

## クロマグロ幼魚の住血吸虫症対策に関する研究

白樫 正

(養殖グループ)

近畿大学水産研究所・博士研究員

## 研究の背景

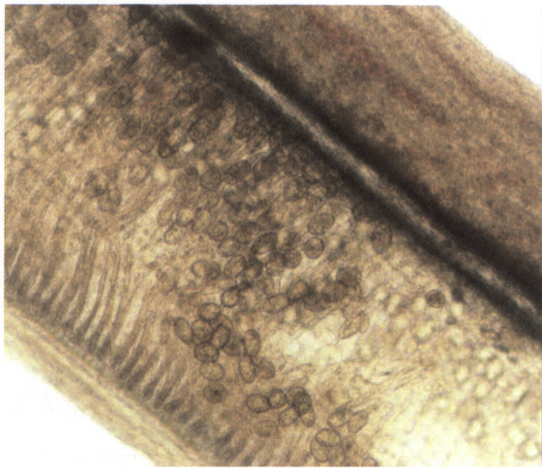
これまで、クロマグロ(*Thunnus orientalis*)は比較的感染症に強いとされてきたが、近年の養殖増加に伴い、寄生虫による被害が目立ち始めている。大島実験場においても、2008 年産クロマグロ種苗が沖出し後数ヶ月に渡り斃死する被害が報告されていた。斃死魚の鰓弁に多数の虫卵が確認されたことから、未知の住血吸虫が原因と考えられたが、その詳細は不明である。クロマグロの住血吸虫に関しては最近東京大学の小川和夫教授が三重県と長崎県の養殖クロマグロから得られた住血吸虫を *Cardicola orientalis* と新種記載したばかりであり、生態や寄生動態等については殆どなにも分かっていない。本研究では養殖クロマグロ稚魚の寄生虫症防除を主目的に、原因寄生虫の特定及びその生物学について、東京大学と共同で調査研究を実施している。

## 原因寄生虫の特定

2009 年 7 月 10 日に、大島実験場・浅海で飼育されていた 2008 年産近畿大学種苗クロマグロ稚魚 3 尾(平均体重 2,987g)を生け簀より採取し、冷蔵保存した個体の鰓と心臓を調べた。本種苗は 2008 年夏～秋期に住血吸虫の重篤寄生が原因と思われる斃死が見られたのと同群である。寄生虫の調査方法は共同研究を行っている東京大学魚病学研究室と打ち合わせの上、以

下の統一手法を用いた。以下の方法で実施した:左右の第 1～4 鰓を切り離し、それぞれの鰓弁 10 片を光学顕微鏡下で観察、虫卵、虫卵の有無を確認し、およそその数を数える 2) 鰓弓内の入鰓動脈を取り出し、実体顕微鏡下で観察しながら生理食塩水中で切開し、虫体の有無確認と計数をする。3) 心臓を取り出し、心球、心室、心房に切り分け、それぞれを実体顕微鏡下で解剖し、虫体の有無確認と計数をする。

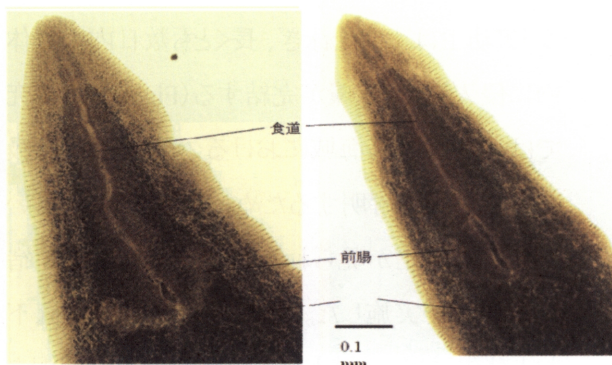
上記の 2008 年産クロマグロ稚魚 3 尾中 2 尾で、住血吸虫のものと思われる虫卵(Fig.1)と、今回はじめて住血吸虫の成体を確認した(Fig.2)。虫卵は 1 鰓弁内に多くても数十個程度であり、楕円形といびつな豆型の 2 種類の虫卵がみられた。住血吸虫成体は鰓弓内の入鰓動脈内に寄生しており、寄生数は 9 および 1 虫体/尾であった。得られた成体は形態観察のため AFA 固定液を用い圧平固定し、残りは遺伝子解析用に冷凍保存した。



**Fig. 1.** 2009年産近大クロマグロの鰓弁でみられた血管内吸虫の卵。2次鰓弁内に虫卵が詰まっている。



**Fig. 2.** 2008年産近大クロマグロの鰓弓内動脈から得られた住血吸虫の成体。(東京大学小川和夫教授提供)



**Fig. 3.** 近大クロマグロの鰓弓内動脈から得られた住血吸虫2種。右は *Cardicola orientalis* と同定。左の個体は食道の太さ、生殖器の形状が若干異なる。(東京大学小川和夫教授提供)

得られた住血吸虫成体 3 個体のリボゾーム DNA 中の 28S および ITS2 領域の塩基配列を既存のプライマー4組を使い読んだ。その結果、28S 領域からは約 1600bp, ITS2 領域からは約 580bp の塩基配列が得られた。これらを比較したところ、Table 1 に示すように 3 個体中 2 個体では 100% の相同がみられたが、残る 1 個体は 28S、ITS2 共に著しく異なっており、大島実験場で飼育されているクロマグロは最低 2 種類の住血吸虫に感染していることが明らかとなった。さらに、これらの配列をデータベース上で比較したところ、相同性のあった 2 個体 (Sample 1 と 2) の配列はカンパチの住血吸虫 *Paradeontacylix spp.* と最も近かったが、相同性は低かった。しかし、残りの 1 個体 (Sample 3) の ITS2 配列がメキシコの *T. orientalis* およびスペインの *T. thynnus* から報告されている未同定の *Cardicola sp.* のものと 100% 一致した。以上の結果から、近大クロマグロに寄生している住血吸虫の 1 種はおそらく世界的に分布している汎存種であることが示唆された。

庄平標本サンプルに関しては東京大学小川和夫教授に同定依頼した結果、三重県産養殖クロマグロから得られたサンプルと類似点が多く、*Cardicola orientalis* と同定された。しかし、中には生殖器等の構造に若干の変異がある個体もあり (Fig.3)、別種が存在する可能性も示唆されたが、虫体の成熟度に起因する可能性もあるため、現在、近畿大学で三重県と長崎県および近大クロマグロの住血吸虫の遺伝子解析を実施している。

**Table 1.** クロマグロ住血吸虫 3 個体の 28S および ITS2 リボゾーム DNA の相同性。

		ITS2(ca. 580bp)		
28(ca. 1600bp)	Sample No.	1	2	3
	1		100%	96.11%
	2	100%		96.11%
	3	87.69%	87.69%	

#### 感染動態と薬剤による影響

2009 年産近畿大学クロマグロ種苗は沖出し前と沖出し後に複数回サンプリングを実施し、上記と同様の方法で寄生状況を調べた。その結果、陸上飼育中の種苗では寄生が見られないこと、沖出し後 38 日目には既に成熟した虫がいること、寄生は夏から秋まで継続的に起こっていること、を確認した。今年度は未だ寄生の程度が低い段階で寄生を確認、早急に試験的プラジクアンテル投与を実施したところ、本虫によるクロマグロ稚魚の斃死は殆ど無かった。しかし、薬剤を投与しなかった群(9月16日沖出し群)では沖出し後 4 週間目では寄生が見られなかったものの、7 週間目あたりから死亡が目立ちはじめ、重篤な寄生がみられた。これらの魚では鰓弁1枚に数十～百の虫卵があり、鰓弓内動脈には最高 20 虫、さらには近大マグロからは初めて、心臓に寄生する住血吸虫(最高 2-30 虫/尾)を発見した。この心臓寄生の住血吸虫は鰓寄生のものとは形態が著しく異なるため、未知の別種であると考えられ、現在遺伝子解析と小川教授による分類学的検討がなされている。これらの寄生虫は同海域で飼育されているスマ(ヤイトガツオ)では見られなかったことから、クロマグロに特異的に寄生すると考えられる。

本年度の調査では、プラジクアンテル薬剤

投与後 4-6 週間後には住血吸虫の寄生が殆ど見られなかったこと、プラジクアンテル投与 4 週間後に得られた虫体は活性が著しく弱まっていたこと、から本虫に対する本薬の高い有効性が示唆された。おそらく寄生部位が血管内であることから、薬剤が直接的に作用すると考えられる。また、薬剤投与による駆虫後、及び同一海域で飼育されている H14 年度産クロマグロでは寄生が見られなかったことから、クロマグロは本虫に対する免疫を獲得する可能性が高いことが示唆された。すなわち、寄生が見られ始める沖出し 5-7 週間後に薬剤による駆虫を実施すれば、その後の寄生による被害を防げる可能性が高い。

#### 生活環の解明

住血吸虫の抜本的防除は感染海域での生活環を断ち切ることである。しかし、海産魚類の住血吸虫に関しては生活環が殆ど知られていない。唯一、ヨーロッパの異体類に寄生する住血吸虫 *Aporocotyle simplex* が多毛類のフサゴカイを中間宿主にすることが分かっている。魚類の鰓から出た住血吸虫のふ化幼生は中間宿主である無脊椎動物に寄生し、その体内で無性生殖を行い、無数のセルカリア幼生を遊出する。セルカリア幼生は水中を泳ぎ、長くとも数日以内に魚体内に侵入し、生活環が完結する(Fig.4)。本研究では大島実験場海域におけるクロマグロ住血吸虫の生活環を解明するため、寄生が起こっている時期に寄生が見られた生簀周辺で、中間宿主の採取を実施した。潜水により、生け簀直下および生け簀から少し離れた沿岸域から底泥を採取した。また、生け簀枠に付着している生物も採取した。底泥はふるいにかけて、無脊椎動物を選別した。付着生物はカキ殻の間に多数いるた

め、殻を壊して集めた。底泥中にはゴカイ類が見られたが、その生息密度は高くなかった。最も頻繁に見られたのはカキ殻に付着しているフサゴカイ類で、種類、数ともに多かった(Fig.5)。採取した動物はその形態から大まかに分類し、エタノールで保存した。今後これらのサンプルからPCRによる住血吸虫の検出をするため、既に設計した吸血吸虫類特異プライマーの有効性を現在確認中である。



Fig. 5. 大島実験場のクロマグロ生け簀に付着していた環形動物。フサゴカイ類が豊富。

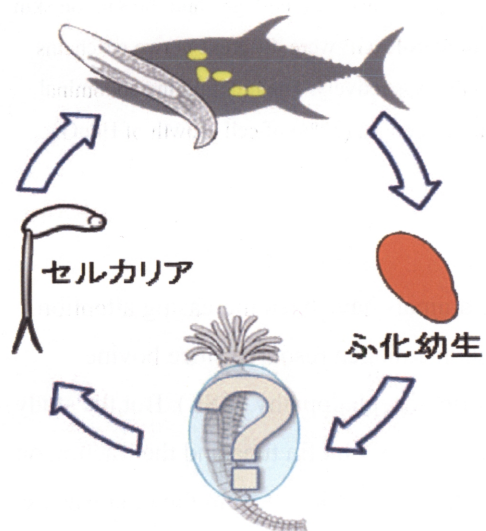


Fig. 4. クロマグロ住血吸虫の生活環模式図。中間宿主は不明だが、環形動物だと推測される。