

## [別紙2]

### 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 Kay Lwin Tun

マガキは日本だけでなく、北米や西欧などでも広く養殖されている二枚貝で、世界の生産量は年間4百万トンを超える。日本と韓国の養殖マガキには、卵細胞内に寄生する原虫 *Marteilioides chungmuensis* によって軟体部に多数の膨隆患部を形成する「卵巣肥大症」が問題となっている。

本虫の感染はマガキの成熟に関連すると推察されるため、本研究では、感染の季節的消長とマガキの成熟との関係を調べた。さらに、本虫の侵入時期や病害性を明らかにした。また、本虫は雌のみに寄生することから、養殖方法を改良して雄カキの比率を増やすことによる感染制御法を開発した。

#### 1. 感染の季節的消長と宿主の成熟との関係

非感染海域である宮城県のマガキ種苗を感染海域である岡山県で9月から翌年の11月まで飼育し、その間毎月30個体を組織学的に検査した。その結果、雄は夏に成熟、放精した後、10月には生殖腺が縮退した。一方、雌では通常の夏の産卵期の後、翌年の3月まで繰り返し産卵している個体がみられた。感染は産卵を開始する7月に認められ始め、雄を含めたカキ全体での感染率は9月に50%以上まで達したが、10月から4月にかけて3%にまで低下した。

#### 2. 宿主体内への侵入時期

本虫はマガキの唇弁から侵入し、卵細胞内で胞子を形成するが、いつ侵入するかはよくわかっていない。そこで、0歳と1歳の無感染マガキを毎月新たに感染海域で飼育し、1ヶ月後に30個体の唇弁と生殖腺を調べた。いずれの年齢のカキも8月から10月はPCR法で80%以上の感染率であったが、11月から徐々に低下し、2月から4月は3%となった。さらに、2月に感染海域で2週間飼育した後、無感染加温条件下で1ヶ月間飼育した結果、加温前には7%前後だった感染率は、加温飼育後に87%まで上昇したが、無加温区では10%以下であった。このことから、宿主への侵入は1年中継続していることが明らかとなった。

#### 3. *M. chungmuensis* の病害性

麻酔したカキから注射器を用いて生殖巣の一部を取り出し、感染の有無を検査するという生体検査法を開発した。この方法を用いて、8月に感染カキのみ270個を選択して垂下飼育し、翌年6月までの生残を調べるとともに、組織切片法で毎月10個体の感染状況を検査した。その結果、感染カキでは9月から11月にかけて、選択を行わなかった対照区に比べ死亡率が有意に高かった。一方、11月から翌年5月までは感染カキでも生殖巣は縮退し、

死亡もみられなかった。以上の結果より、秋季は感染カキの死亡によって、冬季はカキが感染した卵を放出したことによって、感染率が低下したと考えられた。

#### 4. マガキの成熟制御による感染の制御

マガキの性比を変えることによる感染の制御を試みた。11月に無感染カキの種苗を1年間、潮間帯に設置した棚（棚区）上で、あるいは海面の筏（筏区）に垂下して飼育した。また、一部は翌年4月まで棚上で飼育した後、筏に移動して飼育した（移動区）。2ヶ月毎に各区のマガキ50個の成熟と感染を調べた結果、11月の棚区の感染率は18%で、筏区の46%より有意に低く、雄が雌より有意に多かった。どちらの区でも雌は80%以上が感染していたことから、棚区では雄の割合が高くなり、結果として全体の感染率が低下したと考えられた。しかし、棚区の軟体部重量は、11月には筏区の1/3以下であった。一方、移動区では感染率は低く、かつ軟体部重量は11月までには筏区とほぼ同等の値にまで回復した。棚上で飼育したマガキを適当な時期に筏に移すことで、感染率の軽減と成長の回復の両方を達成できる可能性が示された。

そこで、カキの成長に悪影響を与えることなく、かつ感染を抑えるのに最適な移動時期を調べた。無感染カキを9月から翌年10月まで、棚上あるいは筏で飼育した。また、4月から7月にかけて棚上のカキを筏へ移動し、10月まで飼育した。その結果、棚区、7月、6月、5月、4月移動区、筏区の順番で雄が少なくなった。また、感染率は逆に棚区、移動区、筏区の順に高くなかった。6月以前に移動したカキの軟体部重量は10月には筏区とほぼ同じであることから、6月にカキを筏に移動させることで、従来の4月移動よりも感染率を下げるとともに出荷までに成長を回復させることができた。

以上、本研究によって、*M. chungmuensis*の感染の季節的消長を明らかにすることができた。季節的消長は宿主への侵入時期、侵入した際のマガキの成熟度、寄生による宿主の産卵期間の延長、寄生による宿主の死亡が原因となっていた。また、飼育環境を変えることでカキの雌雄比を操作して感染率を下げるという感染制御法を開発した。これらの成果は、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委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。