

## 論文の内容の要旨

水圏生物科学 専攻  
平成 23 年度博士課程 入学  
氏 名 脇 司  
指導教員名 良永 知義

論文題目 アサリに寄生する *Perkinsus* 属原虫の病害性に関する研究

日本の水産重要種であるアサリ *Ruditapes philipinarum* の資源はこの 30 年余りで激減したが、その原因は明らかでない。1980 年代までは最大 16 万トンと高水準だった年間漁獲量も、1980 年代後半から急減し、現在は数万トン以下となっている。アサリを安定的に漁獲するには、資源量が長期的に低水準にある原因を明らかにし、その原因に対応した増殖を行うことが必要である。

国内のアサリには 2 種の *Perkinsus* 属原虫、*P. olseni* と *P. honshuensis* が寄生している。これらのうち、優占種である *P. olseni* がアサリ資源量の減少要因である可能性が指摘されている。しかし、実際には、本種の病害性は明らかにされておらず、資源量減少への関与も明確でない。そこで、本種の寄生の天然アサリの減耗への関与を攻撃試験と野外調査で検討した。

## 【第1章】室内攻撃試験によるアサリに寄生する *Perkinsus* 属原虫の病害性の評価

まず、自然感染した天然アサリから得た本属原虫を用いて、未感染の天然アサリ成貝（殻長 30~40 mm）および寄生レベルの低い海域の稚貝（殻長 3~13 mm）を攻撃し、対照のアサリと同じ水槽内で飼育して生残を比較した。実験の結果、攻撃区の成貝は死亡しなかったが、稚貝では、攻撃区の8割の個体が死亡したのに対し、対照区の死亡率は約1%に止まった。これらの結果から、本属原虫の寄生が稚貝を死亡させることが世界で初めて実験的に示された。なお、先行研究により、国内の天然アサリでは *P. olseni* が優占種であることが示されていることから、攻撃に用いた虫体ならびに本研究で天然アサリに検出された虫体のほとんどは *P. olseni* であると考えられる。

その後、下川（2008）は、*P. olseni* 培養株の稚貝（殻長 3~15 mm）に対する攻撃試験を 22℃で行い、概ね  $10^7$  細胞/g 軟体部湿重量（以下、cells/g STW）以上の寄生が致死的事であることを示した。しかし、アサリの生息する干潟では、この水温より高温になると同時に、様々な体サイズのアサリが生息している。そこで、培養株を用いて成貝（殻長 18~22 mm）と稚貝（殻長 3~6 mm）を攻撃し、高水温を含む複数の水温条件下（30℃、28℃、23℃、18℃）で飼育して、病害性を体サイズ別および温度別に評価した。その結果、18℃の成貝を除く全条件で、攻撃区の生残率が対照区よりも有意に低くなった。どの水温でも、有意差は幾何平均寄生強度が約  $10^6$  cells/g STW に達した時期に検出され、概ね  $10^6$  cells/g STW の寄生強度が生残に影響することが示唆された。高水温ほど、また、稚貝と成貝を比べると稚貝の方で、寄生強度が速やかに上昇し、生残率が早く低下する傾向にあった。この実験では、下川（2008）より低い寄生強度でアサリが死亡する傾向にあったが、これは飼育開始時のアサリの状態や飼育条件の違いによると推察された。

寄生による死亡の原因を明らかにするため、*P. olseni* 培養株による攻撃がアサリ（殻長 5~9 mm）の濾水、潜砂、成長および肥満度に及ぼす影響を実験的に調べた。攻撃したアサリおよび対照のアサリを珪藻 *Chaetoceros calditorans* 懸濁液中（ $1.0 \times 10^5 \sim 1.2 \times 10^5$  細胞/mL、200 mL、22℃）に個別に収容し、珪藻密度を経時的に計測した。その結果、攻撃区の珪藻密度は対照区より高く推移し、3~6 時間後に対照区との間に有意差が検出された。攻撃したアサリと対照のアサリを砂上に置いて潜砂行動を 8 時間または 24 時間観察したところ、潜砂個体の割合は攻撃区で低い傾向を示した。攻撃したアサリと対照のアサリを同居して 52 日間給餌飼育したところ、攻撃区の成長率と肥満度は対照区より低い傾向を示した。以上の結果から、寄生による濾水能力の低下に伴う呼吸や、摂餌の制限や寄生した虫体による栄養の消費によって、アサリが衰弱して死亡すると推察された。

## 【第2章】野外における *Perkinsus* 属原虫のアサリの減耗への関与

有明海に面しアサリ資源が落ち込んだ熊本県岱明地区の干潟で、アサリの個体群動態および寄生状況を調査し、寄生が個体群動態に及ぼす影響を調べた。当地では、2009年6月から2013年1月にかけて概ね月1回の頻度で、方形枠で深さ 10 cm の土砂を採集し、目

合 2 mm および 1 mm の篩でアサリを回収し、寄生強度、個体数および殻長を調べた。寄生率は加入直後の個体を除きほぼ 100%で、寄生強度は概ね  $10^2 \sim 10^6$  cells/g STW で、 $10^6$  cells/g STW を超える個体は稀であった。コホート解析の結果、調査期間中に 7 個のコホートが出現し、そのうち 6 月～8 月に出現した 3 コホートは長期的に追跡できた。3 コホートのうち 2 コホートの寄生強度は出現時には低かったが、その後上昇し、9 月には最も高い個体で  $10^6$  cells/g STW 程度に達した。その後 11 月あるいは翌年 1 月にかけて各コホートの個体数密度が低下した。この時期の寄生強度は第 1 章の攻撃試験で生残に影響すると推察された寄生強度に近く、高い強度の寄生によりアサリが死亡した可能性が高い。この後、各コホートの寄生強度は概ね横ばいで推移したが、翌年の 5 月または 6 月から 11 月にかけて、各コホートの寄生強度の最大値が減少傾向を示し、同時に個体数密度が減少した。これは、水温の上昇に伴い寄生の影響が強まり、寄生強度の高い個体が死亡したためと推察された。残りの 1 コホートでは、出現時の 8 月の寄生強度はすでに約  $10^6$  cells/g STW に達していたが、個体数密度は 8 月から 12 月にかけて減少しており、高い強度の寄生でアサリが死亡した可能性が高いと考えられた。このコホートでは翌年 3 月以降に再び個体数密度が減少した。短期的に出現した残りの 4 コホートでも、本属原虫の寄生や個体数密度におよそ同様の変動が認められた。

野外での病害性を実験的に評価するために、有明海産のアサリから得た虫体でアサリ（殻長 11～14 mm）を攻撃し（寄生強度：約  $10^6$  cells/g STW）、対照のアサリと共に岱明の干潟に埋設した。埋設は 8 月、9 月および 10 月に行った。埋設から 1 ヶ月または 2 ヶ月後、アサリを回収して寄生強度、生残率および殻長を調べたところ、どの時期でも攻撃区の生残率は 2 割以下であったが、対照区では 8 割以上と有意に高かった。また、回収時の攻撃区の殻長は対照区より有意に低かった。攻撃区のアサリに寄生した虫体をリアルタイム PCR で種判別したところ、*P. olseni* のみが検出され、本種の高レベルの寄生は岱明の干潟においてアサリの生残と成長に影響することが実験的にも示された。

以上より、アサリ漁獲量の減少した岱明では、夏から秋にかけてのアサリ個体数密度の低下に寄生が関与すると考えられた。そこで、アサリ資源量の多い 2 水域における寄生状況を調べて岱明と比較した。東京湾の神奈川県海の公園は、潮干狩りによって大量のアサリが採捕されるにも拘らず、天然個体が常に高密度に生息することが知られている。当地では、2012 年 5 月から 2013 年 11 月にかけて岱明と同様の調査を行った。調査期間中に 4 コホートが出現し、そのうち 2 コホートは 1 年程度追跡できた。2 コホートの出現直後における寄生率は 1 割以下と低かったが、徐々に上昇して 1 年後には 8 割程度に到達した。寄生強度は  $10^1 \sim 10^6$  cell/g STW であった。三河湾の愛知県六条潟では、毎年大量の天然稚貝が発生し、採捕されたのち愛知県内の他の漁場に種苗として放流されており、愛知県のアサリの安定的な漁獲に貢献していると考えられている。六条潟で 2012 年 10 月から 2013 年 11 月にかけて同様の調査を行ったところ、2 コホートが出現したが、寄生率は 2 割以下で、寄生強度は  $10^4$  cells/g STW 以下と低かった。アサリ資源が高水準にあるこれら 2 水域

の寄生レベルは、いずれも岱明より低く、このことから本属原虫の寄生がアサリの資源量に影響することが示唆された。

### 【 第 3 章 】 *Perkinsus* 属原虫の制御のための基盤的研究

前章で寄生レベルが特に低かった六条潟では、塩分が低い傾向にあった。第 1 章の温度別の攻撃試験では、低水温で虫体の増殖速度が低下する傾向にあった。これらから、低塩分や低水温では、アサリ体内の虫体の増殖が強く抑制され、寄生強度が低水準のまま維持される可能性がある。従って、低塩分水域へのアサリの増殖場の造成や低水温期の稚貝放流によって寄生の影響を制御できる可能性があると考えた。

そこで、室内実験で低塩分条件下および低水温下でのアサリ体内での虫体の増殖を調べた。*P. olseni* 培養株で攻撃したアサリ（殻長 8~12 mm）を異なる塩分（15、18、21 および 30）で 54 日間飼育した。その結果、どの塩分でも寄生強度は上昇し、異なる塩分間に差異は認められなかった。また、同培養株で攻撃したアサリ（殻長 13~18 mm）を異なる水温（15℃、18℃および 21℃）で 44 日間飼育したところ、18℃と 21℃では寄生強度が上昇したが、15℃では上昇が認められなかった。以上より、アサリ内における本種の増殖は、塩分によっては殆ど影響されないが、低温によって抑制され、15℃以下ではほとんど増殖できないと考えられた。

最適な放流時期を明らかにするため、籠放流によって虫体の侵入を受けにくい時期を調べた。2010 年 6 月から 2013 年 1 月の間に、未感染アサリを概ね月 1 回の頻度で岱明の干潟に設置した籠内に収容し、翌月または翌々月に回収して鰓における寄生率と寄生強度を調べた。その結果、2 月から 5 月の間は寄生率が 0~52%であったのに対し、それ以外の時期では 60%以上の値が高率で認められ、2 月から 5 月は虫体の侵入が少なかったと考えられた。

【 総合考察 】 攻撃試験と野外調査の結果から、*Perkinsus* 属原虫、特に *P. olseni* のアサリへの影響は大きく、寄生レベルの高い海域ではアサリの減耗要因となっている可能性が高いことが示された。今後、アサリの生理学的研究ならびに生態学的研究を行う際には、本属原虫の寄生の影響を考慮することが不可欠である。また、寄生の影響を軽減する増殖方法を開発することで、寄生がアサリの主要な減耗要因になっていると思われる水域においても漁獲量の回復を図られる可能性がある。