

高知県の養殖カンパチと養殖イシダイ及び鹿児島県の養殖ブリに寄生する カプサラ科単生類の種の同定とその遺伝的多様性について

今城雅之¹・合田暉²・藤岡博哉³・井川拓也³・山本剛⁴・森光一幸⁵・久保栄作⁶

(¹高知大学教育研究部自然科学系農学部門・²高知大学大学院総合人間自然科学研究科農学専攻・³高知大学大学院黒潮圏総合科学専攻・⁴鹿児島県東町漁業協同組合・⁵カネイ水産・⁶久保水産)

Species Identification and Genetic Diversity of Monogenean Parasites (*Capsalidae*) from Greater Amberjack (*Seriola dumerili*) and Striped Beakfish (*Oplegnathus fasciatus*) Cultured in Kochi Prefecture and Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) in Kagoshima Prefecture

Masayuki Imajoh¹, Hikaru Goda², Hiroya Fujioka³, Kakuya Ikawa³, Takeshi Yamamoto⁴,
Kazuyuki Morimitu⁵ and Eisaku Kubo⁶

¹Agriculture Unit, Natural Sciences Cluster, Research and Education Faculty, Kochi University; ²Faculty of Agriculture and Agricultural Science Program, Graduate School of Integrated Arts and Science, Kochi University; ³Graduate School of Kuroshio Science, Kochi University; ⁴Azuma-cho Fisheries Cooperative Association; ⁵Kanei Fisheries Corporation; ⁶Kubo Fisheries Corporation

Abstract: The skin-parasitic capsalid monogeneans cause serious problem on cultured marine fishes (especially *Seriola* fishes) in Japan. In this study, we aimed to identify the species and examine the genetic diversity of capsalid monogeneans from greater amberjack *Seriola dumerili* and striped beakfish *Oplegnathus fasciatus* in three marine aquaculture regions of Kochi Prefecture, and yellowtail *Seriola quinqueradiata* in 11 marine aquaculture regions of Kagoshima Prefecture. Monogenean species from yellowtail, greater amberjack, and striped beakfish were identified as *Benedenia seriolae*, *B. seriolae* and *Neobenedenia melleni*, and *Benedenia hoshinai*, respectively. The parasitic rates of *N. melleni* collected from greater amberjack in Kashiwajima and Komame in October (72.3% and 51.2%) were higher than those in Otani from August to November (0% to 13.7%), indicating that *N. melleni* becomes dominant species at the high water temperature period. The specimens of *B. seriolae* were sequenced and their mitochondrial COI gene regions were analysed. A total of eight haplotypes were identified, of which four were detected in Otani. This may be the reason that the damage of skin fluke infection has been prolonged over the last few years. Phylogenetic analysis revealed that all haplotypes of *B. seriolae* were classified into Japanese clade.

キーワード：ハダムシ症，高知県，鹿児島県，海産養殖魚，28S rDNA 遺伝子，COI 遺伝子，ハプロタイプ。

Keyword: Skin fluke infection, Kochi Prefecture, Kagoshima Prefecture, Cultured marine fishes,
28S rDNA gene, COI gene, Haplotype.

はじめに

カブサラ科単生類の魚体への寄生はハダムシ症と称され、鹿児島県、宮崎県、熊本県、大分県、長崎県の南中九州地区と高知県、愛媛県の西四国地区において、特にブリ *Seriola quiqueradiata*, カンパチ *Seriola dumerili*, ヒラマサ *Seriola lalandi* を含むブリ属養殖に深刻な被害をもたらしている (平成 27 年度南中九州・西四国水族防疫会議資料)。本症に罹患した魚は、原因虫の固着盤と吸盤による吸着と寄生部位の食害により、体を養殖網に擦り付けるため、体表に糜爛・潰瘍が形成され、二次的に滑走細菌症やビブリオ病等の他の細菌感染を併発する 경우가多く、摂餌不良となることから、重症の場合は死に至ることもある。ブリ、カンパチ、ヒラマサで見られるハダムシ症は *Benedenia seriolae* を原因とし、標準和名でブリハダムシと呼ばれている (横山と長澤¹⁾)。また、ブリ属の中でもブリ、ヒラマサ、それらの交雑種の魚種間、さらに、同一種内でも本寄生虫に対する感受性は個体毎に異なることが知られている (長倉ほか²⁾)。

ハダムシ症は現在、ほとんどの海面養殖魚種が罹患する寄生虫病となっており、*B. seriolae* 以外のベネデニア属として、マハタ *Epinephelus septemfasciatus*, トラフグ *Takifugu rubripes* を宿主とするマハタハダムシの *Benedenia epinepheli* (Ogawa ほか³⁾)、マダイ *Pagrus major* を宿主とするマダイハダムシの *Benedenia sekii* (小川⁴⁾)、イシダイ *Oplegnathus fasciatus* を宿主とする *Benedenia hoshinai* (Ogawa⁵⁾)、ネオベネデニア属として、カンパチ、ヒラメ *Paralichthys olivaceus*, マダイを宿主とするシンハダムシの *Neobenedenia girellae* (Ogawa ほか⁶⁾) などの近縁種が存在する。

農林水産省の平成 26 年漁業・養殖業生産統計によると、海面養殖による魚類生産量は 23 万 8,800 トンであり、そのうち、ブリ 9 万 4,600 トン、カンパチ 3 万 7,500 トン、マダイ 6 万 1,500 トンとなり、高知県はブリで 7,900 トン、カンパチで 3,800 トン、マダイで 4,700 トン、鹿児島県はブリで 2 万 3,700 トン、カンパチで 1 万 9,900 トンの生産量を占める全国でも有数の生産県である。養殖漁場では、ハダムシ症対策として淡水浴、過酸化水素製剤による薬浴、プラジカンテルの経口投与が行われており、その中でも、淡水浴と薬浴が最も一般的である (長倉ほか⁷⁾)。しかし、これらの作業は頻繁に繰り返す必要があるために要する労力と時間は多大であり、現場の高齢化や若い担い手不足から養殖業者にとって大きな負担となっているのが現状である。本研究では、ハダムシ症対策の新たな展開に向けた取り組みに資するため、高知県須崎市大谷で養殖されたカンパチ、同県幡多郡大月町古満目と柏島で養殖されたカンパチとイシダイ、鹿児島県出水郡長島町の諸浦薄井、諸浦白瀬、諸浦葛輪、諸浦本浦、川床脇崎、鷹巣伊唐、鷹巣宮之浦、浦底福ノ浦、浦底三船、獅子島幣串、獅子島御所ノ浦で養殖されたブリを対象として、ハダムシ症の原因寄生虫の種同定とその遺伝的多様性を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

サンプリング

2014 年 8 月から 11 月に高知県須崎市大谷の養殖カンパチ、同年 7 月と 10 月に高知県幡多郡大月町古満目および柏島の養殖カンパチと養殖イシダイ、同年 8 月から 10 月に鹿児島県出水郡長島町 11 地点、すなわち、諸浦薄井、諸浦白瀬、諸浦葛輪、諸浦本浦、川床脇崎、鷹巣伊唐、鷹巣宮之浦、浦底福ノ浦、浦底三船、獅子島幣串、獅子島御所ノ浦の養殖ブリをそれぞれ対象とし、サンプリング毎に 1~5 尾の魚体を 20L のクーラーボックスに入れ、5 分間の淡水浴を行った。その後、体表から剥落したハダムシの虫体をネットで回収し、70%エタノールで固定して 4°C で保存した。

実体顕微鏡による観察

回収した虫体をスライドガラスの上に置き、実体顕微鏡 SMZ-10 (ニコン社製) を用いて、体前端部にある一対の吸盤間の凹凸の形ごとに分けて数え、寄生数を計数した。

DNA 抽出

各サンプリング毎に凹型と凸型ハダムシ1虫体をそれぞれ無作為に選別し QIAamp DNA Mini Kit(キアゲン社製)により DNA を抽出した. 具体的には, エタノール固定した虫体を 1.5ml のエッペンチューブに移し, 180 μ l の Buffer ATL と 20 μ l の Proteinase K を加え, 56°C で 1 時間インキュベートした. その後, 200 μ l の Buffer AL を加えて 70°C で 10 分間インキュベートし, 200 μ l の 100%エタノールを添加後, 混合液をスピニングカラムに移し, 6,000 \times g で 1 分間遠心分離した. 上液を捨て, 500 μ l の Buffer AW1 をスピニングカラムに加え, 6,000 \times g で 1 分間遠心分離した. 再度, 上液を捨て, 500 μ l の Buffer AW2 を加え, 6,000 \times g で 1 分間遠心分離した. 200 μ l の Buffer AE を加えて 50°C で 10 分間のインキュベート後, 6,000 \times g で 1 分間遠心分離して DNA 溶液を回収した. DNA の純度と量を Q5000 微量紫外可視分光光度計 (トミー精工社製) で測定した.

ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 増幅

PCR は核 DNA の 28S リボソーム DNA (28S rDNA) 遺伝子とミトコンドリア DNA のシトクロム c 酸化酵素サブユニット I (COI) 遺伝子を標的とし, Table 1 に示した既存のプライマーセット (Sepúlveda と González⁸⁾) を用いて行った. PCR 反応液の組成は, TaKaRa Ex Taq HS (タカラバイオ社製, 5 units/ μ l) 0.125 μ l, 10 \times Ex Taq Buffer 2.5 μ l, dNTP Mixture (各 2.5 mM) 2 μ l, 各プライマー (50 pmol/ μ l) 0.25 μ l を含む反応液系に, 上記の抽出 DNA 溶液 0.5 μ l を加え, 滅菌水で全量を 25 μ l とした. PCR 反応は T100TM サーマルサイクラー (バイオラッド社製) を用いて行い, 反応条件は, 28S rDNA 遺伝子の場合, 98°C で 30 秒の初期熱変性後, 98°C で 15 秒, 50°C で 30 秒, 72°C で 1 分の 5 サイクル, 98°C で 15 秒, 52°C で 30 秒, 72°C で 1 分の 40 サイクル, 最後に 72°C で 5 分間の付加伸長反応, COI 遺伝子の場合, 98°C で 30 秒の初期熱変性後, 98°C で 15 秒, 48°C で 30 秒, 72°C で 1 分の 45 サイクル, 最後に 72°C で 5 分間の付加伸長反応をそれぞれ行った.

Table 1. 本研究で用いたプライマーリスト

標的遺伝子	プライマー名		塩基配列 (5'→3')	引用
核 28S rDNA 遺伝子	C1	フォワード	ACCCGCTGAATTTAAGCAT	Sepúlveda と González (2014)
	D2	リバース	TGGTCCGTGTTTCAAGAC	
	28SbeneFr	フォワード	TTCACCATCTCTGGGAGTAT	本研究
	28SbeneRf	リバース	ATATGCTTGCATGTGTTTAT	
	28SneoFr	フォワード	GGCCTATCACCATCTCTGGG	本研究
	28SneoRf	リバース	GATTACTGTGAACATTGTGA	
ミトコンドリア COI 遺伝子	JB3	フォワード	TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT	Sepúlveda と González (2014)
	COX1	リバース	AATCATGATGCAAAAAGGTA	
	COIbeneFr	フォワード	TGTCTTTAACATCCATACCTA	本研究
	COIbeneRf	リバース	TGTGTTTATGATGCCACTTT	
	COIneoFr	フォワード	CACCAATAATCATTGTAACA	本研究
	COIneoRf	リバース	TGGTAGTATTATTTCTGCTA	

塩基配列解析

得られた PCR 産物の塩基配列はダイレクトシーケンシング法によって決定した。PCR 産物を 1.2%のアガロースゲルの電気泳動に供し、エチジウムブロマイド染色後、LED トランスイルミネーター（和光純薬社製）による LED 照射下でゲルから PCR 産物のバンドを切り出し、ゲル片を 1.5ml のエッペンチューブに入れた。PCR 産物の抽出と回収は High Pure PCR Product Purification Kit（ロシュ・ダイアグノスティックス社製）を用いて行った。具体的には、Binding Buffer 300 μ l を加え、56°C で 10 分間インキュベートしてゲル片を完全に溶解させ、2-プロパノール（ナカライテスク社製）150 μ l を加えた混合液をスピニングカラムに移し 13,000 \times g で 1 分間遠心した。ろ液を捨て、Washing Buffer 500 μ l をスピニングカラムに加えて、13,000 \times g で 1 分間遠心した。再度、ろ液を捨て、Washing Buffer 200 μ l を加えて、13,000 \times g で 1 分間遠心した。Elution Buffer 200 μ l を加えて 50°C で 10 分間のインキュベート後、13,000 \times g で 1 分間遠心し、溶出した DNA 溶液を回収した。サイクルシーケンシング反応は BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v3.1（ライフテクノロジー社製）と PCR プライマーに加え、本研究で設計したプライマー（Table 1）を併せて用いた。サイクルシーケンシング反応液の組成は、BigDye Terminator v3.1 Ready Reaction Premix 0.25 μ l、5 \times BigDye Sequencing Buffer 3.5 μ l、プライマー（1 pmol/ μ l）3.2 μ l を含む反応液系に、抽出した DNA 溶液を加えて全量を 20 μ l とした。反応は上記のサーマルサイクラーを用い、96°C で 1 分の初期熱変性後、96°C で 10 秒、50°C で 5 秒、60°C で 2 分の 35 サイクルの条件で行った。反応液はエタノール沈殿を行い、風乾後、15 μ l の Hi-Di ホルムアミドに溶解し、ABI Prism3100-Avant Genetic Analyzer（アプライドバイオシステムズ社製）に供して塩基配列のデータを得て、BioEdit version 7.0.5.3 により編集して塩基配列を決定した。

塩基配列データの解析および系統樹の作成

得られた 28S rDNA 遺伝子配列をもとに NCBI（National Center for Biotechnology Information）のデータベースを用いて BLAST 検索し種を同定した。また、得られた COI 遺伝子配列をもとに DNA 多型の検出、ハプロタイプの決定、および分子系統解析を行った。分子系統解析には、データベース上に登録されている既存の *B. seriola* の COI 遺伝子配列（チリのヒラマサ由来 KC633872~KC633878、和歌山県のブリ由来 KC633879~KC633881、オーストラリアのサムソンフィッシュ由来 NC014291、HM22526）を合わせて MEGA（Molecular Evolutionary Genetics Analysis）6 により最尤法で系統樹を作成した。その際、分岐の信頼性を 1000 回のブートストラップ法により推定し、同属の近縁種である *Neobenedenia* sp.（JQ782846）をアウトグループとした。

結果と考察

サンプリング毎に魚体の体表に付着していたハダムシの総寄生数の測定結果を Table 2 に示した。カンパチにおいて、高知県須崎市大谷では 8 月に凸型 28 虫（96.6%）と凹型 1 虫（3.4%）の計 29 虫、9 月に凸型 63 虫（86.3%）と凹型 10 虫（13.7%）の計 73 虫、10 月に凸型のみ 43 虫（100%）、11 月に凸型 279 虫（93%）と凹型 21 虫（7%）の計 300 虫、10 月の高知県幡多郡大月町柏島では凸型 13 虫（27.7%）と凹型 34 虫（72.3%）の計 47 虫、10 月の高知県大月町古満目では凸型 40 虫（48.8%）と凹型 42 虫（51.2%）の計 82 虫となった。28S rDNA 遺伝子領域の BLAST 検索の結果、凸型ハダムシは *B. seriola*、凹型ハダムシは *N. melleni* と同定され、大谷では 8 月から 11 月にかけて 86.3~100%の割合で *B. seriola* が優占していたこと、10 月の柏島と古満目では *N. melleni* の寄生率が *B. seriola* よりも多いことが明らかとなり、寄生の傾向は地域間で異なっていた。鹿児島県水産技術開発センターが実施した 2000~2010 年の魚病診断結果によると、鹿児島県の養殖カンパチには、水温が 28°C 以下の春先から 7 月頃までは *B. seriola*、28°C 以上の高水温期の 8 月から水温が低下し始める 11 月頃までは *Neobenedenia girellae* が優占して寄生すると報告されている（柳ほか⁹⁾）。*N. melleni* は *N. girellae* のシノニムであるとされていることから（Whittington と Horton¹⁰⁾）、高水温期におけるハダムシ寄生は柏島と古満目のカンパチでも同じ状況にあると考えられた。また、大谷においても、例年では夏季にネオベネデニアが多くなるという話があり、実際に今回のサンプリングでは夏季

Table 2. サンプルング毎の凸・凹型ハダムシの寄生数

分離箇所	魚種	分離月	寄生数 (%)	
			凸型	凹型
高知県				
須崎市大谷	カンパチ	8	28 (96.6)	1 (3.4)
		9	63 (86.3)	10 (13.7)
		10	43 (100)	0
		11	279 (93)	21 (7)
幡多郡大月町柏島	カンパチ	10	13 (27.7)	34 (72.3)
幡多郡大月町古満目	カンパチ	10	40 (48.8)	42 (51.2)
幡多郡大月町柏島	イシダイ	7	0	32 (100)
		10	0	480 (100)
幡多郡大月町古満目	イシダイ	10	0	23 (100)
鹿児島県				
出水郡長島町諸浦薄井	ブリ	9	20 (100)	0
		10	13 (100)	0
出水郡長島町諸浦白瀬	ブリ	9	3 (100)	0
		10	7 (100)	0
出水郡長島町諸浦葛輪	ブリ	9	4 (100)	0
出水郡長島町諸浦本浦	ブリ	9	27 (100)	0
		10	8 (100)	0
出水郡長島町川床脇崎	ブリ	10	65 (100)	0
出水郡長島町鷹巣伊唐	ブリ	10	7 (100)	0
出水郡長島町鷹巣宮之浦	ブリ	10	12 (100)	0
出水郡長島町浦底福ノ浦	ブリ	9	15 (100)	0
出水郡長島町浦底三船	ブリ	9	6 (100)	0
出水郡長島町獅子島幣串	ブリ	8	9 (100)	0
		9	1 (100)	0
出水郡長島町獅子島御所ノ浦	ブリ	9	5 (100)	0

の水温が低かった影響から、例外的に *N. melleni* の寄生率が低かった可能性がある。2010年頃から南九州や西四国の養殖カンパチにおいて、眼球に白濁・出血・欠損・潰瘍・乾酪化を呈する「眼球炎」と称される新疾病が、夏季の高水温期を中心に多発しており、*N. girrellae* の多発時期とほぼ一致する傾向にあることから、本寄生虫による寄生がその一次要因として注目されている（柳ほか¹¹⁾）。本症は現在、大谷の養殖カンパチでも深刻な問題となっており、今後も *N. melleni* 寄生の季節的変動を継続的に調査することで、その関連性を明らかにする必要がある。

養殖イシダイにおいて、7月と10月の柏島では凹型のみ32虫（100%）と480虫（100%）、10月の古満目では凹型のみ23虫（100%）となり、28S rDNA 遺伝子領域のBLAST検索の結果、凹型ハダムシは *B. epinepheli* と同定された。しかしながら、これまでイシダイでは *B. epinepheli* による寄生の報告はない。本研究の分離虫体の体長は *B. epinepheli* の体長2~3 mm よりも明らかに大きくかつ *B. hoshinai* の体長に近いこと（畑井と小川¹²⁾）、*B. hoshinai*

の 28S rDNA 遺伝子領域の配列情報がデータベース上にないこと、COI 遺伝子領域の BLAST 検索から *B. hoshinai* と最も相同性が高かったことなどを考慮すると、イシダイ由来の凹型ハダムシは *B. epinepheli* ではなく *B. hoshinai* と考えるのが妥当であると思われた。また、養殖ブリにおいて、鹿児島県出水郡長島町 11 地点では凸型のみ 3~65 虫 (100%) が観察され、28S rDNA 遺伝子領域の BLAST 検索の結果、凸型ハダムシは *B. seriola* と同定され、養殖イシダイと養殖ブリに寄生していたハダムシの種はそれぞれ一種のみであった。

B. seriola の COI 遺伝子領域の解析結果、135 番目の C→T, 364 番目の A→G, 507 番目の T→C, 531 番目の G→T, 552 番目の G→A, 585 番目の T→C, 653 番目の C→T, 697 番目の G→A, 735 番目の G→T の合計 9 箇所の塩基置換が検出され、多型箇所の組み合わせから CSa~CSh の 8 ハプロタイプが確認された (Table 3)。高知県須崎市大谷の養殖カンパチと鹿児島県出水郡長島町の川床脇崎、鷹巣伊唐、鷹巣宮之浦、獅子島幣串の養殖ブリにおいてハプロタイプ CSa が共通して確認された。一方で、残りの 7 ハプロタイプの分布は地域間と魚種間による違いが見られ、特に、大谷の養殖カンパチでは CSa を含めて CSe, CSg, CSh の合計 4 つと他の地域と比較して多様なハプロタイプが存在していた (Table 4)。

Table 3. ミトコンドリア DNA COI 遺伝子領域に認められた *B. seriola* 8 ハプロタイプの DNA 多型箇所

ハプロタイプ	塩基置換部位								
	135	364	507	531	552	585	653	697	735
CSa	C	A	T	G	G	T	C	G	G
CSb	C	A	C	G	G	T	C	G	T
CSc	T	G	T	G	G	C	C	G	T
CSd	C	A	T	G	G	T	C	G	T
CSe	C	A	T	G	G	T	T	G	G
CSf	C	A	T	G	G	T	T	A	G
CSg	C	A	C	T	G	T	C	G	T
CSh	C	A	T	G	A	T	C	G	G

B. seriola によるハダムシ症被害は 1990 年中頃まで日本に限られていたが、その後、チリ、オーストラリア、ニュージーランドのヒラマサ (Whittington ほか¹³⁾, Ernst ほか¹⁴⁾, Sharp ほか¹⁵⁾ など、オーストラリアのサムソンフィッシュ *Seriola hippos* (Perkins ほか¹⁶⁾) など国外の養殖魚でも報告されるようになった。チリのヒラマサ由来の *B. seriola* は日本由来のものと形態学的・形態計測学には違いはないものの、COI 遺伝子領域の系統解析から遺伝的に異なるグループに位置することから、*B. seriola* は複合種であることが提案されており、お互いの分布域は地理的に制限されていると考えられている (Sepúlveda と González⁸⁾)。今回の研究で見つけた *B. seriola* の 8 ハプロタイプは、COI 遺伝子の最尤系統樹で分かれた 3 つのクレード、すなわち、日本クレード、オーストラリアクレード、チリクレードのうち、日本クレードに位置しており (Fig. 1), *B. seriola* を複合種とする考えを支持する結果となった。このことから、COI 遺伝子は国内外の *B. seriola* を判別する上で有用な領域であり、国外からの侵入を未然に防ぐ防疫の観点からも重要であることが示された。

Table 4. 各地点における *B. seriolae* 8 ハプロタイプ数

分離箇所	魚種	ハプロタイプ							
		CSa	CSb	CSc	CSd	CSe	CSf	CSg	CSH
高知県									
須崎市大谷	カンパチ	2	—	—	—	1	—	1	1
幡多郡大月町柏島	カンパチ	—	—	—	—	—	1	—	—
幡多郡大月町古満目	カンパチ	—	—	—	—	—	—	1	—
鹿児島県									
出水郡長島町諸浦薄井	ブリ	—	—	1	—	—	—	—	—
出水郡長島町諸浦白瀬	ブリ	—	1	—	—	—	—	—	—
出水郡長島町諸浦葛輪	ブリ	—	—	1	—	—	—	—	—
出水郡長島町諸浦本浦	ブリ	—	1	—	—	—	—	—	—
出水郡長島町川床脇崎	ブリ	1	—	—	—	—	—	—	—
出水郡長島町鷹巣伊唐	ブリ	1	—	—	—	—	—	—	—
出水郡長島町鷹巣宮之浦	ブリ	1	—	—	—	—	—	—	—
出水郡長島町浦底福ノ浦	ブリ	—	—	—	1	—	—	—	—
出水郡長島町浦底三船	ブリ	—	1	—	—	—	—	—	—
出水郡長島町獅子島幣串	ブリ	2	—	—	—	—	—	—	—
出水郡長島町獅子島御所ノ浦	ブリ	—	—	—	1	—	—	—	—
合計		7	3	2	2	1	1	2	1

Table 5. ミトコンドリア DNA COI 遺伝子領域に認められた *B. hoshinai* 3 ハプロタイプの DNA 多型箇所

ハプロタイプ	塩基置換部位													
	33	93	138	192	207	216	255	336	447	477	531	546	645	777
CHa	A	C	T	T	A	C	T	C	T	A	G	C	T	T
CHb	A	C	C	T	A	C	T	C	T	A	A	C	T	T
CHc	T	T	C	C	T	T	C	T	C	G	A	T	A	C

B. hoshinai の COI 遺伝子領域の解析結果、33 番目の A→T、93 番目の C→T、138 番目の T→C、192 番目の T→C、207 番目の A→T、216 番目の C→T、255 番目の T→C、336 番目の C→T、447 番目の T→C、477 番目の A→G、531 番目の G→A、546 番目の C→T、645 番目の T→A、777 番目の T→C の合計 14 箇所の塩基置換が検出され (Table 5)、多型箇所の組み合わせから CHa~CHc の 3 ハプロタイプが確認された (Table 6)。一方で、*N. melleni* では塩基置換はなく遺伝多型は認められなかった (data not shown)。

以上から、養殖ブリでは *B. seriolae*、養殖イシダイでは *B. hoshinai* が特異的に寄生しており、養殖カンパチでは *B. seriolae* と *N. melleni* が寄生していた。そのうち、ベネデニア属の2種は多型であり、*B. seriolae* の8ハプロタイプのうち、4ハプロタイプは大谷のカンパチから見つかったことから、ここ数年ハダムシ症による被害が長期化する傾向にあるという新たな問題と関連しているかもしれない。

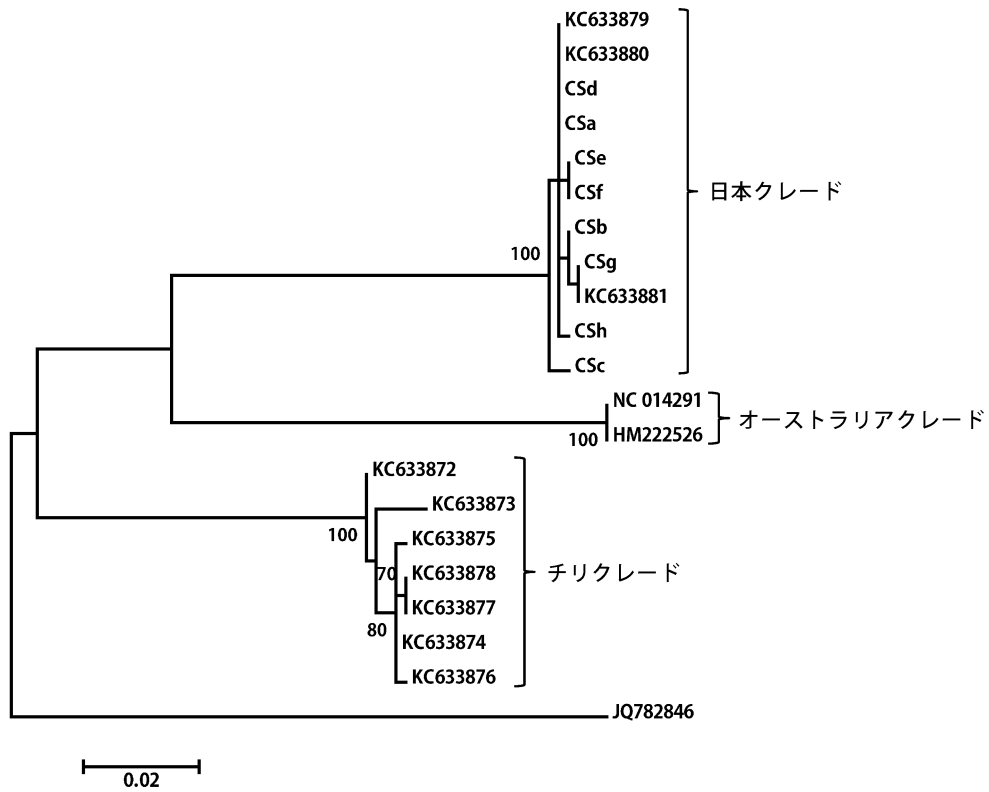


Fig. 1. *B. seriolae* 8 ハプロタイプのミトコンドリア DNA COI 遺伝子領域から構築された最尤系統樹

Table 6. 各地点における *B. hoshinai* 3 ハプロタイプ数

分離箇所	魚種	ハプロタイプ		
		CHa	CHb	CHc
高知県				
須崎市大谷	イシダイ	—	—	—
幡多郡大月町柏島	イシダイ	1	—	1
幡多郡大月町古満目	イシダイ	—	1	—
合計		1	1	1

文献

1. 横山博・長澤和也, 養殖魚介類の寄生虫の標準和名目録. 生物圏科学, 53, 73–97. (2014)
2. 長倉義智・良永知義・坂本 崇・服部圭太・岡本信明, ブリ、ヒラマサおよびそれらの交雑種の *Benedenia seriola* に対する感受性の違い. 水産増殖, 54, 335–340. (2006)
3. Ogawa, K., Bondad-Reantaso, M. G., Wakabayashi, H., Redescription of *Benedenia epinepheli* (Yamaguti, 1937) Meserve, 1938 (Monogenea: Capsalidae) from cultured and aquarium marine fishes of Japan. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 52 (suppl. 1), 62–70. (1995)
4. 小川和夫, 魚類寄生虫学. 東京大学出版 東京, 104–107. (2005)
5. Ogawa, K., *Benedenia hoshinai* sp. nov., a monogenean parasite on the Japanese striped knifejaw, *Oplegnathus fasciatus*. Fish Pathology, 19, 97–99. (1984)
6. Ogawa, K., Bondad-Reantaso, M. G., Fukudome, M., Wakabayashi, H., *Neobenedenia girellae* (Hargis, 1955) Yamaguti, 1963 (Monogenea: Capsalidae) from cultured marine fishes of Japan. The Journal of Parasitology, 81, 223–227. (1995)
7. 長倉義智・良永知義・坂本 崇・服部圭太・岡本信明, ブリ類交雑家系におけるハダムシ感染試験方法の検討および家系間のハダムシ感受性比較. Journal of Fisheries Technology, 3, 21–26. (2010)
8. Sepúlveda, F. A., González, M. T., Molecular and morphological analyses reveal that the pathogen *Benedenia seriola* (Monogenea: Capsalidae) is a complex species: Implications for yellowtail *Seriola* spp. aquaculture. Aquaculture, 418–419, 94–100. (2014)
9. 柳宗悦・平江多績・村瀬拓也・仁部玄通・加塩信広・竹丸巖, 鹿児島県のカンパチ養殖における魚病発生の変遷. 鹿児島県水産技術開発センター研究報告, 3, 45–55. (2012)
10. Whittington, I. D., Horton, M. A., A revision of *Neobenedenia* Yamaguti, 1963 (Monogenea: Capsalidae) including a redescription of *N. melleni* (MacCallum, 1927) Yamaguti, 1963. Journal of Natural History, 30, 1113–1156. (1996)
11. 柳宗悦・前野幸二・今岡慶明・嶋原佳子・三輪理・大迫典久, 鹿児島県内における養殖カンパチの眼球炎の発生傾向について. 魚病研究, 50, 29–32. (2015)
12. 畑井喜司雄・小川和夫, 新魚病学図鑑. 緑書房 東京, 215–246. (2006)
13. Whittington, I. D., Deveney, M. R., Wyborn, S. J., A revision of *Benedenia* Diesing, 1858 including a redescription of *B. sciaenae* (van Beneden, 1856) Odhner, 1905 and recognition of *Menziesia* Gibson, 1976 (Monogenea: Capsalidae). Journal of Natural History, 35, 663–777. (2001)
14. Ernst, I., Whittington, I., Corneillie, S., Talbot, C., Monogenean parasites in sea-cage aquaculture. Austasia Aquaculture, 35, 46–48. (2002)
15. Sharp, N. J., Poortenaar, C. W., Diggles, B. K., Willis, T. J., Metazoan parasites of yellowtail kingfish, *Seriola lalandi* lalandi, in New Zealand: prevalence, intensity, and site preference. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 37, 273–282. (2003)
16. Perkins, E. M., Donnellan, S. C., Bertozzi, T., Whittington, I. D., Closing the mitochondrial circle on parphyly of the Monogenea (Platyhelminthes) infers evolution in the diet of parasitic flatworms. International Journal for Parasitology, 40, 1237–1245. (2010)

平成27年 (2015) 10月9日受理

平成27年 (2015) 12月31日発行