

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25252036

研究課題名(和文)パーキンサス原虫の感染軽減によるアサリ資源の増殖・回復にむけた基礎的研究

研究課題名(英文)Studies for recovery and propagation of Manila clam resources by reduction of the infection with the parasitic protozoan Perkinsus olseni

研究代表者

良永 知義 (Yoshinaga, Tomoyoshi)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号：20345185

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 27,100,000円

研究成果の概要(和文)：Perkinsus olseniは国内のアサリに広くかつ高率に感染し、アサリ資源の減耗の一因となっていると考えられている寄生性原虫である。本虫が存在する中でアサリを増殖する方法を検討するため、本虫の伝搬様式を実験的に検討するとともに、野外調査により感染の生じにくい環境や放流の時期を検討した。その結果、アサリをできるだけ取り除いたうえで、天然稚貝の着底をうながすこと、さらには、エビ池などの比較的感染レベルの低い施設で中間育成を行い、育成した種苗を感染レベルの低い低水温期に放流することで増殖を図れる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The protozoan parasite Perkinsus olseni is widely spread at high intensity in Manila clam populations in coastal waters contaminated with P. olseni. Field surveys and experiments suggested that the removal or depletions of infected adult manila clams decreased the infection to juveniles, that the infection prevailed slow in juvenile Manila clams in semi-open facilities such as shrimp ponds, and that transmission of the infections were low in low water temperature season. These results suggest that intensive captures of infected adult clams before recruitment of juveniles, intermediate fattening of clam seed in semi-open facilities and release of juvenile clams in autumn are effective for propagation and recovery of wild Manila clam in waters infected with the parasite.

研究分野：魚病学

キーワード：パーキンサス アサリ 原虫 干潟 増殖

1. 研究開始当初の背景

アサリ資源は 1980 年代半ば以降全国的に減少している。その原因としては、従来、漁場環境の変化や乱獲、食害生物の増加などが挙げられていたが、多様な環境を持つ沿岸域においてほぼ同時期に始まった資源量の減少を説明できず、資源量減少の原因は特定されていなかった。地方自治体や漁業協同組合では、アサリ資源の回復を目的に様々な事業を行ったが、資源量減少の原因が明確になっていないこともあり、回復に成功した例はほとんどなかった。

一方、申請者は、国内のほとんどの海域のアサリにパーキンサス属原虫(*Perkinsus olseni*)が感染していることを明らかにするとともに、この原虫が、アサリに致死的であり、詳細なフィールド調査から本原虫がアサリの大きな減耗要因になっていることを明らかにした。

また、パーキンサス属原虫の感染強度は海域によって大きく異なり、アサリ資源が豊富な水域では感染強度がきわめて低いという調査結果を得た。さらに、都道府県試験機関による調査では覆砂域やエビ養殖池跡ではアサリの減耗が低いという知見が得られていたが、このような海域でのアサリのパーキンサス原虫の感染状況は把握されていなかった。

そこで、本虫の感染が特定の海域で低い原因、増殖場が比較的良好な海域における感染の状況を明らかにすることにより、感染レベルを低く抑えることでアサリの資源量を回復させる方法を立案できると考えた。

2. 研究の目的

感染が低く抑えられている海域における野外調査、室内・戸外実験、モデル実験によって、パーキンサス属原虫の伝搬機構、感染強度を決定する要因を明らかにする。これらに基づいて、感染強度が低いアサリ種苗を作出し、これを本原虫の感染を受けにくい時期に放流する方法、あるいは、天然海域の環境を改変することによって、あるいは漁獲圧を調整することによって、感染レベルを維持する方法を考案する。これらの増殖策の考案・立案に必要な基礎的知見を集積する。

3. 研究の方法

(1) 感染レベルが低い愛知県六条潟での野外調査

愛知県六条潟には毎年大量のアサリ稚貝が発生し、これが愛知県下の各漁場に放流されることにより、現在全国のアサリ生産の約 6 割を占めている愛知県のアサリ生産が維持されている。この海域で、アサリの個体群動態と感染状況の季節的変化の調査。

(2) アサリ増殖場での野外調査

有明海の強度感染海域に 2014 夏に覆砂され

造成された覆砂漁場(100 m x 200 m)ならびに大分県のエビ養殖池 2 池において、未感染の種苗生産したアサリを収容し、その感染状況の季節的変化を調査した。

(3) 野外実験による *P.olseni* 侵入時期の特定

大分県の干潟 2 か所に、毎月未感染アサリをカゴに入れて設置し、1 月後の感染状況を調査した。

(4) 伝搬機構の解明のための野外水槽ならびにエビ池跡地を用いた戸外実験

アサリ個体間の感染の伝搬は、感染したアサリ体内の栄養体がアサリの死亡によって発生する嫌気的環境下で遊走子嚢に発達し、遊走子嚢から放出された遊走子が新たな感染源になるとされている。それを検証するため、それを確かめるため、野外水槽に砂の入ったプラスチックコンテナをおき、その中に殺した感染アサリと未感染個体を砂の中に埋設し、流水状態で 1 か月間飼育し、感染状況を調べた。

感染個体からの伝搬可能な距離を把握するため、アサリがほとんど生息していないエビ養殖池跡地(約 80 m x 30 m)内に感染したアサリ 8kg を殺して埋設し、その周囲に未感染アサリを籠に収容して、2 ならびに 3 週間後にアサリを回収し、感染強度を調べた。

(5) 遊走子の感染能維持時間と塩分の影個体に侵入すると考えられている。

環境因子、特に海水の塩分が感染強度に及ぼす影響については、魚体内栄養体や遊走子嚢の発達に対してはアサリが生息する塩分環境はほとんど影響していないという結果が従来得られている。そこで、残る発達段階である遊走子に対して、塩分が遊走子の感染能力維持時間に及ぼす影響を調べた。具体的には、*P.olseni* の栄養体を作成し、これを様々な塩分環境に維持し、これに未感染のアサリを暴露し、感染強度を調べた。

4. 研究成果

(1) 六条潟におけるアサリ個体群動態と感染動態

六条潟では、春から夏にかけて発生した稚貝(平均殻長約 5 mm)が秋から春にかけて大量に死亡し、春にはほとんど消滅していた(図 1)。そのため、六条潟のアサリは常にほぼ 1 つの年級群で構成されていた。感染個体は加入後の秋以降に見られはするが、感染強度は 10^3 cells/g 以下と極めて低く推移し、感染率もほぼ 50%以下と低かった。感染個体が低水温期に消滅してしまうことから、次の年級群へ移行せず、これがこの海域での感染レベルの低さにつながっていると推察された。また、周囲の数 km 離れた海域では、高い感染レベルであったことから、周囲に感染個体が多数あっても数 km 程度離れば感染の侵入は大きくはないと推察された。

(2) アサリ増殖場での野外調査

覆砂域では、前年以前の年級群は全く生息

せず、7月に殻長6-8mmを中心として稚貝が新規に加入した。周囲の複数年級群が生息していた対象区の新規加入群に比較すると、感染強度、感染率は低く推移したが、10月末には対象区と差がなくなった。

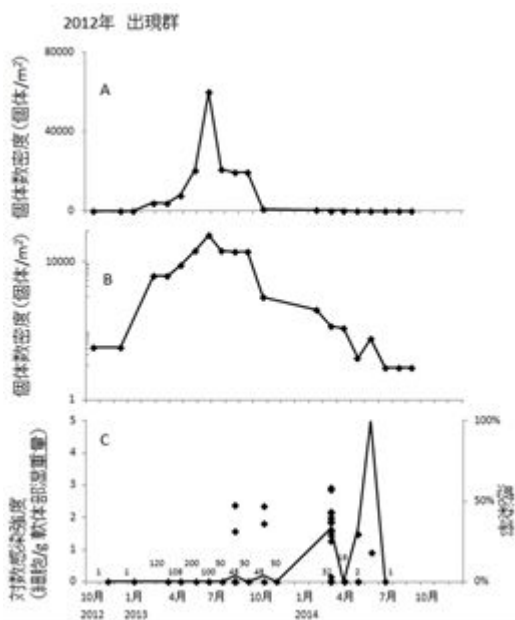


図1 六条潟、2012年出現群アサリにおける個体群動態と *P. olseni* の感染動態

また、生息数も秋以降に対象区と同様の減少率を示し、感染の遅れがアサリの死亡を遅らせるというようなデータは得られなかった。このことから、強度の感染を受けている海域では、100-200m程度の隔離では感染を十分には防げないということが推察された。

二つのエビ養殖池に収容したアサリは一年後でも感染率10%以下、感染強度10 cells/g以下と極めて低く推移した。一方、エビ養殖池の取水口の近傍の海域に8-9月まで1か月間設置したアサリでは、感染率80%、平均感染強度 $10^{2.5}$ cells/gに達した。この結果は、周辺海域が感染海域であったも、エビ池などの比較的閉鎖的施設を用いることにより、感染レベルを低く維持することができることを示している。

(3) 野外実験による *P. olseni* 侵入時期の特定

11月以降、冬季から春の低水温期には *P. olseni* はほとんど侵入しないという結果が得られた。

(4) 伝搬機構の解明のための野外水槽ならびにエビ池跡地を用いた野外実験

プラスチックコンテナ内で、感染の伝搬はほとんど生じなかった。

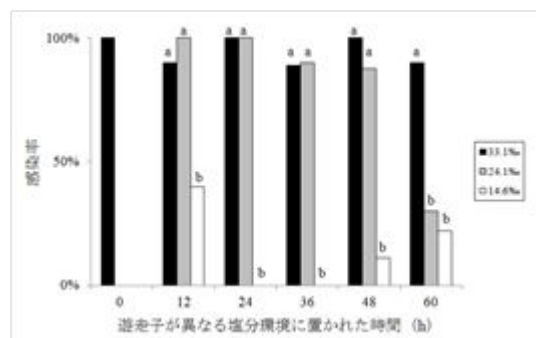
感染アサリを埋設したから23m離れた場所まで、ほぼ感染距離に応じて感染が見られた。しかし、感染アサリを埋設した場所の直上でも感染レベルは低く、3週間でも感染率

45%、最大感染強度 10^2 cells/gと、従来の感染実験と比べても極めて低い値を示した。

この二つの実験では、いずれも砂の中に死んだアサリを埋設しており、死亡したアサリ周辺は明らかに極めて嫌気的条件になっていた。

(5) 遊走子の感染能維持時間への塩分の影響

塩分33‰, 24‰では、どちらも感染能は48時間維持されたが、15‰では、感染能は急速に失われた。この結果から、遊走子の感染能は栄養体や遊走子嚢の増殖や発達と同様、アサリの生息する環境では塩分にほとんど影響されないことが明らかになった。



以上の結果をまとめると、感染伝搬機構などに不明な点は残ったものの、感染が蔓延している状態でも可能な感染軽減手法を提案できた。すなわち、エビ池などの比較的閉鎖的施設でアサリ種苗の中間育成をし、これを低水温期に放流すること、また、数kmという範囲で漁獲強度を上げることによって感染個体群をできるだけ除去し、ここに放流によってあるいは自然発生群の着底を待つという方法である。今後、事業規模での実証が必要と思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計2件)

Waki, T. and T. Yoshinaga. Suppressive effects of low salinity and low temperature on *in-vivo* propagation of the protozoan *Perkinsus olseni* in Manila clam, *Fish Pathology*, 50(1), 2015. 査読あり

Waki, T., T. Yoshinaga, Experimental challenges of juvenile and adult Manila clams with the protozoan *Perkinsus olseni* at different temperatures. *Fisheries Science*, 79(5), 779-786, 2013. 査読あり

〔学会発表〕(計1件)

横山正英・山田英俊・伊藤直樹・良永知義. エビ養殖池・覆砂域のアサリにおける *Perkinsus olseni* の感染状況.

平成 28 年度日本魚病学会春季大会.平成 28
年度 3 月.東京海洋大学品川キャンパス.

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

良永知義(YOSHINAGA Tomoyoahi)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授
研究者番号：20345185

(2) 研究分担者

兼松正衛(KANEMATSU, Masaei)
独立行政法人水産総合研究センター・瀬戸
内海区水産研究所・主任研究員
研究者番号：80443373

(3) 連携研究者

伊藤 篤(ITOH, Atsushi)
独立行政法人水産総合研究センター・瀬戸
内海区水産研究所・主任研究員
研究者番号：80520957