

研究成果情報

サケ稚魚の原虫病を予防する

みずの しんや

水野 伸也 (北海道立総合研究機構 水産研究本部 さけます・内水面水産試験場),

うらわ しげひこ

浦和 茂彦 (北海道区水産研究所 さけます資源研究部)

はじめに

サケ(*Oncorhynchus keta*)の人工孵化放流事業は、秋に産卵のため河川に遡上した親魚から、卵と精子を採取し、人工受精させ、孵化場で飼育管理を行い、体重1g程度まで成長した稚魚を春に河川へ放流するものです。しかし、孵化場で飼育されている稚魚には、寄生虫病の一種である原虫病がしばしば発生し、死亡被害をもたらします。本報告は、この原虫病対策のために平成26～28年度に実施した、北海道立総合研究機構 重点研究「サケ稚魚の原虫病総合的予防技術開発」で得られた成果を概説します。

サケの原虫病

サケの原虫病の主な原因虫は、鞭毛虫のイクチオボド(*Ichthyobodo salmonis*)と繊毛虫のトリコジナ(*Trichodina truttae*)です。イクチオボドは数種類知られていますが、サケに寄生する虫体は *I. salmonis* に同定されています。本虫は紡錘形の虫体を持ち(図1)、その大きさが約10 μm (100分の1mm)と小さく、寄生数が極僅かな場合、高倍率の顕微鏡観察でも見つけることが困難です。一方、トリコジナは円盤形の虫体を示し(図2)、イクチオボドの約10倍(約100 μm)の大きさがあり、低倍率の顕微鏡観察で見つけることができます。イクチオボドはサケの体表、鱗や鰓に直接寄生して上皮細胞を壊死させるため、体表の上皮層が広い範囲にわたって剥離し、浸透圧調整機能が著しく低下します。そのため、寄生を受けたサケ稚魚は、降海時に海水適応できず大量死亡する可能性が高くなります(Urawa 1993)。一方、トリコジナは、主に体表や鱗の表面に寄生し、放置すると平均寄生数が5,000虫体以上に急増し、淡水中でサケ稚魚の大量死亡を起こすことが感染実験で確認されています(Urawa 1992a)。原虫病の発生は、稚魚の健康阻害や放流後の生残率低下を招き、サケ資源減少の一つの要因になっている可能性が近年指摘されています。原虫病対策として、池から稚魚を取り揚げ、0.4-1%食酢液や高濃度食塩水に浸漬させ駆虫する方法がとられていますが、この方法では稚魚に大きなストレスがかかります(浦和 2003; Urawa 2013)。体力の弱い仔魚では、

池からの取り揚げが難しいため、駆虫できないことも大きな課題です。課題解決のためには、原虫病の予防技術を開発する必要があり、この予防技術として感染経路を断つことと、宿主である稚魚の抗病性を向上させることが考えられます。以下に、この2つの方法を活用した予防技術開発の成果を紹介します。

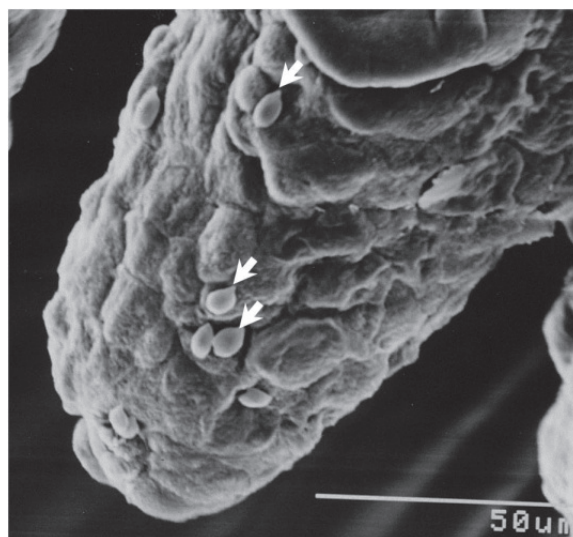


図1. サケ稚魚の鰓に寄生するイクチオボド
矢印が虫体を示す

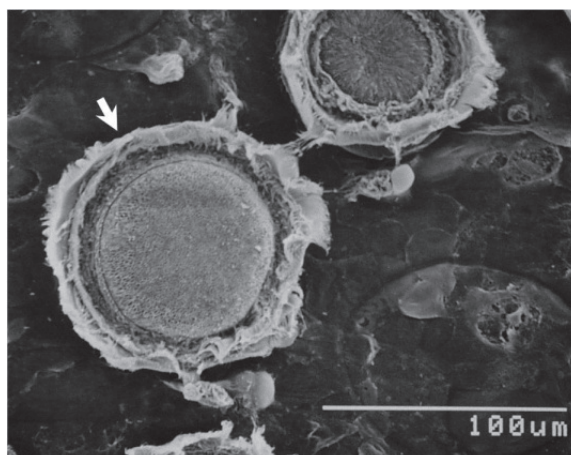


図2. サケ稚魚の体表に寄生するトリコジナ
矢印が虫体を示す

感染経路遮断による原虫病の予防

トリコジナは河川に生息するサケ科魚類が感染源として疑われていますが(Urawa 1992b), イクチオボドの感染経路は不明なため, 先ず感染源と感染経路の解明に取り組みました。河川や孵化場に生息あるいは存在する, 野生魚, 飼育用水, 底質(砂利や泥), 藻類, 水生昆虫等あらゆる検体から, 原虫の検出を試みました。イクチオボドについては, 遺伝子の検出(Mizuno et al. 2017a)で, トリコジナについては, 遺伝子の検出に加え, 直接虫体を観察することで, それらの存在を確認しました。

その結果, イクチオボドとトリコジナは共に, 河川に生息する野生魚と原虫病を発症した稚魚の飼育池の水から検出されました(表1)。トリコジナは, 沿岸および河川に遡上直後のサケ親魚には寄生しませんでした, 河川に滞在したサケ親魚で寄生が確認されました。また, 本虫は河川の上流に生息する野生サケ稚魚に寄生していたほか, サクラマス(*O. masou*), ニジマス(*O. mykiss*), アメ

マス(*Salvelinus leucomaenis*)等, サケ科魚類全般から検出されました。以上のことから, トリコジナは淡水域のみに分布し, 感染源は野生サケ科魚類全般であり(Mizuno et al. 2016), 水を介して感染する可能性が考えられました。

一方, イクチオボドは沿岸, 河口および河川に回遊したサケ親魚に寄生し, さらに河川の上流域や河口域に生息する野生サケ稚魚にも寄生することが確認されました(Mizuno et al. 2017b)。日本において, イクチオボド(*I. salmonis*)はサケのみに特異的に寄生し, 淡水と海水の両環境下で生残・増殖できることが知られています(Urawa and Kusakari 1990)。以上のことから, イクチオボドは淡水から海洋に至るサケの生活史を通して寄生し, 本虫の寄生したサケ親魚が産卵のため母川に回帰した際に, 新たな感染源になることが示唆されました。

しかし, 野生魚に寄生している原虫が, 実際, 孵化場のサケ稚魚に水平感染するかどうかはわかりません。そこで, 原虫の寄生した野生魚を河川で採集し, 原虫の寄生経験のない孵化場のサケ稚

表1. 各種検体からの原虫の遺伝子検出結果

検体	採集地	原虫検出結果	
		イクチオボド	トリコジナ
飼育池水(トリコジナ発症池)	孵化場A	—	+
飼育池水(イクチオボド+トリコジナ発症池)	孵化場A	+	+
飼育池水(原虫病発症なし)	孵化場B	—	—
飼育池水(イクチオボド発症池)	孵化場C	+	—
サケ親魚(沿岸域:海水)	D河口沿岸定置網	+	—
サケ親魚(河川遡上直後)	河川D下流	+	—
サケ親魚(採卵用蓄養後)	孵化場A	+	+
サケ親魚(採卵用蓄養後)	孵化場D	+	+
サケ親魚	河川C上流	+	+
サケ稚魚	河川A上流	+	+
サケ稚魚	河川C上流	+	—
サクラマス親魚	河川A上流	—	+
サクラマス幼魚	河川A上流	—	+
サクラマス幼魚	河川B上流	—	+
ニジマス幼魚	河川A上流	—	+
アメマス幼魚	河川A上流	—	+
アメマス幼魚	河川B上流	—	+
ウキゴリ	河川A上流	—	—
ハナカジカ	河川A上流	—	—
河川水	河川A上流	—	—
河川水	河川B上流	—	—
河川水	河川C上流	—	—
底質(砂利)	河川A上流	—	—
底質(砂利)	河川B上流	—	—
底質(泥)	河川C上流	—	—
藻類	河川A上流	—	—
藻類	河川B上流	—	—
藻類	河川C上流	—	—
ヨコエビ	河川A上流	—	—
ヨコエビ	河川B上流	—	—
トビケラ幼虫	河川C上流	—	—

陽性があった場合は+, 全てが陰性だった場合は—で示す

魚と同居させ、原虫の水平感染が起こるかどうか調べてみました。イクチオボドとトリコジナの混合感染を受けた野生サケ稚魚を用いて感染試験を行ったところ、孵化場稚魚へ両原虫が感染し、孵化場稚魚の累積死亡率が約 80%まで達しました (Mizuno et al. 2017b)。次に、トリコジナの寄生を受けた野生サケラマス幼魚を用いて感染試験を行った結果、孵化場稚魚にトリコジナが感染し、その寄生量は約 1,500 個体/g 体重稚魚まで増加、稚魚の累積死亡率は約 15%まで増加しました (Mizuno et al. 2016)。これにより、野生魚から孵化場稚魚へのイクチオボドおよびトリコジナの水平感染が証明され、孵化場で発症するサケ稚魚の原虫の感染源と感染経路が明らかになりました。飼育用水を介して原虫は感染するので、孵化場稚魚の原虫予防のためには、用水に原虫が侵入しないような工夫や、汚染した飼育資機材との接触をなくすことが必要だと考えられます。これまで実施した実証試験の結果では、感染源のない地下水への変更や塩素剤による飼育池の消毒で、原虫を予防することができました (図 3)。一方、用水を地下水へ変更するためには新たな井戸の掘削が、池消毒には過大な労力が必要になり、技術面とは異なる問題が生じることがわかりました。なお、飼育用水を紫外線(UV)照射することによりイクチオボドとトリコジナの感染を防げることが判ってきました (Mizuno et al. 2018a)。

ハーブ添加飼料給餌による原虫病の予防

植物の成分を飼料に添加して養殖魚に給餌すると、魚類寄生虫の宿主への寄生を軽減する可能性が示されています (平澤ら 2010; 高橋ら 2012)。本研究では、サケ稚魚に植物成分を与えて抗病性を向上させられないかと考え、サケ稚魚の原虫病予防に効果を発揮する植物成分を検索した結果、ハーブの一種であるオレガノから抽出した精油に、高い抗原虫作用があることを発見しました (Mizuno et al. 2018b)。また、市販配合飼料にオレガノ精油を添加してサケ稚魚に与え、原虫病が予防できるかどうか、小規模の飼育試験により検討したところ、イクチオボド、トリコジナの寄生がオレガノ精油添加飼料の給餌により有意に抑制されることがわかりました。次に、孵化場の飼育池を用いた 50 日間のサケ稚魚の飼育で、予防技術が有効かどうか調べた結果、対照群 (オレガノ精油を給餌しない群) ではイクチオボドとトリコジナが 50 日間で 2 度寄生したのに対し、オレガノ給餌群ではイクチオボドが 50 日間、トリコジナが 38 日間全く寄生しないことがわかりました (図 4)。この飼育試験では、対照群において、一度食酢浴による稚魚の回復作業が必要になりましたが、オレガノ給餌群には、この作業が期間中不要でした。以上の結果から、オレガノ精油添加飼料の給餌がサケ稚魚の原虫病予防に有効であることが実

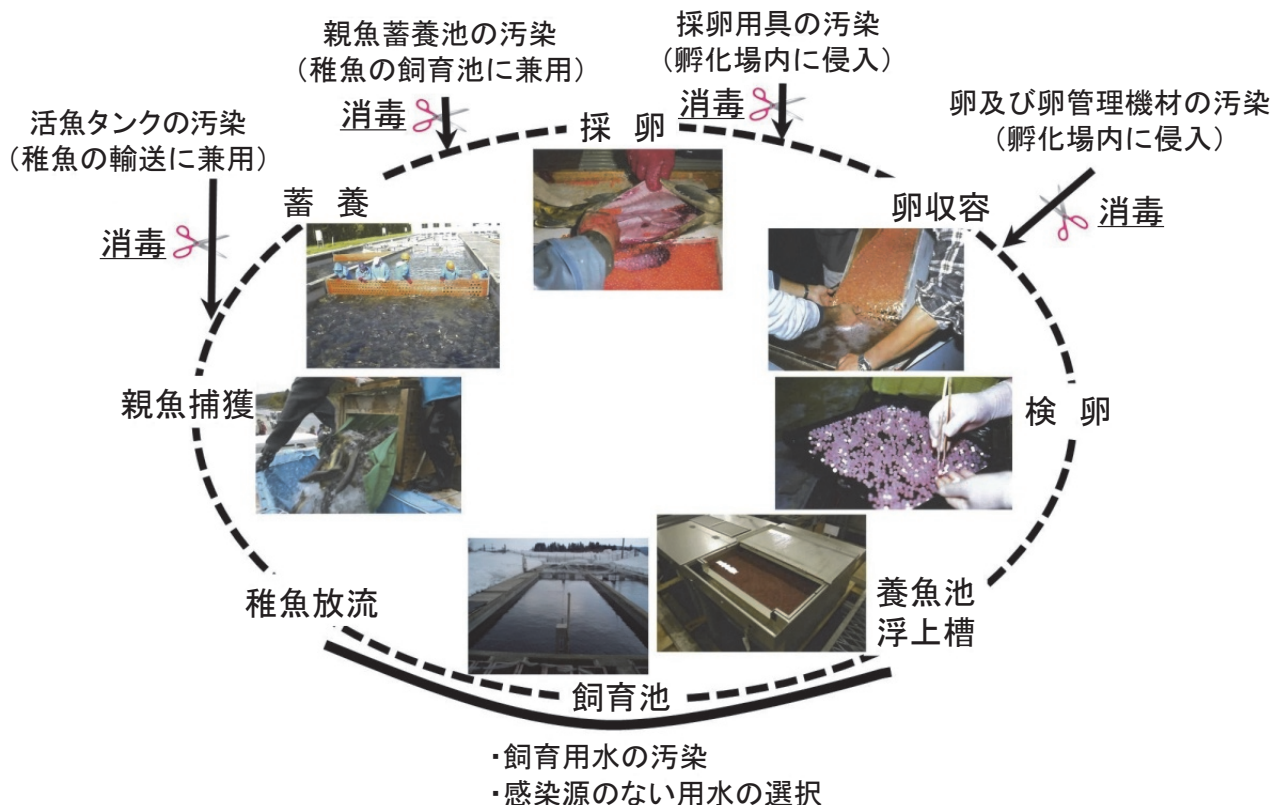


図 3. 孵化場で想定される感染経路遮断による原虫病予防技術

証されました。一方、この予防効果が発揮されるまでに、7日間の予防給餌が必要であり、給餌開始前あるいは予防給餌7日の間に原虫が稚魚に寄生してしまう場合、この予防効果が低下するという課題も明らかになりました(図4)。

おわりに

原虫病の予防には、感染経路遮断やハーブ添加飼料の給餌が有効であることがわかりました。しかし、各予防技術を実用化するためには、過大な設備投資や労力の必要性、原虫の寄生開始時期を考慮に入れる必要があります。今後、各孵化場で原虫病予防試験を実施し、孵化場毎に、何れの予防技術が最適なのか明らかにしていく必要があります。

本研究にご協力いただいた、公益社団法人北海道さけ・ます増殖事業協会の皆様、一般社団法人道内各管内さけ・ます増殖事業協会の皆様に厚くお礼申し上げます。

引用文献

- Mizuno, S., Urawa, S., Miyamoto, M., Hatakeyama, M., Saneyoshi, H., Sasaki, Y., Koide, N., and Ueda, H. 2016. The epidemiology of the trichodinid ciliate *Trichodina truttae* on hatchery-reared and wild salmonid fish in Hokkaido. *Fish Pathol.*, 51: 199-209.
- Mizuno, S., Urawa, S., Miyamoto, M., Hatakeyama, M., Koide, N., and Ueda, H. 2017a. Quantitative analysis of *Ichthyobodo salmonis* an ectoparasitic flagellate infecting juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta* in hatcheries. *Fish. Sci.*, 83: 283-290.
- Mizuno, S., Urawa, S., Miyamoto, M., Saneyoshi, H., Hatakeyama, M., Koide, N., and Ueda, H. 2017b. Epizootiology of the ectoparasitic protozoans *Ichthyobodo salmonis* and *Trichodina truttae* on wild chum salmon *Oncorhynchus keta*. *Dis. Aquat. Org.*, 126: 99-109.
- Mizuno, S., Urawa, S., Miyamoto, M., Hatakeyama, M., Koide, N., and Ueda, H. 2018a. Experimental evidence on prevention of infection by the ectoparasitic protozoans *Ichthyobodo salmonis* and *Trichodina truttae* in juvenile chum salmon using ultraviolet disinfection of rearing water. *J. Fish Dis.* DOI:10.1111/jfd.12920.
- Mizuno, S., Urawa, S., Miyamoto, M., Hatakeyama, M., Sasaki, Y., Koide, N., Tada, S., and Ueda, H. 2018b. Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on prevention of the ectoparasitic protozoans *Ichthyobodo salmonis* and *Trichodina truttae* in juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta*. *J. Fish Biol.* 1-12. <https://doi.org/10.1111/jfb.13681>.
- 平澤 徳高・平田 龍善・大高太郎・秦和彦. 2010. 魚類寄生虫の治療剤、その使用方法および用途. 特許庁. 特許第 4530307 号.
- 高橋隆行・興石友彦・宇川正治・天野高行. 2012. 養殖魚の寄生虫寄生軽減剤、養殖魚の寄生虫寄生軽減用飼料及び養殖魚の飼育方法. 特許庁. 特許第 5010809 号.
- Urawa, S. 1992a. *Trichodina truttae* Mueller, 1937 (Ciliophora: Peritrichida) on juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*): pathogenicity and host-parasite interactions. *Fish Pathol.*, 27: 29-37.
- Urawa, S. 1992b. Host range and geographical distribution of the ectoparasitic protozoans *Ichthyobodo necator*, *Trichodina truttae* and *Chilodonella piscicola* on hatchery-reared salmonids. *Sci. Rep. Hokkaido Salmon Hatchery*, 46: 175-203.
- Urawa, S. 1993. Effects of *Ichthyobodo necator* infections on seawater survival of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Aquaculture*, 110: 101-110.
- 浦和茂彦. 2003. さけ・ます類に外部寄生する原虫類の病理と対策. さけ・ます資源管理センターニュース, 11: 1-6.
- Urawa, S. 2013. Control of the parasitic flagellate *Ichthyobodo salmonis*, a causative agent of marine mortalities of juvenile chum salmon. *NPAFC Tech. Rep.*, 9: 214-215..
- Urawa, S. and Kusakari, M. 1990. The survivability of the ectoparasitic flagellate *Ichthyobodo necator* on chum salmon fry (*Oncorhynchus keta*) in seawater and comparison to *Ichthyobodo* sp. on Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J. Parasitol.*, 76: 33-40.

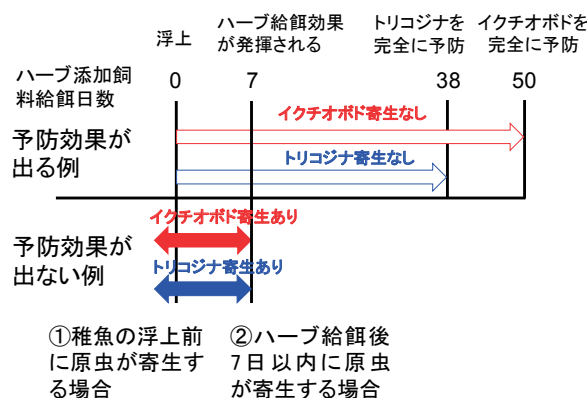


図4. ハーブ添加飼料給餌によるサケ稚魚の原虫病予防技術上段は予防効果が出る例、下段は予防効果が出ない例を示す