

マツカワの体表に寄生したトリコジナ類の駆虫方法 – I 体表粘液片の短期培養技術を用いたトリコジナ類の淡水耐性力の検討

萱場隆昭*, 松田泰平*, 杉本 卓*

Parasitocidal treatment against the fish-pathogenic protozoan *Trichodina* sp., an ectoparasite on the body surfaces of cultured barfin flounder, *Verasper moseri*. - I
Freshwater tolerance of *Trichodina* sp. as determined by a short-term incubation of epidermal mucous secretions from infected fish.

Takaaki KAYABA*, Taihei MATSUDA* and Takashi SUGIMOTO*

The purpose of this study was to develop a new and clean protocol for the control of *Trichodina* sp. infections on cultured barfin flounder, which could replace the use of a formalin bath. Firstly, in order to examine the environmental tolerance of *Trichodina* sp. in detail, short-term incubation of *Trichodina* sp. was established. Epidermal mucous secretions harbouring parasites were collected from the body surface of infected barfin flounder, smeared on a slide glass, and immersed in filtered seawater. Incubations were done at 3 different temperatures (5 °C, 15°C and 20°C), each of which yielded a high rate of live parasites (42.5-83.3 %) after 8 hours, suggesting that *Trichodina* sp. could readily survive under these culture conditions. Secondly, using this culture system, the effects of immersion of parasites in fresh water or in 25% or 50% sea water on vitality of *Trichodina* sp. were examined. The rate of surviving parasites after incubation in fresh water decreased sharply and reached 0 % by 30 minutes of incubation; immersion in partial sea water did not cause a distinct reduction in vitality of parasites. Indeed, successive observations on the morphology and vitality of parasites immersed in fresh water indicated that immersion for at least 30 minutes was essential for inducing the parasite to burst and die. Accordingly, it is suggested that a freshwater bath of infected barfin flounder for 30 minutes may prove very suitable as a new parasitocidal method against *Trichodina* sp. infection in an aquaculture environment.

キーワード：マツカワ，トリコジナ，短期培養，淡水浴

はじめに

マツカワ *Verasper moseri* は北海道における重要な栽培漁業対象種である。種苗生産技術の発展によって種苗の安定供給が可能となり、これまで太平洋およびオホーツク海沿岸の海域協議会では放流用種苗の中間育成が盛んに行われてきた¹⁾。また、本種は養殖魚としても注目されており、道内数ヶ所の漁業協同組合では試験的に海中養殖を実施している²⁾。このように近年になってマツカワの飼育は道内各地で幅広く行われるようになった。

一方、同時に感染症や寄生虫病の発生も懸念され、防疫対策を早急に整備することが強く望まれている³⁾。

ヒラメ、マダイ、トラフグなど海産魚類の養殖現場において、原虫類繊毛虫門のトリコジナ (*Trichodina* 属) による被害が数多く報告されている⁴⁻⁶⁾。魚類寄生性のトリコジナ類はドーム型で、下面の付着盤中央の歯状体環と周囲の繊毛によって体表や鰓組織に付着する (Fig.1)。寄生を受けた魚では上皮が著しく損傷するとともに粘液を多量に分泌して衰弱が進む。マツカワの中

報文番号 A410 (2007年2月16日受理)

* 北海道立栽培水産試験場 (Hokkaido Mariculture Fisheries Experiment Station, Muroran, Hokkaido 051-0013, Japan),
e-mail: kayabat@fishexp.pref.hokkaido.jp

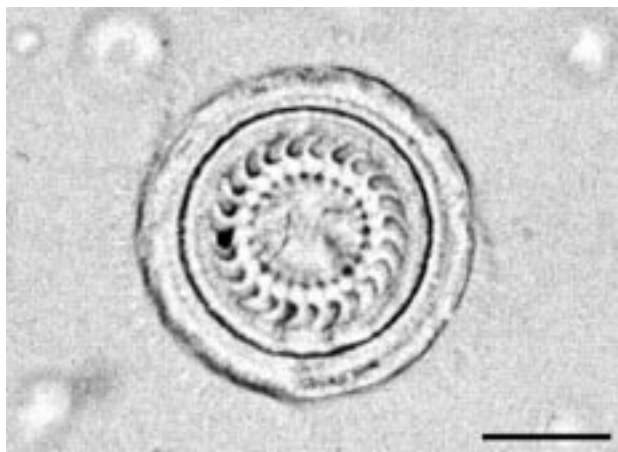


Fig. 1 Photograph of *Trichodina* sp. collected from the body surface of cultured barfin flounder.
Bar = 30 μ m.

間育成や親魚養成過程でも、トリコジナ症が高い頻度で発生する。罹患したマツカワには粘液過多や体表のうっ血、鰭先端のただれなど外観上の障害が認められる。また、大増殖すると摂餌減退や狂奔遊泳による水槽外への飛び跳ねが生じるため、飼育管理上の大きな問題となっている。

これまでトリコジナ類の駆虫法として、ホルマリンによる薬浴が対症療法的に行われてきた。マツカワでも濃度100ppmのホルマリン海水浴（1時間）によって完全に駆虫できることが明らかである。しかし、近年、薬事法の改正によって未承認医薬品である本剤を飼育魚へ使用することが全面禁止となり、現在、使用できるトリコジナ類駆虫剤は開発されていない⁷⁾。そのため、効果的であり、且つ、環境面や食品衛生面でも安全な駆虫方法を早急に開発することが望まれている。

一般に、有害微生物を同定しその性状を検査する上で、生体外で単離培養できる実験系は極めて有効である。多くの魚病原因ウイルスや細菌、さらに一部の原虫ではそれぞれに適した魚類培養細胞や人工培地が開発されており、診断法や治療薬の開発に役立っている⁸⁻¹⁰⁾。一方、トリコジナ類を継代的に培養できる培養系は未だ開発されていない。そのため、トリコジナ類の薬剤耐性や駆虫方法を検討する際には、罹患魚を実際に種々の薬剤液中に浸漬し、その効果を判定する方法が試行されている。しかし、この方法は対象魚に多大なストレスを与えるものであり、希少種であり、且つ、高価なマツカワにとっては好ましくない。そこで、本研究ではトリコジナに寄生されたマツカワから体表粘液を採取し、粘液片とともに寄生しているトリコジナを短期間培養できるかどうかについて調べた。さらにその培養系を用い、トリコジナに対して有効な殺虫方法や条件、中でも淡水浸漬の影響

について詳細に検討した。

材料及び方法

1. 供試魚および体表粘液片の培養手法

実験には北海道立栽培漁業総合センターで種苗生産し、親魚として養成したマツカワ人工養成魚（満1歳）を用いた。2004年9月に8 t FRP水槽で飼育していた250尾のうち20尾を無作為に取り上げて体表を検鏡した。その結果、全個体トリコジナの寄生を受けており、その寄生数は体表5 mm四方内あたり72~218虫体であった。そのため、以下の全実験にはこの水槽内で飼育されている個体を使用した。

Fig.2に体表粘液片の培養法の概略図を示した。まず、トリコジナの寄生を受けたマツカワを無作為に一尾取り上げ、有眼側背部の体表粘液片（粘液、表皮、鱗などを含む）を約1 cm分メスで掻きとった。採取した粘液片をろ過滅菌した海水で軽く洗浄した後、5 mm四方の格子が刻まれたスライドグラス上に塗布した。さらに粘液片が完全に浸るように培養溶媒を2 ml滴下した。これらを湿度100%となるように設定したモイスチャーチャンバー内に静置し、その後、恒温器内でインキュベートした。

2. 培養温度とトリコジナの生存との関係（培養適温範囲の把握）

トリコジナを良好な状態で維持できる培養温度について調べた。トリコジナの寄生を受けているマツカワ1歳魚から体表粘液片を採取し、それらを滅菌ろ過海水で培養した。本実験では3群の培養シリーズを設け、それぞれ5℃、15℃および20℃に設定した恒温器内でインキュベートした。インキュベート開始から30分後、1時間後、3時間後、6時間後、8時間後、24時間後および48時間後に顕鏡し（各群3粘液片ずつ）、格子内に観察されたトリコジナの総数（以下、トリコジナ数と略す）を計数した。また、観察したトリコジナのうち、繊毛運動が認められた虫体の比率（運動虫体率）を算出した。

3. 淡水浸漬によるトリコジナ殺虫効果

トリコジナの運動性や生存に及ぼす淡水浸漬の影響について調べた。スライドグラスに塗布した体表粘液片にろ過海水（対照区）、水道水（100%水道水区）、水道水とろ過海水が3：1の割合になるように混ぜ合わせた希釈水道水（75%水道水区）、またそれらを1：1で混合した希釈水道水（50%水道水区）を滴下し、15℃でインキュベートした。尚、使用した水道水は鹿部町の飲用浄水（硬度24、塩化物イオン6.3mg/L、蒸発残留物80mg/L）

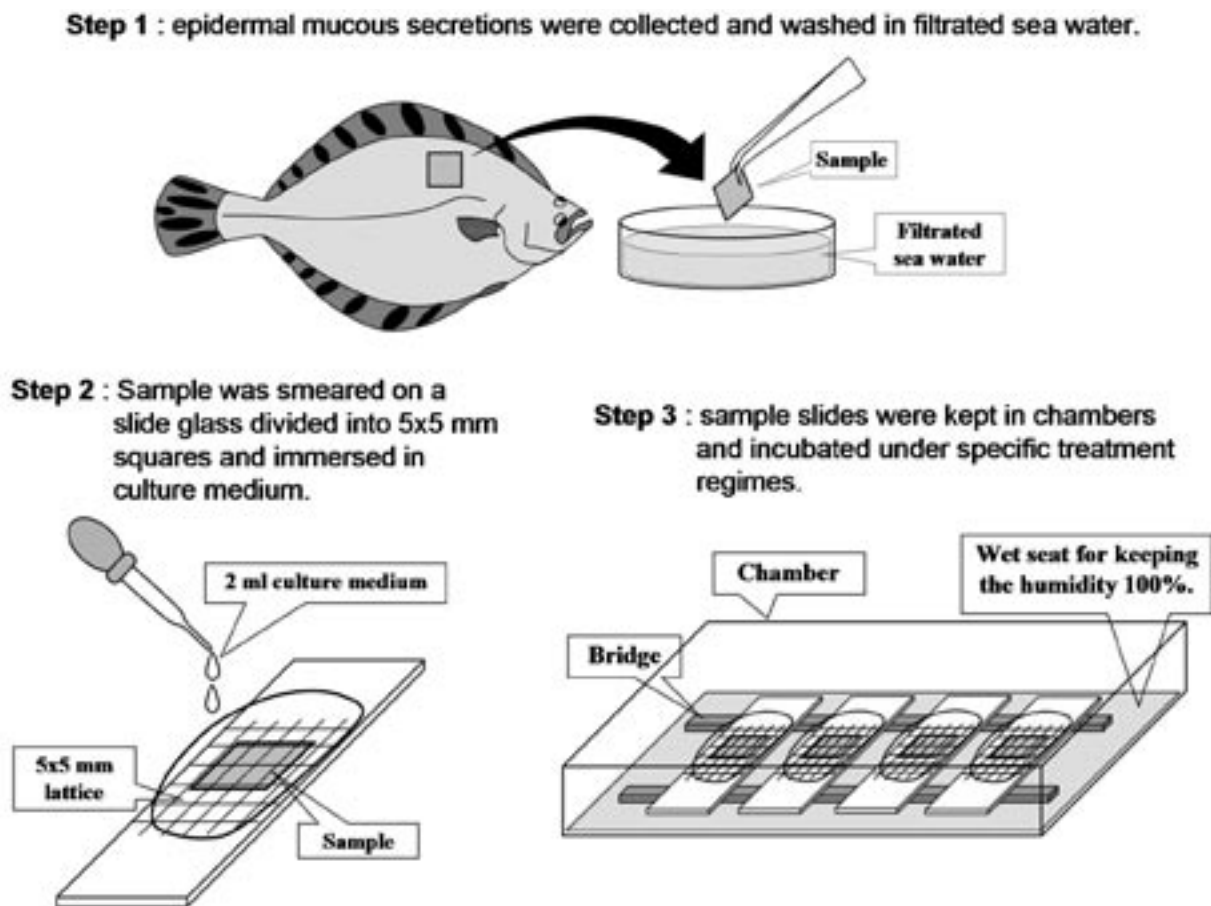


Fig. 2 Schematic illustration of the short-term incubation protocol of epidermal mucus secretions collected from cultured barfin flounder infected with *Trichodina* sp.

である。さらに従来トリコジナ駆虫に使用されていたホルマリン海水（200ppm）、さらにスズキ目・フグ目魚類のハダムシ駆虫剤である過酸化水素製剤マリンサワーSP30（200ppm）で培養する実験区も設け、淡水浸漬区との比較を行った。いずれもインキュベート開始から15分後、30分後、1時間後および2時間後に顕鏡し（各群3粘液片ずつ）、トリコジナの形態変化を観察するとともに運動虫体率を求めた。

4. 短期培養実験を用いた淡水浴の有効処理時間の検討

淡水浸漬時間とトリコジナの形態および運動活性との関連性について調べた。体表粘液片を塗布したスライドグラスを4群設定した。第一群は対照区とするため、ろ過海水に浸漬して60分間インキュベートした（SW60min区）。一方、残りの群にはすべて無希釈の水道水を滴下した。その内、第二群は水道水に浸漬したまま60分間培養したが（FW60min区）、第三群および四群においては、それぞれ水道水で15分間、または30分間浸漬した後に溶媒をろ過海水に切り替えた（FW15min区およびFW30min区）。インキュベート開始から5分、10分、15分、

20分、30分および60分後に顕鏡し、トリコジナの形態変化を継続的に観察するとともに、運動虫体率を求めた。

5. 統計学的解析

統計学的手法によって培養前後間のトリコジナ数および運動虫体率の差を検定した。前者の有意差判定に際しては一元配置分散分析（ANOVA）を行った後、Tukey法により多重比較を実施した（ただし、等分散と認められないデータの場合にはKruskal-Wallis検定で処理）。また、比率データである後者に関しては、山田・北田¹¹⁾の方法に従って逆正弦変換し、等分散性を確認した後にTukey法により多重比較を実施した。

結 果

1. 培養温度とトリコジナの生存との関係（培養適温範囲の把握）

Fig.3に各温度下でインキュベートしたトリコジナの総数と運動虫体率を示した。培養開始前の平均トリコジナ数は 124.3 ± 53.9 であり、そのうち約8割の虫体で活発な繊毛運動が認められた。いずれの温度区でも培養8時

間後までトリコジナ数, 運動虫体率ともに培養開始前と明確な変動が認められなかった ($p > 0.05$)。一方, 24時間および48時間後に再び観察したところ, 5℃区ではまだ活発に運動しているトリコジナが観察できたが, 15℃区および20℃区においてはほぼ全てのトリコジナが死滅していた。これらの区では培養海水中に細菌(未同定)が大量に繁殖しており, 細菌は特に死亡したトリコジナの周囲に集中していた。

2. 淡水浸漬によるトリコジナ駆虫効果

Fig.4およびTable 1に, ろ過海水, 水道水, 希釈水道水(75%および50%水道水), 過酸化水素製剤およびホルマリン海水下でインキュベートしたトリコジナの運動虫体率を示した。ろ過海水で培養した対照区においては, 実験期間を通して運動虫体率が70.0~94.0%と高いままであった。これに対し, 水道水で培養した実験区では, 培養15分後, 運動虫体率が7.9%まで急減し, 30分後にはほぼ全てのトリコジナの運動が停止した。水道水中におけるトリコジナの形態変化について観察した結果, 浸漬後, トリコジナは著しく膨張し, 扁平な円盤型から釣り鐘型へと変化した。さらに30分経過すると体液が漏出し,

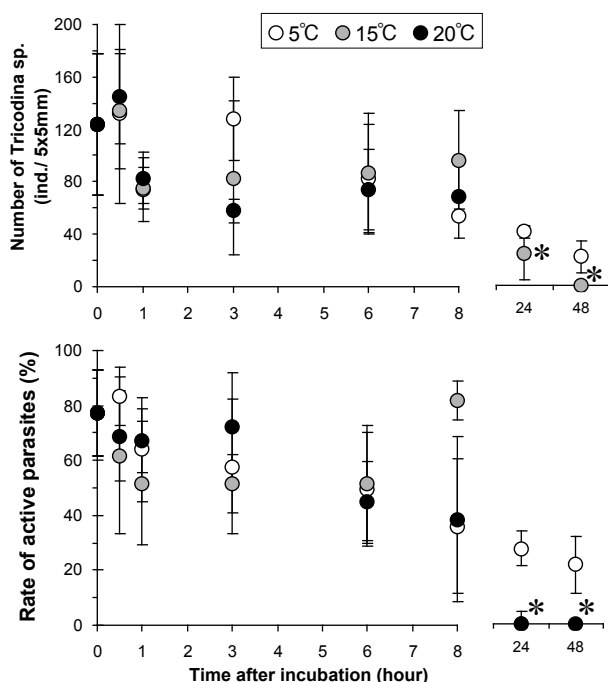


Fig. 3 Relationship between incubation temperature and vitality of *Trichodina* sp. collected from cultured barfin flounder.

Panels show the number of parasites (ind./5 x 5 mm; top) and the percentage of active parasites (bottom) in epidermal mucus secretions after incubation in filtered sea water at 3 different temperatures, respectively. Each bar indicates standard deviation. * indicates significant difference to the initial value of each incubation group ($P < 0.05$).

虫体が破裂した (Fig.5A)。

75%希釈水道水で培養した場合, 運動虫体率は一時約40%程度まで低下したが, その後徐々に増加し, 60分後には培養開始時と同レベルとなった。また, 50%希釈水道水で培養した区では, 実験期間を通してトリコジナの形態および運動虫体率に変化は認められなかった。

マリンサワーSP30で培養した実験区において, トリコジナの運動活性には全く影響が認められなかった。これに対し, ホルマリン海水で培養した場合, 運動虫体率は浸漬直後から急速に低下し, 15分後で0%となった。また水道水で培養した場合と異なり, ホルマリン海水中では虫体の膨張が認められず, 培養開始前と同じ形態のまま運動を停止していた (Fig.5B)。

3. 短期培養を用いた淡水浴の有効処理時間の検討

Fig.6およびTable 2に水道水浸漬時間別の培養実験の結果を示した。ろ過海水でインキュベートした対照区では, 培養期間を通して運動虫体率が82.2~96.6%と高いままであった。一方, 水道水に浸漬した3実験区(FW60min区, FW30min区およびFW15min区)においては, 培養開始後, 徐々に運動虫体率が低下し, 15分後には約10%となった。60分間水道水で培養したFW60min

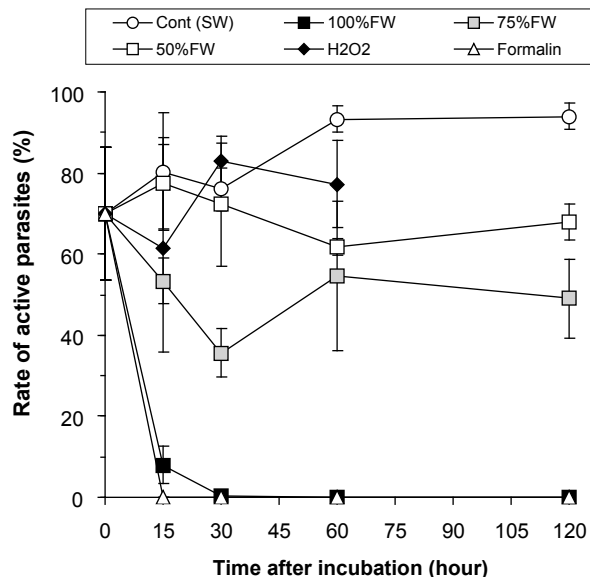


Fig. 4 Changes in relative abundance of active *Trichodina* sp. after incubation in a range of media. Bars represent standard deviation.

White circle: Incubation with filtered sea water (Cont); Black square: Incubation with undiluted fresh water (100%FW); Gray square: Incubation with 75 % fresh water which was diluted with sea water (75%FW); White square: Incubation with 50 % fresh water which was diluted with sea water (50%FW); Black diamond: Incubation with hydrogen peroxide (H_2O_2); White triangle: Incubation with formalin (Formalin).

Table 1 Effects of immersion in fresh water, partial sea water, hydrogen peroxide and formalin on vitality of *Trichodina* sp. collected from the body surface of cultured barfin flounder.

Time after incubation (minutes)	Rate of active parasites (Mean $\pm$ SD %)					
	Sea water (Control)	Fresh water 100%	Sea water 25% Fresh water 75%	Sea water 50% Fresh water 50%	Marinsour 200ppm in sea water	Formalin 200ppm in sea water
0	70.0 $\pm$ 16.4	70.0 $\pm$ 16.4 ^a	70.0 $\pm$ 16.4 ^a	70.0 $\pm$ 16.4	70.0 $\pm$ 16.4	70.0 $\pm$ 16.4 ^a
15	80.3 $\pm$ 14.5	7.9 $\pm$ 6.7 ^b	53.4 $\pm$ 5.7 ^{ab}	77.5 $\pm$ 11.3	61.4 $\pm$ 25.5	0.0 ^b
30	76.0 $\pm$ 5.2	0.2 $\pm$ 0.4 ^b	35.6 $\pm$ 6.0 ^b	72.2 $\pm$ 15.7	82.9 $\pm$ 6.2	0.0 ^b
60	93.3 $\pm$ 3.2	0.0 ^c	54.6 $\pm$ 18.4 ^{ab}	61.7 $\pm$ 2.1	77.2 $\pm$ 10.7	0.0 ^b
120	94.0 $\pm$ 3.2	0.0 ^c	49.1 $\pm$ 9.7 ^{ab}	67.9 $\pm$ 4.6	No data	0.0 ^b

Different letters indicate significantly different treatment means at each incubation time at the 0.05 level.

区, また30分間水道水で培養した後に海水に置換したFW30min区においては, その後も運動虫体率が低値のままであり, 実験終了時に生存しているトリコジナはほとんどいなかった。これに対し, 15分間のみ水道水で培養したFW15min区では, 海水に置換後, 運動虫体率が徐々

に増加し, 実験終了時は約40%の虫体で活発な運動性が認められた。また, 本実験においてトリコジナの形態変化を経時観察した。その結果, FW15min区では水道水浸漬によってトリコジナは一時膨張したが, 15分後海水に戻すと通常の扁平な円盤形に戻り再び活発に運動した (Fig.7)。これに対し, FW30min 区においては30分間の水道水浸漬によって虫体が破裂したために海水に戻しても元の形状に戻れず死滅した。

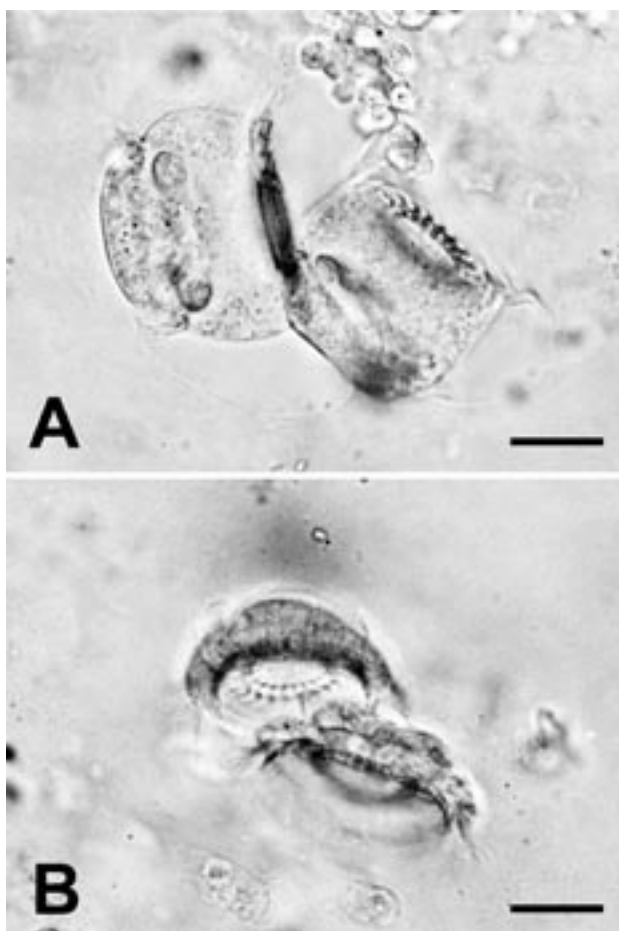


Fig. 5 Photograph of *Trichodina* sp. incubated with (A) fresh water or (B) formalin solution (200 ppm) for 30 minutes. Bar = 30 μ m.

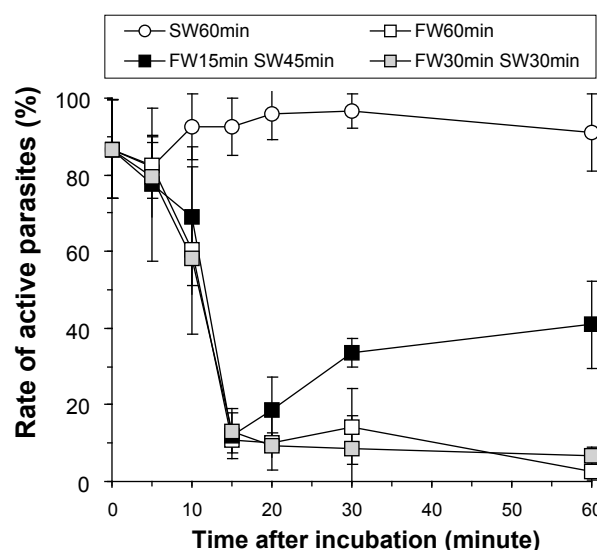


Fig. 6 Relationship between incubation time and relative abundance of active *Trichodina* sp. during culture in different media.

White circle: Incubation with filtered sea water for 60 minute (SW60min); White square: Incubation with fresh water for 60 minute (FW60min); Black square: Incubation with fresh water for 15 minute, and with sea water for 45 minute (FW15minSW45min); Gray square: Incubation with fresh water for 30 minute, and with sea water for 30 minute (FW30minSW30min).

Table 2 Effects of medium and duration of incubation on vitality of *Trichodina* sp. collected from barfin flounder under the culture conditions.

Time after incubation (minutes)	Rate of active parasites (Mean $\pm$ SD %)			
	Sea water 60min (Control)	Fresh water 60min	Sea water 15min Fresh water 45min	Sea water 30 min Fresh water 30min
0	86.6 $\pm$ 12.8	86.6 $\pm$ 12.8 ^a	86.6 $\pm$ 12.8 ^a	86.6 $\pm$ 12.8 ^a
5	82.2 $\pm$ 8.3	82.4 $\pm$ 8.2 ^a	77.4 $\pm$ 20.0 ^{ac}	79.4 $\pm$ 10.4 ^a
10	92.5 $\pm$ 8.5	60.3 $\pm$ 21.8 ^a	69.2 $\pm$ 18.1 ^{acd}	58.2 $\pm$ 9.4 ^a
15	92.4 $\pm$ 7.4	10.9 $\pm$ 3.3 ^b	11.9 $\pm$ 6.0 ^b	13.2 $\pm$ 5.8 ^b
20	96.1 $\pm$ 6.8	10.2 $\pm$ 7.1 ^b	18.6 $\pm$ 8.8 ^b	9.5 $\pm$ 3.3 ^b
30	96.6 $\pm$ 4.4	14.4 $\pm$ 7.8 ^b	33.5 $\pm$ 3.8 ^{bd}	8.5 $\pm$ 8.9 ^b
60	91.1 $\pm$ 10.0	2.7 $\pm$ 2.3 ^b	40.9 $\pm$ 11.3 ^{bc}	6.7 $\pm$ 2.1 ^b

The value with different letter are significantly different at 0.05 level within each incubation time.

考 察

マツカワに寄生したトリコジナを 5℃, 15℃ および 20℃ に調温したろ過海水中でインキュベートした。その結果, 培養 8 時間まではいずれの温度条件下でも, 形態および運動性に変化がみられず, 活発な活動が認められた。一方, 24 時間以上培養を継続した場合, 5℃ 区では生存した虫体が確認できたが, より高水温条件下では全虫体が死滅した。これらの培養海水中には細菌が著しく増殖していたため, 細菌による水質悪変が死滅した原因と推測される。従って, 本研究で示した培養法は長期培養には不向きであるが, 水質変性が生じない短期間, 少なくとも 8 時間以内であれば広い温度範囲でトリコジナを生存させることが可能だと考えられる。一般に飼育魚の薬浴を行う場合, 薬剤液への浸漬時間はできる限り短くするように心がける。疾病原因や対象種にもよるが, 淡水浴, 塩水浴, 薬剤浴の浸漬時間は通常数分～2 時間程度である。上述したように, 本培養法は 2 時間程度であればトリコジナをほぼ正常な状態のまま保持できる。従って, 駆虫法を検討する際, 供試魚を直接浸漬して試行錯誤的に薬浴条件を探るよりも, この培養法を活用し, トリコジナの薬剤耐性や有効浸漬時間等を事前に調べておく方が効率的と考えられる。

本実験において環境 (培養) 温度とトリコジナの生存との関係を調べたが, 培養 8 時間まで観察した限り, 両者に明確な相互関係は認められなかった。24 時間以上培養した場合, 5℃ 区でのみトリコジナの生存が確認されたが, これは 5℃ が生存適温なのではなく, 低温下では細菌の増殖が抑制されたためだと推測される。トリコジナ症の発生と環境温度との関係については魚種によって様々である。ヒラメ^{5,12)}では主に 5～6 月と 9～10 月 (水温 20～25℃) に多発するが, 一方, 養殖トラフグ¹³⁾で

は寄生に季節性は認められない。マツカワで周年の寄生状況を調査した例は無いが, 本結果からトリコジナはマツカワの主な生息水温 (5～20℃) 全てにおいて増殖できる可能性が高い。従って, 本症の発生には周年の水温変動というより, 飼育環境の悪化や宿主の抵抗力の低下などが引き金となっているかもしれない。

これまでトリコジナ類の駆虫にはホルマリン (マダイ¹⁴⁾、過酸化水素水 (ヒラメ, 未発表), マラカイトグリーン (トラフグ⁶⁾) 等が有効だと報告されている。しかし, いずれも環境面, 衛生面上, 使用は避けるべきであり, 安全な駆虫法が必要である。一方, コイ科魚類に寄生する淡水性トリコジナには 2% の塩水浴が有効だとの報告もある^{15,16)}。そのため, 環境水と浸透圧が異なる溶媒に浸漬することでトリコジナを駆虫できる可能性がある。

そこで本研究ではマツカワに寄生するトリコジナに対し淡水浸漬の有効性について調べた。トリコジナを水道水下で培養したところ, 虫体は徐々に膨張し, 繊毛運動も微弱となった。浸漬 30 分後には破裂し, ほぼ全虫体が死滅した。これらの結果は, 水道水浸漬がトリコジナに大きなダメージを与えることを明確に示しており, 駆虫方法として淡水浴の有効性を強く支持している。一方, 海水を混ぜ希釈した水道水下では, トリコジナを殺虫するには至らなかった。このことから, 本種に寄生するトリコジナは環境塩分の低下に対して比較的強く, 運動性を失活させるには無希釈の淡水へ浸漬することが不可欠と考えられる。そのため, 実際に淡水浴を行う際には, 浸漬溶媒にできるだけ海水が混入しないように留意し, 殺虫効果を維持することが重要といえよう。

水道水浸漬の殺虫作用について詳しく調べるため, 従来駆虫に用いられてきたホルマリン海水浴の殺虫効果と比較した。その結果, ホルマリン海水に浸漬した場合,

トリコジナは即座に運動を停止し、わずか15分で明瞭な殺虫効果が認められた。また、興味深いことに本剤で死滅したトリコジナには膨張や破裂は認められず、形態は円盤型のままであった。これらの結果は、ホルマリン浸漬と水道水浸漬はいずれも殺虫効果を有するものの、それぞれの作用機序は大きく異なることを示唆している。おそらく、速効性である前者はトリコジナの生理機能に直接的に作用する。他方、後者は浸透圧の変化によって生理機能を徐々に低下させて殺虫に至ると推察された。そのため、(速効性である)淡水浴で駆虫を図るには、トリコジナの淡水耐性能について詳細に調べ、確実に殺虫できる有効浸漬時間を明らかにする必要がある。

トリコジナの淡水耐性能を調べるため、水道水浸漬時間別の培養実験を行った。15分間水道水に浸漬した場合、虫体は膨張し繊毛運動が停止した。しかし、この時点で海水へ置換すると虫体は元の円盤形へと戻り、再び活発

に運動することがわかった。従って、運動が停止した段階ではトリコジナは仮死状態にあり、環境によっては回復すると推察される。一方、虫体が破裂するまで水道水浸漬を続けた場合、その後海水に置換してもトリコジナの運動は再開しなかった。この結果からトリコジナを確実に殺虫するには、虫体の破裂が確認できるまで淡水浸漬を行うことが重要なポイントといえる。本実験結果から判断して、殺虫(虫体の破裂)に必要な淡水浸漬時間は30分間であると考えられた。

以上、マツカワ体表粘液片の培養実験から、ホルマリン海水浴に変わって効果的に、且つ、安全にトリコジナを駆虫するためには、水道水による淡水浴を(供試魚の飼育水温で)30分以上実施することが有効と推察された。従って、今後、このデータに基づいて罹病魚の淡水浴を試し、駆虫効果を確認する必要がある。また、海産魚であるマツカワにとって淡水への浸漬は大きなストレスと

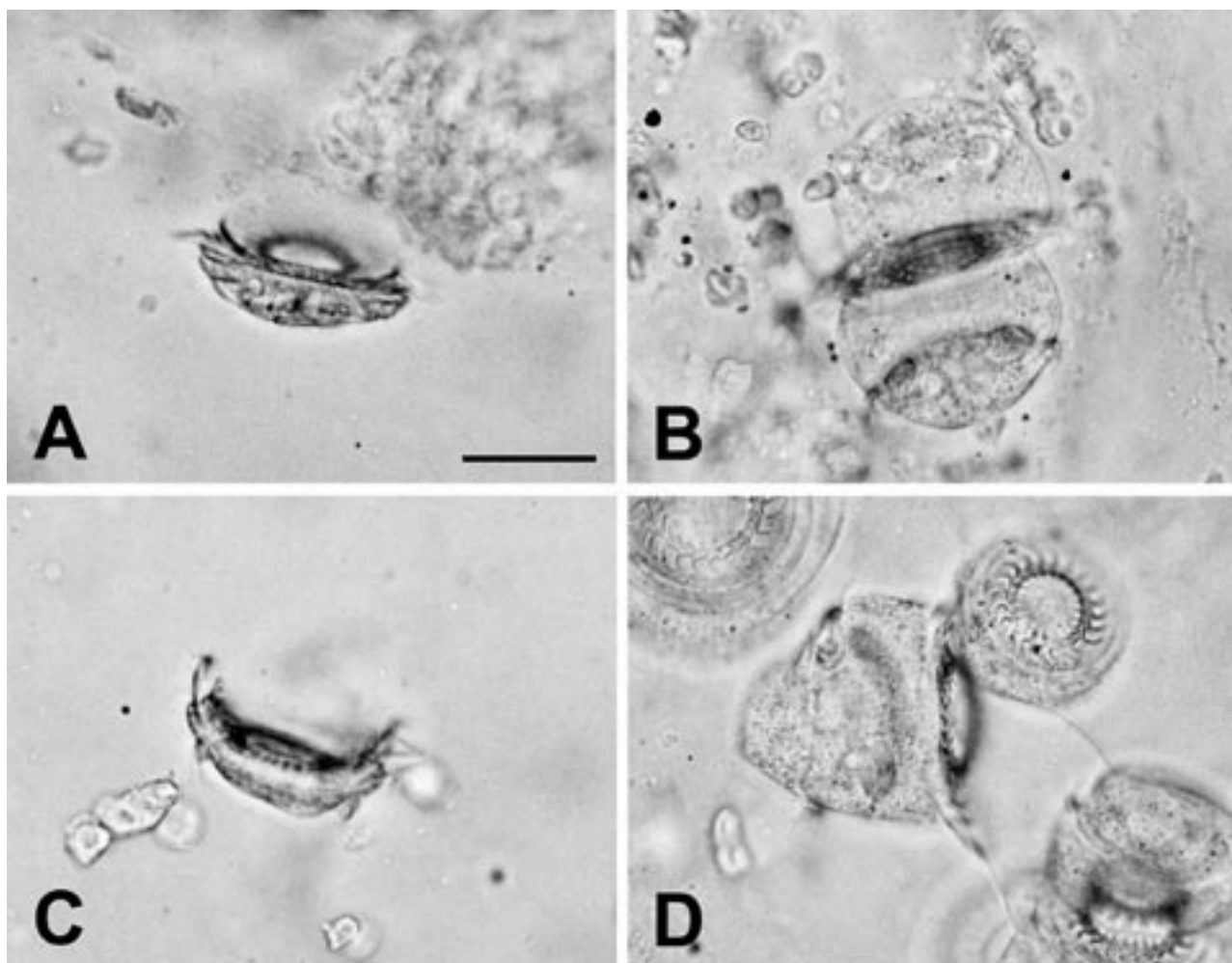


Fig. 7 Morphological changes in *Trichodina* sp. incubated in different media and for different durations. A: Before incubation; B: *Trichodina* sp. immersed in fresh water for 15 minutes (from FW15minSW45min group); C: *Trichodina* sp. immersed in sea water for 15 minutes after prior immersion in fresh water for 15 minutes (from FW15minSW45min group); D: *Trichodina* sp. immersed in fresh water for 30 minutes (from FW30minSW30min group) Bar = 30 μ m

なる。そのため淡水浴が供試魚の生理機能にどの程度ダメージを与えるのか(淡水耐性)を明らかにするとともに、ストレスを与えないスムーズな作業性についても検証する必要がある。これらに関しては次報で詳述する。

要 約

マツカワに寄生被害を及ぼす原虫トリコジナ類の駆虫方法を探る手段として、体表粘液の簡易培養法の開発を試みた。さらに、この培養法を活用し、トリコジナの環境耐性を調べ、以下の知見を得た。

1. トリコジナ感染魚から採取した体表粘液片をろ過海水に浸漬し、種々の温度下(5~25℃)で簡易的に培養した。その結果、いずれの培養環境下でもトリコジナは最低8時間活力を維持したまま生存できることがわかった。従って、本培養法はトリコジナの環境耐性を調べる上で有効と考えられた。
2. 体表粘液片の培養法を活用し、トリコジナの運動性や生存に及ぼす水道水、または50%および75%希釈水道水浸漬の影響について調べた。その結果、海水が混入した溶媒下では殺虫効果は認められなかったが、水道水に浸漬すると、その運動性は急速に失活することがわかった。
3. 淡水浸漬時間とトリコジナの運動性との関係について調べた。その結果、30分以上浸漬することによって虫体の破裂を促し確実に殺虫できることがわかった。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、数々の有益なご助言をいただいた北海道立中央水産試験場魚類防疫科 西原豊研究員に深く感謝します。また、本稿の英文を校閲していただくとともに、有意義なご助言をいただいたNew Zealand Otago大学M. Lokman博士に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 萱場隆昭: “北海道におけるマツカワ種苗生産研究”. 北海道におけるマツカワ栽培漁業研究の現状. 北海道立水産試験場技術資料. 5, 4-35 (2005).
- 2) 森立成: “北海道におけるマツカワ養殖研究”. 北海道におけるマツカワ栽培漁業研究の現状. 北海道立水産試験場技術資料. 5, 36-39 (2005).
- 3) 三浦宏紀: “北海道におけるマツカワ病理研究”. 北海道におけるマツカワ栽培漁業研究の現状. 北海道立水産試験場技術資料. 5, 40-42 (2005).
- 4) Imai, S., Inouye, K., Kotani, T., and Ogawa K.: Two trichodinid species from the gills of cultured tiger puffer, *Takifugu rubripes*, in Japan, with the description of new species. *Fish Pathol.*, 32, 1-6 (1997).
- 5) 井上潔: “ヒラメ・トリコジナ症”. 魚病図鑑(畑井喜司雄, 小川和夫, 広瀬一美編), 東京, 緑書房, 1988, 68.
- 6) 塩満捷夫: “トラフグ・トリコジナ症”. 魚病図鑑(畑井喜司雄, 小川和夫, 広瀬一美編), 東京, 緑書房, 1988, 75.
- 7) 農林水産省消費・安全局衛生管理課: “水産用医薬品の使用について 第18報”. 養殖業者の皆様へ. 2004, 1-20.
- 8) 吉水守, 木村喬久, 西澤豊彦: “日本国内で保管保存されている魚類由来株化細胞”. 動物細胞工学ハンドブック(日本動物細胞工学会編), 東京, 朝倉書店, 2000, 319-334.
- 9) 飯田貴次: “感染症の診断法と病原体の分離・培養法-細菌学的検査法”. 魚病学概論(室賀清邦, 江草周三編), 東京, 恒星社厚生閣, 1996, 148-151.
- 10) Yoshinaga, T., and Nakazoe, J.: Effects of light and rotation culture on the in vitro growth of a ciliate causing the scuticociliatosis of Japanese flounder. *Fish Pathol.*, 32, 227-228 (1997).
- 11) 山田作太郎, 北田修一: “分散分析”, 生物資源統計学. 東京, 成山堂, 2003, 93-121.
- 12) 水野芳嗣: 病魚の簡易診断法-ヒラメの疾病を例として-. 養殖3月号(1990).
- 13) Ogawa, K. and Inoue, K.: Parasites of cultured tiger puffer (*Takifugu rubripes*) and their seasonal occurrences, with descriptions of new species of *Gyrodactylus*. *Fish Pathol.*, 32, 7-14 (1997).
- 14) (社)日本資源保護協会. 昭和58年度魚病対策技術研修(ブリ・マダイ)研修要領. (1984).
- 15) 細谷久信: “コイ, ニシキゴイ・トリコジナ症”. 魚病図鑑(畑井喜司雄, 小川和夫, 広瀬一美編), 東京, 緑書房, 1988, 203.
- 16) Van Duijn Jnr, C.: “Skin parasites and infections”, Diseases of fishes. London, Iliffe books, 1973, 7-91.