

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 Yasoja Sujeewanee Liyanage

1994年、新潟県のニシキゴイ養殖場で体表に著しい出血を呈して親魚が死亡する事例があり、粘液胞子虫 *Thelohanellus hovorkai* (以下、本種) による「出血性テロハネルス症」と診断された。従来、本種は病害性がほとんどないと考えられていたため、なぜニシキゴイが死に至るほど異常に寄生したのか、疑問が持たれた。粘液胞子虫の生活環には交互宿主として貧毛類などの無脊椎動物が関与している。本種についても、エラミミズの体内で変態した放線胞子虫がコイへの感染ステージとなることが証明されている。本研究では、コイの出血性テロハネルス症について病理学的・疫学的に調査するとともに、本種の発育動態や発病メカニズムを実験的に解明し、実用的な感染防除対策を開発することを目的とした。

### 養鯉池における疫学的調査

新潟県のニシキゴイ養殖場において1996年6～7月に未感染のニシキゴイを7週間飼育し、定期的に採材して検査した。その結果、3週目から発病がみられ、5週目以降では明らかに発症して死亡する魚が増加した。病理組織により、皮膚出血患部に多数の胞子と充血、出血および水腫などの顕著な病変が確認された。患部組織をトリプシン処理して胞子を定量した結果、腹側筋肉内の胞子数が約50,000胞子/gを超えたときに典型的な病徴を呈した。発病した養魚池は底質が富栄養的な泥であり、貧毛類はエラミミズが優占的で、本種の放線胞子虫の寄生率は最高で80.8%に達した。一方、発病歴のない茨城県内のマゴイ養殖場では底質は砂で、貧毛類相も異なり、放線胞子虫も検出されなかった。

### 出血性テロハネルス症の実験的再現

未感染のニシキゴイとマゴイを用いて、流水式水槽で以下の5試験区を設けた：発病のみられた養鯉池のエラミミズとニシキゴイ（実験区1）またはマゴイ（実験区2）を同居飼育する区、エラミミズ飼育槽からの排水でニシキゴイを飼育する区（実験区3）、ミミズ飼育水と全く接触させないニシキゴイとマゴイの対照区。その結果、実験区1と2で4週間後から発病が見られた。一方、実験区3では、軽度の感染は起きたものの病徴や死亡は見られなかった。また、同居区の魚では腸管壁や腹側筋肉に、排水飼育区では鰓に胞子が多く分布した。なお、対照区では感染しなかった。実験終了後、同居区の水槽からエラミミズが回収されなかったことから、発病したコイは寄生したエラミミズを大量に摂食したと考えられる。

### 実験感染系における貧毛類および魚体内での発育動態

エラミミズから採集した放線胞子を用いてコイに対する感染実験を行った。蛍光色素 CFSE で標識した放線胞子に浸漬して 30 分以内に、標識された胞子原形質が鰓弁から侵入するのが観察された。1 週間後には皮下組織などに多核の発育ステージがみられ、3 週間後には成熟胞子が形成され、シスト崩壊に伴い周辺組織に散逸した。放線胞子の経口投与によっても同様の発育過程が観察されたが、寄生部位は異なった。発病は全ての経口投与区および高濃度浸漬区において再現された。水温については、20℃よりも 25℃の方が寄生強度が高い傾向にあった。また、コイの品種の違いによる感受性の差は見られなかった。本種の粘液胞子を未感染のエラミミズに投与し、異なる水温で飼育した結果、20℃および 25℃飼育 43 日目から放線胞子が放出され、70~90 日目でピークに達した。15℃では 94 日目に初めて胞子が検出されたが、量は少なかった。以上より、水温 20-25℃の飼育条件では、本種の生活環は 3 ヶ月で回ることが明らかになった。また、コイの品種や感染経路にかかわらず放線胞子虫を大量に取り込むことで発症することが証明されたが、実際には経口的に摂取することで発病しやすいと思われる。

#### 貧毛類相の操作による生態学的・生物学的制御法

エラミミズは泥質を好み砂質からは逃避する行動が観察され、砂質内では生残率が低下した。一方、他の貧毛類では目立った基質嗜好性は認められなかった。エラミミズと他の貧毛類を混合飼育したところ、エラミミズ単一飼育と比べて放線胞子放出量および寄生率が減少した。これらの結果より、養魚場の底質を泥から砂に替えることで貧毛類相が変移し、本種の密度を低下させることができると考えられる。次に、ドジョウ、キンギョおよびコイにエラミミズを給餌したところ、3 魚種とも同程度に摂食することがわかった。さらに、ドジョウとキンギョは本種の放線胞子の感染に抵抗性があることが確認された。この結果から、上記のような非感受性魚種を養魚場に放養して底泥の貧毛類を捕食させれば、有効に本種密度を減少させられる可能性がある。

以上のように、本研究はコイの出血性テロハネルス症についてフィールド調査および感染実験によって発症機序や対策を検討したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。