

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 宇田川 彰久

単生類ディクリドフォラ科の *Heterobothrium okamotoi* Ogawa, 1991 がトラフグの鰓に寄生し、吸血により貧血を引き起こすヘロボツリウム症は、トラフグ養殖に甚大な被害を与えている。孵化幼生は繊毛運動によりトラフグ鰓弁に到達して成長した後、鰓腔壁に移行して成熟する。虫卵が生簀網に絡まったまま孵化するため感染が重篤化しやすい。しかし、感染期である孵化幼生の生物学的な研究はほとんどなされていない。本研究は孵化幼生の遊泳行動や水中での拡散・伝播の機序を明らかにすることを目的とした。

1. 孵化幼生の繊毛運動と遊泳行動の生物学的特徴

遊泳は繊毛によって運動する遊泳期と繊毛運動はしているが前進しない静止期の2相が交互に繰り返されていた。遊泳期の時間は日齢と共に減少する傾向があった。遊泳はランダムな方向にらせん軌跡を描く前進遊泳で、孵化直後では速度は 4.0 mm/sec であった。孵化後2日間は規則正しい遊泳パターンが維持された。海水を満たした高さ 15 cm の円柱容器内では、幼生は表層と底層、特に底層に局在する傾向があった。

Jennings の簡易検出法やT迷路法を用いた実験では宿主の体表粘液や飼育水に対する走化性は認められなかった。走熱性・熱集合、走光性・光集合に関しても反応を示さなかった。鉛直円筒管内では、遊泳する孵化幼生も繊毛運動を止めた幼生も、ほとんどの場合、前端を下に向け、ほぼ同じ速度 (8.3 mm/min) で鉛直下方に移動した。一方、孵化幼生と同じ比重に調整した海水中では体軸の配向は変化しなかったが、比重に違いがあると幼生は沈降または浮揚を始め、それに伴って体軸が鉛直 (上、下) 方向に配向した。このことから、虫体が前部と後部で非対称なため、沈下する幼生に対する流体の粘性抵抗中心と体積中心の不一致に起因するトルクが配向を生み出していると考えられた。さらに、沈下する際には前端を重力方向に向けることから、体の前部と後部の間に比重差があり、沈下することで前部を重力方向に配向させるトルクも関与するものと思われる。

明条件から暗条件にすると、直後の数秒(2~8 秒)間、孵化幼生は鉛直上方に遊泳した。この行動反応は光刺激をトリガーとした驚動反応であり、光源の強さに関係しなかった。反応時にはランダムな方向から鉛直上方に遊泳方向を変え、平常時よりやや速い速度で上昇遊泳した。

2. 孵化幼生の水平方向、鉛直方向への移動力と拡散性

孵化幼生は水平方向には3日後でも平均 8.7cm しか移動しなかった。円筒管の上端から加えた孵化幼生は、1時間後には 30 %、3時間後には 70%が下層に局在したが、上層に留まる幼生も 12~25%存在した。この傾向は 24 時間後でも維持された。幼生を下端から添加すると 24 時間後には 80%が下層に局在した。下層に分布する傾向は孵化後日齢が進むと

顕著になった。

また、大型シャーレ内でいろいろな高さから孵化幼生を添加する実験で、鉛直移動が組み合わさることで水平拡散距離が変わることが実証された。1 mm/sec 以上の水流があると、孵化幼生は水流とほぼ同じ速度で移動し分布を変えたことから、流動環境下では孵化幼生は海水と共に受動的に移動することが明らかになった。

3. 移動・分散した孵化幼生の感染力と伝播可能な範囲

明条件と暗条件においたトラフグに孵化幼生を感染させたところ、照度の違いによる感染率に差はみられなかった。また、流速下では体表への感染率は流速が速いほど減少したが、鰓への感染率には差がなかった。垂直管の上部と底部に分布した孵化幼生の間にも感染力に違いは確認されなかった。貧血魚に寄生していた虫体由来の卵から孵化した幼生は、健康魚の虫体から得た幼生に比べ、感染力に違いはなかった。

室内 2.5 t 水槽を用いた感染実験では、寄生した孵化幼生の 60% が添加点の底部に配置した魚であり、距離が離れるほど寄生数が指数関数的に減少した。また、12 時間以内に 90 cm 以上移動できることも分かった。

次に、水深 2 m の野外プールで感染実験を行なった。孵化幼生添加点の底層における感染数が顕著に高かった。実験期間中、水流はごく弱かったが、添加点から 30 m 離れても感染が成立した。上層と中層における感染数は底層に比べて極端に少なかった。この結果より、孵化幼生の集団は鉛直下方に移動し、さらに水流によって流されることが明らかになった。

トラフグ養殖場においては孵化幼生の大半は時間と共に生簀の下に沈下するため、感染できるのはごく一部と考えられる。一方、表層に留まる孵化幼生は水流に乗って広い範囲に伝播する可能性がある。これを防ぐために人工的な水流を水槽内に作ることによって感染機会を低下できる可能性がある。以上の様に、本研究は単生類の寄生期である孵化幼生の行動の特性を *in vitro* および *in vivo* で詳細に検討したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。