被害は2005年以降顕著になり、毎年同じ業者が被害を受ける傾向が認められている。また、約30万尾のシラスウナギを約10万尾ずつ3回に分けて同じ池に40日間隔で順次収容した場合、1回目の群には被害が見られなかったものの、2回目の群では643尾(0.6%)、3回目の群では4,540尾(4.5%)の死亡が確認され、遅く池入れした群ほど被害が大きい傾向が認められた。このとき1回目の収容時には池を1ヶ月以上空けて消毒等を行い万全な体制でシラスウナギを受け入れた。しかし、2回目及び3回目はウナギを選別・移動したあと、消毒等することなく翌日には次のシラスウナギを収容していた。

また、A養殖場ではシラスウナギ約25万尾を200㎡のハウス加温式養殖池に収容し、飼育を開始した。開始後4日目から死亡が始まり、25日目までに約88,000尾(35.2%)が死亡した。8日目の瀬死魚を調べたところ鰓に平均19.8尾のPdが寄生していた。それ以外の寄生虫や病原細菌は検出されなかった。病魚は痩せているほか顕著な症状がないことから、鰓のうっ血等の症状が見られるウイルス性血管内皮壊死症等のウイルス病の可能性は低く、Pd寄生による疾病と推定した。

病魚に観察されたPdは95%が*P. bini*で残りの5%は*P. anguillae*であった。寄生していたPdの体長は2群に分かれ(図1)、一方は601から900 μ mの大きさでこれらは全体の90%を占め、他方の10%はそれより小型の201 μ mから400 μ mの群であった。この大多数を占める群は742 \pm 80 μ mと同じ大きさで構成されていたことから、ほぼ

同時期にふ化・寄生した群と推定される。ウナギに寄生する Pd のサイズは *P. bini* では 539 μ m から 1,626 μ m まで、*P. anguillae* では 374 μ m から 1,259 μ m と報告されている³⁾ ことから、今回検出された群は *P. bini* または *P. anguillae* としては中型であった。この群の親である大型の Pd を捜したが確認できなかった。

このようにシラスウナギを収容し、数日で多数の Pd 寄生が確認されたことから、Pd はシラスウナギに種苗購入時すでに寄生しているか、あるいは池入れ後速やかに寄生することが推定される。

養殖前のシラスウナギにおける Pd 寄生状況

冬季日本へ来遊したシラスウナギは沿岸域で採捕された後、養殖業者の手に渡るまで蓄養施設に約 1 週間収容される。この収容中のシラスウナギ 5 ロット、300 尾を調査したが Pd は検出されなかった。蓄養施設はコンクリート製の水槽(約 5m × 2m, 深さ 0.8m)で、飼育水はすべて地下水を使用していることから Pd の卵、幼生及び成虫が侵入することはなかった。また、蓄養水槽にはシラスウナギ以外の魚類は存在せず、週 1 回の出荷時に池は空になることから、蓄養施設内でシラスウナギが Pd の寄生を受けることはないと推定される。

Iwashita *et al.*⁶⁾ は汽水域の天然ウナギに *P. kamegaili* sp.n. が寄生することを報告している。今回の調査では *P. kamegaili* sp.n. が検出されなかったことから、来遊直後のシラスウナギには *P. kamegaili* sp.n. の寄生はほとんどないものと推定される。

また、Koie⁷⁾ や Jakob *et al.*⁸⁾ は海水中に棲むヨーロッパウナギには Pd が感染していないことを報告している。以上のことから、養殖開始前のシラスウナギには死亡を引き起こすような多量の Pd は寄生していないものと考えられ、シラスウナギは飼育開始後 Pd 寄生を受けるものと推察される。

池水交換後に残留する Pd 卵

ウナギの選別・移動に伴う池水交換前後の浮遊卵数及び池水交換時の底泥中の Pd 卵数を調査した(表 1)。池水交換前の卵数は 1L 中 30.4 から 154.8 個、平均 62.4 個であった。ハウス加温式養殖では浮遊卵数は季節変化があることから、今回の調査と同時期の浮遊卵数は田中ら⁹⁾ によると 1L 中平均 26.1 と報告されている。これに比べると、今回の 4 業者の卵数は平均以上であった。その後、飼育水を全て排水し、新たな飼育水を入れた時の卵数は 1L 中 2.8 から 46.4 個、平均 16.4 個と減少したものの池換え前の約 25% が残存していた。また、池替え時露出した底泥中には 1m² 当り平均約 20 万個、池全体では約 1 億個と莫大な数の卵が存在していた。この底泥から検出された Pd 卵は浮遊卵数から推定した池全体の浮遊卵数をはるかにしのぐ値であ

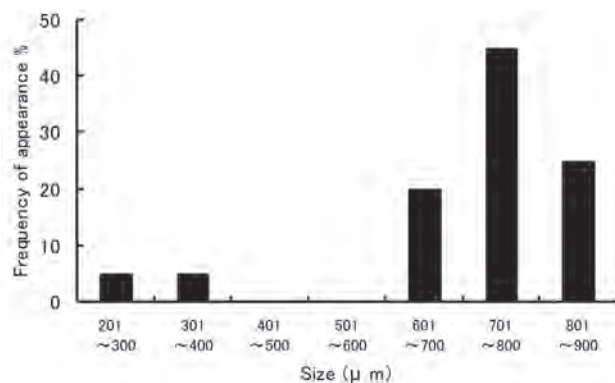


Fig. 1 Size of *Pseudodactylogyrus* spp. observed in the diseased glass eels.
 図 1 病魚に観察されたシュードダクチロギルスの大きさ

表 1 飼育水を排水した池の底泥中に残存しているシュードダクチロギルス卵の数

Table 1 Number of *Pseudodactylogyrus* spp. eggs remaining in the mud of culture pond after drainage

ponds	No. of eggs in the rearing water before drainage		No. of eggs in the mud after drainage		No. of eggs in the rearing water after re-pour water	
	per L	per pond*	per ml	per pond*	per L	per pond*
A	44.8	2.6 × 10 ¹	139,355	1.1 × 10 ⁵	10.4	6.0 × 10 ⁴
B	30.4	2.0 × 10 ¹	51,501	3.4 × 10 ⁴	5.6	3.7 × 10 ⁴
C	41.2	1.9 × 10 ¹	136,325	9.0 × 10 ⁴	2.8	1.3 × 10 ⁵
D	154.8	5.1 × 10 ¹	442,300	1.8 × 10 ⁵	46.4	1.8 × 10 ⁵
average	33.9	3.2 × 10 ¹	192,370	1.0 × 10 ⁵	16.4	7.4 × 10 ⁴

* : Estimated number of Pd eggs existing in the pond.

り、浮遊せず底に沈んでいる卵が多いことが推定される。しかし、これらの卵の生死については確認できていない。

一般に、シラスウナギを池に収容する前には池水交換に加えて塩素消毒等を実施している。ウナギの養殖池では塩素は底泥の有機物で中和され、期待どおりの効果が発揮されないことが推定される。また、Umeda *et al.*¹⁰⁾ は塩素 36mg/L, 24 時間の処理で 17% の Pd 卵が生残することを報告している。したがって、ウナギ養殖池では消毒等の状況により、シラスウナギ収容時に多数の卵が生残している可能性があるかと推察される。

これら残留した卵がふ化し、シラスウナギに寄生したことが本病発病の原因であろうと推定される。なお、病魚に寄生していた Pd の大きさがほぼ揃っていたのは、シラスウナギを池に収容後水温が上昇したことで、それに伴い Pd はいっせいにふ化・寄生したことにより生じたものと考えられる。また、Pd 卵は乾燥により多くは死滅することが知られているが¹⁰⁾、今回調査した被害の大きな 4 養殖場では底泥が乾燥する前にシラスウナギを収容していたことから、これも被害を増大させた一因と考えられ、シラスウナギを収容する前の池の管理状況により、被害に差がでるものと推定される。

Pd 卵のシラスウナギに対する病原性の確認

Pd 卵を浮遊させた水槽にシラスウナギを収容し Pd 卵の病原性を確認したところ(図 2)、20 日間の観察期間中に

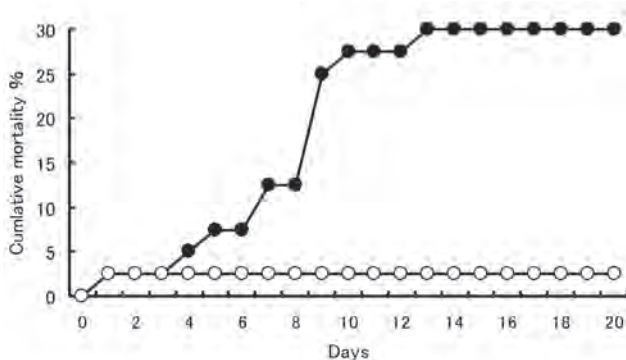


Fig. 2 Cumulative mortality of glass eels exposed to *Pseudodactylogyrus* spp. eggs at 28° C.

● : infected fish ○ : control fish

図2 シュードダクチロギルス卵により28℃で実験感染させたときの累積死亡率

30%が死亡した。対照区では飼育開始2日目に1尾の死亡が認められたが、この死亡魚にはPdは寄生していなかった。同時期に死亡した感染区にもPd寄生が見られなかったことから、これら早期死亡はPd寄生以外の要因、例えば急激な飼育水温の上昇によるものと推察される。また、飼育開始4～5日目の死亡魚にはウナギ1尾当たり平均89個体、7～9日目では平均21個体のPd寄生が確認され、死亡時期と寄生数の間に逆相関が窺われた。養殖場で発生した本病の飼育開始8日目のひん死魚には前述のように平均19.8個体と実験感染魚と同程度の寄生が確認されている。また、5日目の死亡魚に観察されたPdは*P. anguillae*が83%と*P. bini*が17%であった。これらのサイズはそれぞれ $407.5 \pm 111.6 \mu\text{m}$ と $368.5 \pm 124.4 \mu\text{m}$ で、養殖場で発生した本病の飼育開始8日目のひん死魚と比べると小さかった。なお、実験感染前のシラスウナギ50尾にはPdは寄生していなかった。

以上のように、Pd卵を用いた実験感染により、Pdがシラスウナギに対して致死的な病原性を示したことから、池に残留するPd卵が本病の感染源になり得るものと推定される。

P. bini 卵について Chan and Wu¹¹⁾ や Golovin and Shukhgalter¹²⁾ が、*P. anguillae* 卵について 今田・室賀¹³⁾、Golovin and Shukhgalter¹²⁾ 及び田中等⁹⁾ が水温とふ化日数の関係を報告している。これらによると、Pd卵は水温25～30℃では2～5日間でふ化することが記載されている。また、Golovin and Shukhgalter¹²⁾ はPdのオンコミラキジウムがふ化後5～6時間で死亡することを報告している。したがって、池水を25～30℃で5日間保ち、Pdのふ化を促し、幼生の死を待った後に、シラスウナギを池入れすることで、本病が予防できるものと考えられる。

以上のように、シラスウナギに発生したシュードダクチロギルス症について調査し、この感染源を特定したことに

より、本病の予防が可能になったものとする。

本研究遂行にあたりご協力いただいた静岡県水産技術研究所浜名湖分場職員及び浜名湖養魚漁業協同組合職員ならびに組合員に感謝する。

文 献

- 1) Kikuchi H. (1924): Two new species of Japanese trematodes belonging to Gyrodactylidae. *Annot. Zool. Jap.*, 12, 175～186.
- 2) Fang J., S. Shirakashi and K. Ogawa (2008): Comparative Susceptibility of Japanese and European Eels to Infections with *Pseudodactylogyrus* spp. (Monogenea). *Fish Pathology*, 43, 144～151.
- 3) Ogawa K. and S. Egusa (1976): Studies on eel Pseudodactylogyrosis- I. Morphology and Classification of three eel dactylogyrids with a proposal of a new species, *pseudodactylogyrus microrchis*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 42, 395～404.
- 4) Buchmann K., S. Møllergaard and M. Køie (1987): *Pseudodactylogyrus* infection in eel: a review. *Dis. Aquat. Org.*, 3, 51～57.
- 5) Hayward C. J., M. Iwashita, J. Crane and K. Ogawa (2001): First report of the invasive eel pest, *Pseudodactylogyrus bini*, in North America and in wild American eels. *Dis. aquat. Org.*, 44, 53～60.
- 6) Iwashita M., J. Hirata and K. Ogawa (2002): *Pseudodactylogyrus kamegaii* sp.n. (Monogenea: Pseudodactylogyridae) from wild Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Parasitol. Int.*, 51, 337～342.
- 7) Køie M. (1988): Parasites in European eel *Anguilla anguilla* (L.) from Danish freshwater, brackish and marine localities. *Ophelia*, 29, 93～118.
- 8) Jakob E., R.Hael, S.Klimpel and K.Zumholz (2009): Salinity dependence of parasite infestation in the European eel *Anguilla anguilla* in northern Germany. *Journal of Marine Science*, 66, 358～366.
- 9) 田中 眞・佐藤孝幸・松山 創 (2009): ウナギの *Pseudodactylogyrus* spp. (Pd) 寄生に対する飼育水温の影響. *魚病研究*, 44, 133～138.
- 10) Umeda N., H. Nibe, T. Hara and N. Hirazawa (2006): Effect of various treatments on hatching of eggs and viability of oncomiracidia of the monogenean *Pseudodactylogyrus anguilla* and *Pseudodactylogyrus bini*. *Aquaculture*, 253, 148～153.

- 11) Chan B. and B. Wu (1984): Studies on the pathogenicity biology and treatment of *Pseudodactylogyus* for the eels in fish-farms. *Acta Zool. Sin.*, 30, 173 ~ 180.
- 12) Golovin P. P. and Shukhgalter O. A. (1979): The biology of the monogenean parasites of eels from the genus *Pseudodactylogyus*, *Sb. Nauch Trud. Vses. Nauchno-issled. Inst. Prud. Ryb. Khozyaistva (Bolezni ryb i bor'ba s nimi)*, 23, 107 ~ 116.
- 13) 今田良造・室賀清邦 (1978): 養殖ウナギの鰓に寄生する *Pseudodactylogyus microrchis* (単生目) - II 産卵, 孵化及び宿主上での発育. 日本水産学会誌, 44, 571 ~ 576.

Source of Pseudodactylogyrosis infection in glass eels

Hajime Matsuyama, Makoto Tanaka, Takayuki Satoh and Masuo Iida

Abstract Recently, pseudodactylogyrosis in Japanese glass eels, *Anguilla japonica*, has been a serious problem in the eel culture industry in Japan. In the present study, the source of *Pseudodactylogyrus* spp. (Pd) infection in glass eels was investigated. No Pd was detected before the culture in the glass eels caught from the Pacific coast. However, Pd were found in the diseased glass eels that were cultured in ponds, and they were of medium size. From these results, the glass eels were thought to be infected with Pd when transferred to the culture ponds. In addition, a large number Pd eggs remained in the pond even after exchanging the rearing water. The examination using the Pd eggs showed that Pd caused a fatal disease in glass eels. Therefore, the Pd eggs remaining in the pond were presumed to be the source of infection. It is inferred that Pd infection can be prevented by maintaining the rearing water temperature between 25° and 30° C for 5 days before beginning the rearing of glass eels.

Key words: *Pseudodactylogyrus* spp., Japanese glass eel, source of infection, prevention