

給餌飼育中に発生したクロアワビ稚貝の大量斃死に関する 病理学的研究（予報）

大橋智志 吉越一馬*

Pathological Studies on the Mass Mortalities of Hatchery-reared Juvenile Abalones,
Nordotis discus discus, Fed with Boiled-salted *Undaria pinnatifida*. (Preliminary note)

Satoshi Ohashi and Kazuma Yoshikoshi*

Mass mortalities of the hatchery-reared juvenile abalones, *Nordotis discus discus* have been a serious problem in the seed production of this species. In Nagasaki Prefecture, most abalone hatcheries, where boiled-salted *Undaria pinnatifida* was used as food for the juvenile abalones, lost about 40~70% of the production from early spring to early summer in 1991. Affected abalones showed abnormal behaviour such as climbing up shelters or walls of the rearing tanks and then sinking to the bottom and died. Histopathological examinations on the affected abalones revealed severe tissue lesions in the midgut gland characterized by extensive and, often, generalized necrosis of the parenchymal cells. Neither bacterial nor viral infection was found in the midgut gland of affected abalones. No remarkable changes were observed in other tissues of the affected abalones. Healthy juvenile abalones fed on natural food in outdoor tanks had no tissue lesions in the midgut gland. These results suggest that the tissue lesions in the midgut gland are the major cause of the mass mortalities of the juvenile abalones.

クロアワビ *Nordotis discus discus* は暖海性アワビ類の中の主要な漁獲対象種であり、各地で放流用種苗の生産が盛んに行われている。しかし、近年各地の種苗生産施設で、給餌飼育中の稚貝に大量斃死が発生し、本種の種苗生産の成否を左右する重大な問題となっている。長崎県では、この大量斃死の発生のため種苗生産が低迷し、大幅な供給不足が続いており、その原因解明はクロアワビの種苗生産にとって緊急の課題である。種苗生産過程あるいは中間育

成期におけるクロアワビ稚貝の大量斃死については、これまで中津川ら、¹⁾および中津川^{2,3)}の報告があり、その中で中津川は大量斃死の原因をウイルス感染によるものと推察している。

本研究で、著者らは1991年に長崎県下で発生したクロアワビ稚貝の大量斃死の病理について予察的研究を行い、この大量斃死が必ずしもウイルス感染によるものではないとの結果を得たので、その概要を報告する。

*長崎大学水産学部 Faculty of Fisheries, Nagasaki University.

材料と方法

斃死発生状況調査：斃死発生状況については、上県郡上対馬町、下県郡美津島町、壱岐郡郷ノ浦町にあるアワビ種苗生産施設と、北松浦郡小佐々町にある長崎県栽培漁業センターに対して聞き取り調査を行った。調査項目は給餌開始時期、給餌開始時のクロアワビ稚貝の個体数、斃死発生時期及び斃死終息時期、斃死終息時のクロアワビ稚貝の生残率とした。また、長崎県水産試験場増養殖研究所（以下増養殖研究所と略称する）では、大量斃死発生前後のクロアワビ稚貝の生育状況を詳細に観察した。

病理組織学的検査：供試貝として、上記の4種苗生産施設と増養殖研究所で給餌飼育されていたクロアワビ稚貝で、斃死発生時にシェルター上部に這い上がる異常な行動を示した個体（以下異常貝と称する）を用いた。これらの異常貝は、1990年秋に人工採苗され、殻長3～7mmで採苗器から剥離された後、餌料として塩蔵ワカメを十分与えられていた。斃死時の殻長は5～15mmで、水温は13.5～24.4℃であった。供試個体数は、上対馬町、美津島町、および郷ノ浦町の試料が各々10個体、県栽培漁業センターの試料が15個体、増養殖研究所の試料が20個体であった。さらに上記の異常貝と比較検討するため、1990年秋に人工採苗され、屋外の流水式コンクリート水槽で自然に発生する餌料を摂餌して成長し、外観的に全く異常を示さなかったクロアワビ稚貝（以下健全貝と称する）10個体を用いた。これらの材料のうち、増養殖研究所の稚貝はブアン液あるいは2%パラホルムアルデヒド-3%グルタルアルデヒド液（0.1M カコジル酸緩衝、pH7.3）で固定した。他の地区の材料は、ブアン液あるいは20%ホルマリン海水で固定

し、後者で固定した材料はブアン液による再固定を行った。固定試料は常法に従ってパラフィンに包埋し、切片はMayerのヘマトキシリン-エオシン染色あるいは過ヨウ素酸 Schiff (PAS)-ヘマトキシリン染色を施し、光学顕微鏡観察に供した。なお、2%パラホルムアルデヒド-3%グルタルアルデヒド固定試料の一部は2%四酸化オスミウムで後固定を行い、Spurrの樹脂に包埋した。包埋試料はPorter-Blum MT-1型あるいはJEOL JUM7型ウルトラミクロトームで薄切し、0.5μmの切片はトルイジンブルー染色後、光学顕微鏡で観察した。超薄切片は酢酸ウラニル-クエン酸鉛の二重染色を施し、JEOL JEM100S型電子顕微鏡で観察した。

結 果

斃死発生状況調査：聞き取り調査を行った4施設と増養殖研究所の給餌飼育開始時のクロアワビ稚貝数と斃死終息時の平均生残率を表1に示す。斃死終息時の平均生残率は、30～60%であった。

表1 各種苗生産施設におけるクロアワビ稚貝の生残率
Table 1. Survival rate of hatchery-reared juvenile abalones after mass mortalities

Hatchery*1	Number of juvenile abalones*2	Survival rate (%)
A	500×10 ³	30
B	187×10 ³	40
C	210×10 ³	40
D	300×10 ³	60
E	41×10 ³	30

* 1

- A 上対馬町漁業協同組合栽培漁業センター
- B 万関栽培推進協議会万関種苗センター
- C 郷ノ浦町漁業協同組合栽培漁業センター
- D 長崎県栽培漁業センター
- E 長崎県水産試験場増養殖研究所

* 2

給餌飼育開始時の稚貝数
Number of juvenile abalones at the beginning of rearing. The juveniles were fed with boiled-salted *U. pinnatifida* during the rearing.

また、各地の種苗生産施設におけるクロアワビ稚貝の斃死は、図1に示すように、給餌飼育開始後に発生し、長崎県栽培漁業センターの飼育例を除き、4～5月に集中していた。斃死の発生から終息までには20日～2カ月を要した。増養殖研究所の3飼育群では、給餌飼育の開始時期にかかわらず、大量斃死は4月中旬から下旬に集中的に発生した(図2)。斃死発生から終息までには20日から2ヶ月を要し、斃死終息時の生残率は17～53%であった。なお、増養殖研究所では、この大量斃死が発生するまでの生残率は97～98%と高かった。

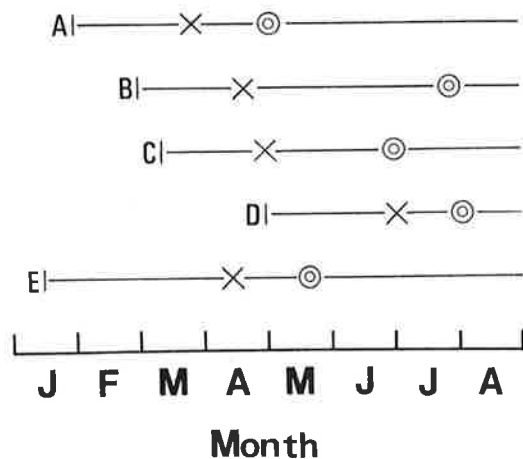


図1 各種苗生産施設における給餌飼育開始後の大量斃死の発生状況

Fig.1. Development of mass mortalities in hatchery-reared juvenile abalones at five hatcheries(A-E). X, outbreak of mass mortalities ; O, cease of mass mortalities.

病理組織学的所見：増養殖研究所の健常貝の光学顕微鏡写真を図3に、同研究所で発生した異常貝のそれを図4に示す。健常貝の中腸腺には、著しく丈の高い大型細胞と、細胞質が好塩基性を呈する小型細胞が存在していた。大型の中腸腺細胞の細胞質内

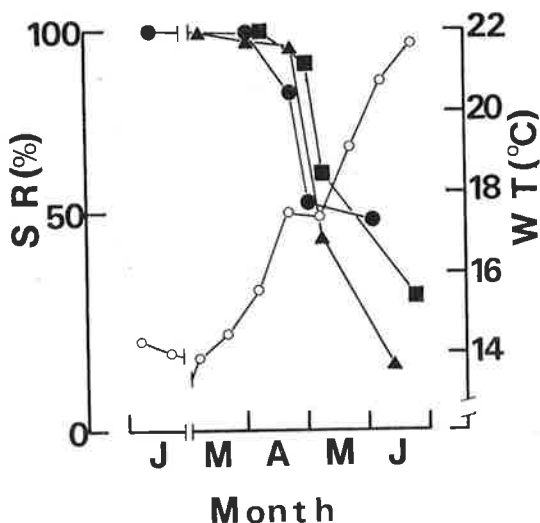


図2 増養殖研究所で飼育されたクロアワビ稚貝3群の生残率の推移

Fig.2. Changes in survival rate (SR) of 3 batches of juvenile abalones reared at the hatchery (E). Solid symbols represent survival rate and open circles water temperature (WT).

には、栄養物質の摂取と消化に関係する多数の空胞が存在し、その内容物は充実していた。また、小型の中腸腺細胞は盲嚢壁の各所に巣状に存在していた。これらの実質細胞の核は概ね卵円形を呈し、核小体も明瞭に認められ、正常な形態を有していた。一方、異常貝では、大型の中腸腺細胞は内容物をほとんど含まない多数の空胞を有し、核は変形、濃縮していた。また、小型の中腸腺細胞の数は減少傾向を示していた。

異常貝に見られた上記のような中腸腺の組織障害は、増養殖研究所以外の種苗生産施設の異常貝にも例外なく観察され、実質細胞の壊死、崩壊が中腸腺全体に及んでいる場合がしばしば認められた。

電子顕微鏡観察によると、健常貝の大型中腸腺細胞では細胞質基質はやや疎構であったが、各種の小

器官に異常形態は認められなかった(図5, 6)。図7, 8に示した異常貝の大型中腸腺細胞では、栄養摂取に関係する空胞系は崩壊が著しく、核の濃縮と崩壊、ミトコンドリアの濃縮、細胞基質の疎構化など種々の変化が認められた。異常貝の中腸腺実質組織には細菌やウイルス粒子の増殖像は認められなかった。

異常貝の中腸腺以外の組織には顕著な病変は認められなかったが、郷ノ浦産の供試貝の一部に中津川

らの報告¹⁾と同様な神経組織の異常が認められた。この病変は神経膠細胞の過形成を主徴とするものであり、病変の程度は個体により区々であった。

考 察

斃死発生状況の調査結果は、長崎県栽培漁業センターの飼育例を除き、大量斃死が4~5月に集中的に発生したことを示している。図2に示したように、この時期は急激な水温上昇期に当たっており、この



図3 健全貝の中腸腺の組織切片, トルイジン青染色, ×200.

Fig.3. Section of the midgut gland of a healthy juvenile abalone. Midgut gland cells contain numerous vacuoles participating in digestion and absorption of nutritive substances. Toluidine blue, ×200.

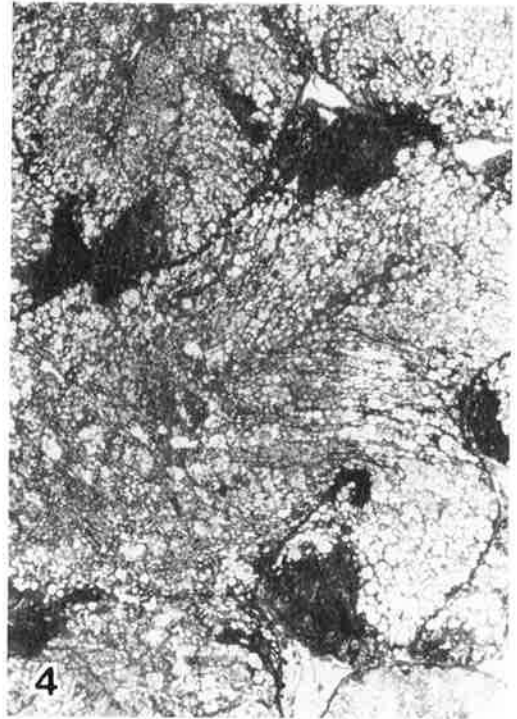


図4 異常貝の中腸腺の組織切片, トルイジン青染色, ×200.

Fig.4. Section of the midgut gland of an affected juvenile abalone showing numerous empty vacuoles in the midgut gland cells. Small basophilic cells (darkly stained) decreased in number. Toluidine blue, ×200.

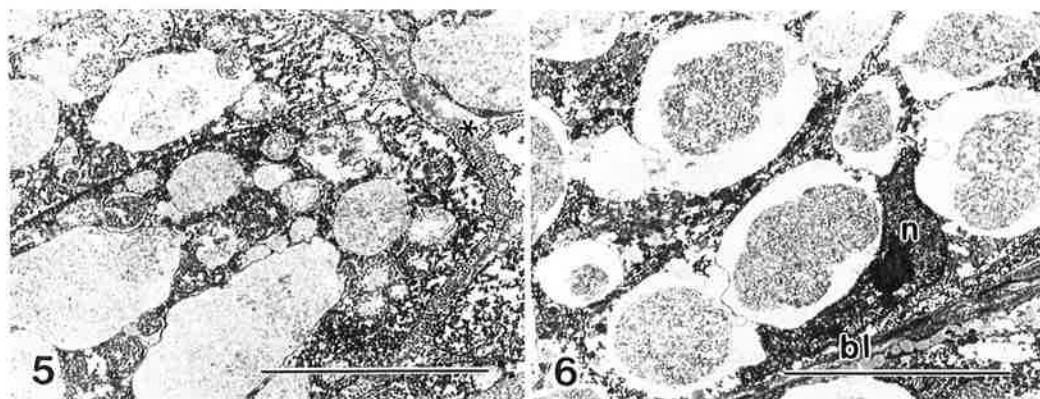


図5, 6 健全貝の中腸腺細胞の電子顕微鏡写真

Figs.5 and 6. Electron micrographs of midgut gland cells of the healthy juvenile abalone shown in Fig.3. Figs 5 and 6 show apical and basal portions of the midgut gland cells respectively. Cytoplasmic matrix was rather scarce and some vacuoles were partly disintegrated. bl, basal lamina; n, nucleus; *, midgut lumen. Scale bar=10 μ m.

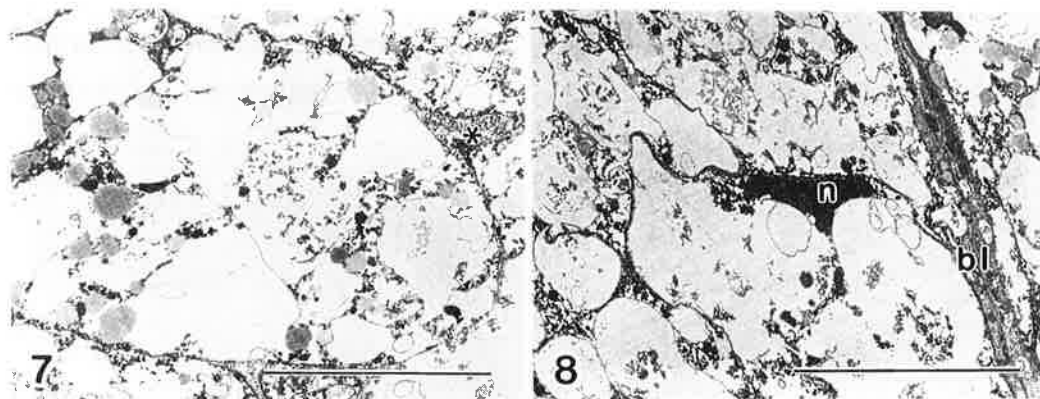


図7, 8 異常貝の中腸腺細胞の電子顕微鏡写真

Figs.7 and 8. Electron micrographs of midgut gland cells of the affected juvenile abalone shown in Fig.4. Figs.7 and 8 show apical and basal portions of the midgut gland cells respectively. Vacuoles were almost empty and disintegrated, nuclei were pyknotic, and other organelles were also degenerated. Scale bar=10 μ m.

ような水温上昇がクロアワビ稚貝の生理に大きな影響を及ぼしたと推察される。大量斃死と環境要因、特に水温との関係については、今後斃死のメカニズムとの関連で検討したい。

給餌飼育中のクロアワビ稚貝の大量斃死の病理について、中津川¹⁾は神経幹と足側神経横連鎖に生じた腫瘍が本疾病の原因であると報告した。さらに、

中津川²⁾は感染実験を行い、本症がウイルス感染症である可能性が大きいと報告した。既に述べたように、長崎県下で1991年に発生した大量斃死では、異常貝に共通的に認められた病変は中腸腺の組織障害であり、ごく一部の試料にのみ見いだされた神経組織障害は大量斃死の原因とは考え難い。

本研究で明らかにされた中腸腺細胞の変性は著し

く高度で、図7、8に示したような細胞質の空胞化、疎構化が顕著な細胞では、その輪郭が残っている場合でも既に壊死状態にあると推察された。このような変性はほとんどの場合器官全体に及んでおり、中腸腺の機能は著しく損なわれていたか、あるいは全く失われていたと推察される。アワビ類において、中腸腺は最大の内臓器官であり、その構造と機能が大きく損なわれることは致命的であると考えられる。中腸腺細胞が広範に壊死する原因は明らかでないが、本研究の結果によれば、細菌やウイルス感染症によ

るものではないと考えられる。中腸腺細胞の変性・壊死のメカニズムの解明は今後の大きな課題であろう。

最後に、聞き取り調査ならびに供試員の提供を快諾された上対馬町漁協栽培漁業センター宮崎芳希所長、万関種苗センター村瀬哲所長、郷ノ浦町漁協栽培漁業センター末永丈右所長、長崎県漁業公社田島俊彦常務取締役と、供試員の採集に協力いただいた対馬、壱岐ならびに田平水産業改良普及所の方々に深謝の意を表す。

文 献

- 1) 中津川俊雄・畑井喜司雄・窪田三朗：筋萎縮を伴うアワビ稚貝の病理組織学的所見, 魚病研究, 23, (2), 203-204 (1988) .
- 2) 中津川俊雄：筋萎縮症を伴うクロアワビ稚貝の

- 疾病の伝染性, 魚病研究, 25, (4), 207-211(1990).
- 3) 中津川俊雄：筋萎縮症罹病クロアワビ稚貝の加温処理事例, 魚病研究, 26, (3), 157-158(1991).