

全真連技術研究会報

第 14 号

平成 11 年 2 月

全国真珠養殖漁業協同組合連合会

目 次

研 究 発 表

林 政 博

アコヤガイの殻体真珠層色の改良について…………… 1

和田 浩爾・山下 吉宏・植村作治郎・蝶野 一徳

宇和海におけるアコヤガイ大量へい死に関する疫学調査…………… 15

和田 浩爾・永井 清仁・田口 美香

アコヤウイルス(仮称)の垂直感染および水平感染に関する試験-I…………… 37

岩城 秀夫

真珠の巻きに対する漁場環境、赤変化の影響について…………… 51

☆ ☆ ☆

第 23 回全国真珠品評会…………… 59

アコヤガイの殻体真珠層色の改良について*

林 政 博**

真珠の品質は大きさ、色調、巻き（真珠層の厚さ）、光沢、傷の有無によって決定される。このうち真珠の色調は真珠層中に黄色色素を多く含むか、少ないかによって黄色系真珠と白色系真珠に分けられる（沢田、1962）。黄色系真珠は白色系真珠に比べて経済価値が低いため、これまで黄色真珠の生産の制御を目的として多くの研究がなされてきた。この課題は和田浩（1969）が真珠の色の決定機構を明らかにすることによって初めて解決の方向が示された。すなわち、真珠の色は外套膜片給与体（ピース貝と呼び、外套膜小片をピースと呼ぶ）によって支配されているので、ピースが黄色色素を分泌しない貝、つまり殻体真珠層に黄色色素を含まない貝を選ぶことで黄色真珠の生産をさけることができることを報じた。さらに和田克（1984、1986）はピース貝の育種実験を行って個体選抜によって殻体真珠層色の改良が可能であることを実証した。このような一連の研究を基礎として白色系真珠を高率に生産する新たな品種を作出することを目的に1992～1996年の5年間で殻体真珠層色の改良を試みたのでその結果を報告する。

1. 殻体真珠層色の測定方法の検討および親貝の選抜方法

目 的

殻体真珠層色の改良を行うには、真珠層色を精度よく測定する必要がある。これまでに報告された真珠層色の測定方法は、殻体内面を肉眼観察によって区分する方法（和田浩、1969）と、稜柱層の一部を削る方法（和田克、1984）の2つである。前者の方法は個人差があり、後者の方法は識別は容易であるが、真珠層の一部分しか観察できず、ともに数値化が困難であることが欠点であった。そこで真珠層全体の色調を正確に識別する方法を開発し、その手法を用いて親貝の選抜方法を提示した。

方 法

愛媛県産の天然採苗アコヤガイ（満2才貝、平均重量52g）の殻体を用いて、稜柱層を削り取って真珠層の色調を観察し、あわせて殻体断面の観察を行った。次に稜柱層の除去方法と真珠層色の表示方法について検討した。

結果および考察

1) 殻体真珠色の測定方法の検討

外套膜は形態的に膜縁部、縁膜部、中心部に分けられ、膜縁部は稜柱層を形成し、縁膜部は

* 本研究は水産庁委託・新品種作出基礎技術開発研究の一部として実施したものである。

** 三重県科学技術振興センター 水産技術センター

稜柱層に接した真珠層（中層）を、中心部はその内側の真珠層（内層）を分泌するとされている。

殻体の稜柱層を削ると真珠層が現れ、そこに黄色色調を確認できるが、全面を削ると黄色色調は均一でない個体が多かった。また、殻体断面を観察すると中層は黄色味を帯びているが、内層は白色に見える個体が多かった。このことは、縁膜部の外套膜は黄色色素を多く分泌し、中心部外套膜は黄色色素の分泌量が少ないことを示していると考えられた。ピースとして使用する部位は縁膜部であり、この部位が形成する中層が改良の対象となる。従って、改良を進めるには中層の色調を精度良く判定する必要があり、そのためには殻体全面の稜柱層を取り除くのが良いとの結論になった。

殻体の主成分は炭酸カルシウムであるから酸性液に浸ければ溶解する。そこで数種類の酸を用いて濃度や時間を変えて検討したが、稜柱層だけを選択的に除くことは困難であった。ところが、渡部（1950）が水酸化カリウムで稜柱層を除去したことを知り、アルカリ液で処理すると稜柱層が除去できることが分かったのでこれを応用して、図1に示す手順で真珠層標本を作製した。最初の工程で真珠層内面に塩化ビニール樹脂系接着剤を塗ったのは、水酸化カリウム溶液による真珠層の腐食を防ぐためである。蒸煮温度と蒸煮時間は、貝の大きさによって変更する必要があるが、今回使用した約50gの貝では、110℃、10分間できれいに稜柱層を除去することができた。稜柱層側の真珠層面は、水酸化カリウムに侵されて不透明になっているのでこれをサンドペーパーで研磨すると真珠層特有の輝きが現れた。研磨によって黄色色素を含む真珠層が薄くなって、黄色色調が弱まることが懸念されたが、同一の貝殻の1/2を水酸化カリウムで処理してから研磨し、残り1/2は注意深く稜柱層だけを研磨して比較したところ差は認められなかった。なお、研磨しなくても黄色色調の濃淡差を見分けることは可能であったので、後述する第一世代と第二世代の測定では、研磨せずに測定して一部の標本について行った研磨前後の相関式を用いて補正した。

最後の工程では真珠層の内側に白ペンキを塗って透過光の影響を防いだ。このようにして作成した真珠層標本は、無処理で殻体内面を見た印象とは一変して、黄色色調が強く現れ、明瞭に個々の違いを識別できた（図2）。

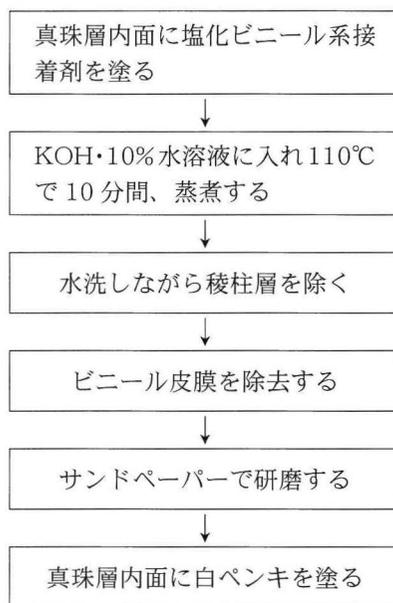


図1 真珠層標本の作製法



図2

次に、黄色色調を数値化するために真珠層標本を色彩色差計で測定した。今回使用した色彩色差計（ミノルタ、CR-100）は、直径1 cmの円型平面を測定するもので殻体のような曲面の場合、計器をあてる角度によって誤差が生ずる上に、真珠層の黄色色調が均一でない個体が多かったことから、真珠層の全面を覆うようにできるだけ多くの箇所（10箇所以上）を測定して平均値で示すことにした。色調は、明度、色相、彩度の3要素によって表現され、目的に応じて様々な表示方法が工夫されている。真珠層に含まれている実体色は黄色だけであり、前述の方法で真珠層標本を得ると、黄色以外の色調はわずかな干渉色だけとなった。そこで、真珠層色の表示方法として、黄色度（YI）を採用すれば1つの数値で表現できて理解しやすいと考えられた。実際に真珠層の黄色度は肉眼観察とよく合致した。以上の結果から真珠層標本による識別方法を、現在のアコヤガイ種苗生産方法の中に取り入れて次のように親貝を選抜することにした。

2) 親貝の選抜方法

① 一次選抜方法

アコヤガイの種苗生産では生殖巣が発達した個体を選び、これを加温飼育して成熟させてから採卵する。加温飼育は室内で行うため、通常飼育できる貝数が限られる。そこで一次選抜として稜柱層の一部を削る方法を採用して親貝数の絞り込みを行い、続いて生殖巣による選別を行った。稜柱層の削除は貝掃除用のハンディークリーナーで行い、図3に示す2箇所の真珠層の色調によって選抜を行った。

② 二次選抜方法

第一世代の生産結果から一次選抜だけでは不十分と考えられたので、第二世代の生産時には、稜柱層研磨による一次選抜に加えて交配前に二次選抜を行った。

現在のアコヤガイ種苗生産は切開法による人工授精が主流である。この場合、切り出した生殖巣は相当な時間放置しても支障がないので、生殖巣を切り取って直ちに図1の第3工程までの稜柱層除去標本を作り、これを白紙の上に置いて黄色色調を観察して親貝を選抜した。

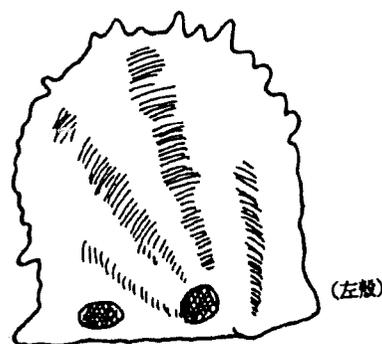


図3 研磨部位

2. 天然採苗貝（基礎集団）の真珠層色

目 的

殻体真珠層色の改良を始めるにあたって、基礎集団として入手した愛媛県産天然採苗貝の真珠層色の個体変異を調べた。

方 法

1992年9月に愛媛県内海村家串産の天然採苗貝（満2才貝、13匁）を6,600個体入手した。この中から150個体を無作為に抽出して前述の方法で真珠層標本を作成し、黄色色調の分布状態の観察と黄色度の測定を行った。

結果および考察

1) 殻体真珠層の黄色色調の分布状態

調査した 150 個体のうち、真珠層色がほぼ均一といえる個体は 31% (47 個体) であった。均一でない個体は、殻体の中央部に黄色色素の少ない帯状の線を形成するものと中央部から背部にかけての広い範囲 (ただし殻頂部を除く) に黄色色素の少ない区域が形成されるものとに大別されたが、両タイプとも黄色域と白色域の境界は、成長線に沿って現れており、黄色色素の分泌量は時期によって変化すると推察された。なお黄色度の強い個体では全て均一に分布しているように見え、均一でない個体も左右の黄色色調の分布状況は相似していた。

2) 黄色度の個体変異

アコヤガイの殻体真珠層の黄色度は左殻が右殻より高い個体が多かった。これが色素濃度の違いによるものなのか、真珠層の厚さの違い (一般に左殻は右殻より大きい) が影響しているのかは分からないが、左右の黄色度の相関は高く、測定した 150 個体の左右の相関係数は 0.91 (図 4) であった。左右の黄色度の平均を個体の黄色度として、基礎集団 150 個体の頻度分布を図 5 に示した。平均値は 28.8、範囲は 10.8 ~ 44.9 で、ほぼ正規分布をしていると考えられた。

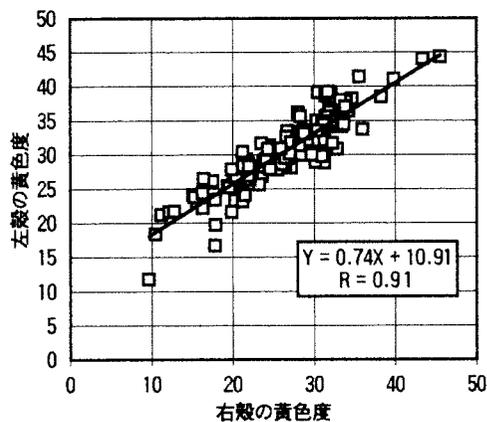


図 4 左殻と右殻の黄色度の相関

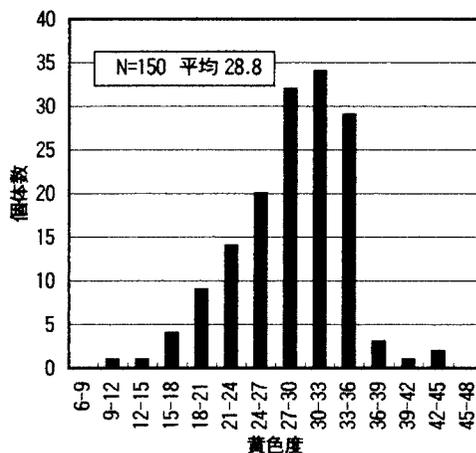


図 5 基礎集団の黄色度

3. 親貝の選抜と第一世代(F1)の生産

目 的

基礎集団から殻体真珠層色が白色系の貝と黄色系の貝を選抜して第一世代を生産した。

方 法

基礎集団として入手した愛媛県産天然採苗貝、6,400 個体の中から前述の一次選抜方法によって真珠層白色系 520 個体、真珠層黄色系 440 個体を選び、1992 年 10 月から尾鷲市賀田湾で育成した。1993 年 1 月から 3 月に、この中から生殖巣が膨らんだものを室内水槽に移し、雄は

18℃、雌は 24℃ で 2～4 週間飼育して成熟を促進させてから人工受精した。なお、第一世代の生産では親貝の二次選抜は行わなかった。交配は白色系及び黄色系は同じ系同士で、雌雄 1 個体ずつの交配を行った。ふ化幼生は、組み合わせ毎に 30 リットル水槽（水量 25 リットル）で *Pavlova lutheri* を餌として飼育した。ふ化幼生の飼育密度は飼育開始時に 4 個体/m²として、成長にあわせて適宜間引きをして、付着稚貝を生産した。

結 果

1) 種苗生産と稚貝の育成

白色系・33 組、黄色系・11 組の稚貝を生産した。各組の生産数は、殻長 5 mm の沖出し時点で約 1,000～50,000 個体であった。

稚貝は、通常の管理を行って賀田湾と一部を英虞湾で育成し、賀田湾分は 10 月 21 日時点までに各組とも約 400 個体を残した。

2) 第一世代の親貝の真珠層色

稚貝の生産を終えてから親貝の黄色度を調べた。白色系、黄色系とも基礎集団の上位 10% 以内を目途に一次選抜をしたが、予測から大きくはずれた色調の親貝が白色系で 1 組、黄色系で 2 組あったので、それらは廃棄して、それぞれ 32 組、9 組を残した。稚貝を残した親貝の黄色度は図 6 に示すように、白色系は 9.9～30.4、平均 22.3 であり、黄色系は 32.4～44.0、平均 37.1 であった。

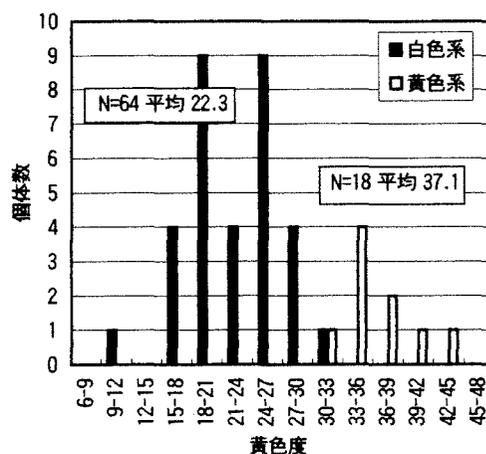


図 6 第一世代の親貝の黄色度

4. 第一世代の真珠層色

目 的

賀田湾と英虞湾で育成した第一世代の真珠層色を測定した。

方 法

1993 年に生産した白色系 32 組と黄色系 9 組の第一世代は、賀田湾と一部を英虞湾で育成した。賀田湾分の 41 組の真珠層色を 1994 年 6 月に測定し、英虞湾分の 12 組は 1994 年 7 月に測定して比較した。真珠層色の測定は、各組とも 20 個体について行い、左右の真珠層の平均値を個体の真珠層色とし、20 個体の平均値を各組の真珠層色とした。基礎集団と親貝の真珠層色の測定では、水酸化カリウムで稜柱層を除去後、真珠光沢が出るまで表面を研磨した標本を対象にしたが、第一世代については検体数が多かったので研磨しない状態で測定し、研磨前後の関係式を使って補正した。

結果および考察

水酸化カリウムで稜柱層を除去した標本は、水酸化カリウム処理によって稜柱層に接した真珠層が不透明になっていた。しかし、不透明層に認められる黄色色調は、その下の変性していない真珠層の黄色色調とよく対応していた。稜柱層が真珠層内に食い込んだ部分では赤紫の色素が残り、また空気が入り込んで白色になることもあった。そのような黄色以外の色調が目立つ場合にはその部分をグラインダーで削り取ってから測定した。58 個体の標本について行った研磨前と後の黄色度の関係は図 7 に示すように高い相関があったので研磨せずに測定した値をこの関係式を用いて補正した。

第一世代の黄色度は図 8 に示すように、白色系は 9.0 ~ 38.1 で平均は 23.9、黄色系は 21.2 ~ 47.1 で平均は 35.3 であった。白色系 32 組と黄色系 9 組、合計 41 組の親貝(雌雄の平均)と第一世代との相関係数(図 9)は 0.81 であった。

次に、育成場所による黄色度の違いを表 1 に示した。賀田湾で育成した第一世代の黄色度は英虞湾より高く、環境の影響が認められた。しかし、黄色度の序列は賀田湾と英虞湾で違いがなく、真珠層の黄色度は遺伝によって強く支配されていると考えられた。この結果は漁場によって黄色系真珠の生産割合が違うというこれまでに行われた多くの養殖実験と合致している。三重県では南部海域で黄色真珠が多く、北部海域で少ないことが知られており、賀田湾は南部海域にあたり、英虞湾は中間海域である。

5. 殻体真珠層色の異なるピース貝から生産した真珠の色調

目 的

第二世代の親貝を選抜する基準を求めるため、黄色度の異なるピース貝を使用して真珠の生産を行い、黄色真珠の生産割合を調べた。

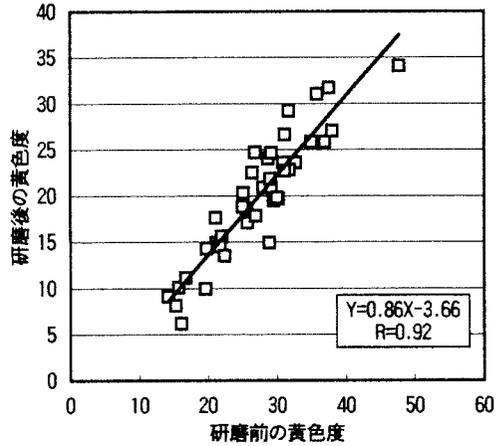


図 7 研磨前後の黄色度の相関

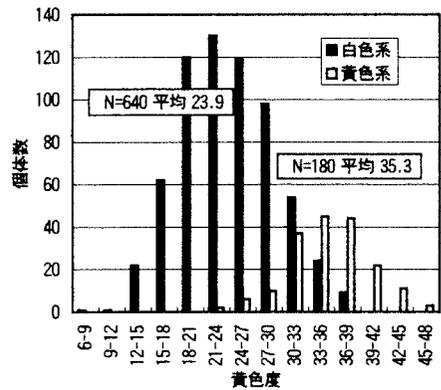


図 8 第一世代の黄色度

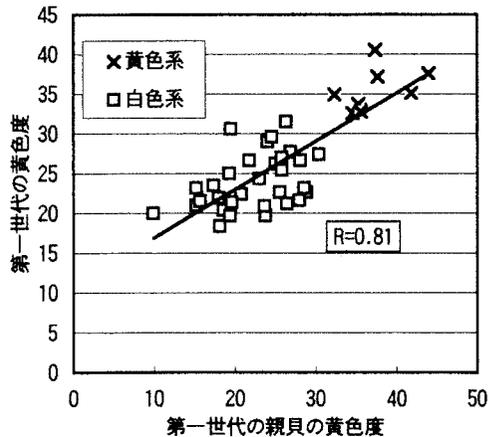


図 9 親子の黄色度の相関

表1 育成場所による黄色度の違い

No	Y-11	Y-03	Y-12	Y-13	W-45	W-20	W-38	W-37	W-02	W-18	W-35	W-06
賀田湾(A)	40.6	37.2	35.1	32.8	30.6	29.0	26.6	25.4	22.7	22.0	20.0	18.4
英虞湾(B)	33.6	28.1	26.1	29.3	23.2	22.9	23.2	21.8	22.8	18.0	17.0	14.0
(A - B)	7.0	9.1	9.0	3.5	7.4	6.1	3.4	3.6	-0.1	4.0	3.0	4.4

方 法

一次選抜をした親貝候補の中から選んだ白色系9個体、黄色系5個体と*稜柱層白色貝3個体をピース貝に使用して、直径5.5～5.8mmの核の1個入れを行った。手術貝には、基礎集団（真珠層白色系貝と真珠層黄色系貝を除いた残りの貝）を用いた。挿核は1993年7月に行い、尾鷲市賀田湾で5ヶ月間育成して12月に真珠120個を採集した。ピース貝の真珠層色は前報の方法で測定した。真珠については、直径が6mm以下の薄巻き真珠を除き、さらに有機質や稜柱層などが介在するいわゆる「シミ」が、直径4mmの測定面に含まれないもの75個を選んで分光式色彩計（日本分光、Ubest-55、積分球、TIS-417）で測定し、同時に視感覚による黄色度合いの区分けを表2の基準で行った。

表2 視感覚による黄色度合いの区分

ランク1	核が透けて見える感じで「テリ」が少なく白色印象があるもの
ランク2	乳白色印象があるもの
ランク3	乳白色に緑ないし赤味が加わって僅かに黄色印象があるもの
ランク4	黄色色調が認められるもの
ランク5	黄色色調が強いもの

結果および考察

殻体の真珠層標本では黄色以外の色調がほとんど見られないので視感覚と測定値が良く合致することは既に述べた。しかし、真珠の場合、干渉色や真珠層内の介在物に影響されて視感覚では黄色度合いを見分けにくいものがあった。一方、色彩計による測定では傷、シミのない面を選ぶ必要があるので測定面が限定され、黄色度と真珠全体から受ける色印象とにくい違いが生ずるものも見られた。この様子を図10に示した。横軸に視感覚での黄色度合いの区分を、縦軸に色彩計で測定した黄色度をとった。視感覚で分けたランク1とランク2の真珠の黄色度は重複していて、ランク2に認められた乳白色印象はやや黄色味を帯びて感じられたが、黄色度には関係していなかった。ランク3の真珠は僅かな介在物質によって銀色や緑、赤などで修飾されたもので、黄色度は比較的広範囲に分布した。ランク4とランク5は明らかに黄色色調が認められたもので

* 稜柱層白色貝は稜柱層に色素が含まれていないだけでなく、真珠層にも黄色色素がなく、これをピース貝として使うと白色系真珠が生産されることが知られている。

あり、ランク 4 の中で黄色度が 0 に近い真珠は測定面が限定されていたものと思われた。視感覚による区分のランク 4、5 の真珠は全て黄色度がプラスの領域にあり、黄色色調が認められないランク 1、2 はマイナス領域にあって、両者は黄色度が 0 の線で区分けできた。

ランク 3 の真珠や測定面が限定された真珠では視感覚と黄色度に違いがあったが、全体としては両者の傾向は合致していたことから、真珠の色調についてもピース貝と同様に黄色度を採用して両者の黄色度を比較した。同一のピース貝から得た真珠数は 2～8 個あり、図 11 にはこれが縦方向に示されている。同じピース貝から生産された真珠でも黄色度は広い範囲に分散していて、ピースごとに黄色色素の分泌量が異なると考えられたが、ピース貝の真珠層の黄色度と真珠の黄色度には対応関係が認められた。黄色度がプラス領域にある真珠を黄色真珠と見なすと、黄色度が 23 以下のピース貝からは黄色真珠が生産されておらず、この付近を親貝の選抜基準とするのが適当と考えられた。

6. 親貝の選抜と第二世代 (F₂) の生産

目 的

1993 年に生産した第一世代から親貝を選抜して第二世代を生産した。

方 法

1993 年に生産した白色系 32 組と黄色系 9 組、合計 41 組から第二世代の生産を試みた。第一世代は、1994 年 10 月までに各組 21～151 個体を残しており、12 月にはこの中から一次選抜を行って各組 3～34 個体を親貝候補とし、これを 1995 年 2 月からおよそ 1 ヶ月間加温飼育して成熟を促進させた。交配時には前述の二次選抜を行った。交配は異なる組の雌雄一対で行い、稚貝を生産した後に真珠層標本を完成させて黄色度を測定した。幼生の飼育方法は第一世代と同様であった。

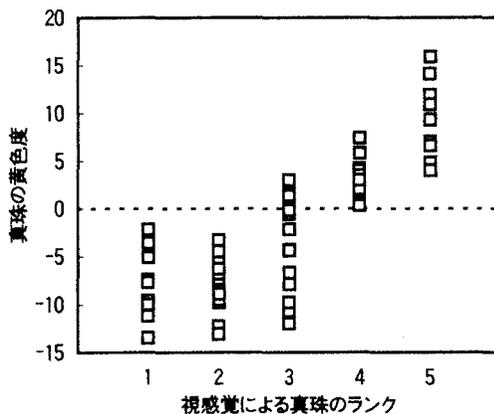


図 10 真珠の視感覚評価と黄色度の関係

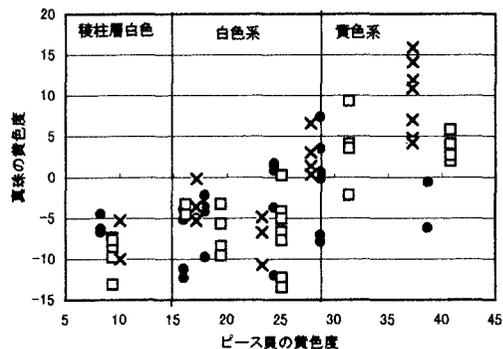


図 11 ピース貝の黄色度と真珠の黄色度の関係

結果および考察

1) 種苗生産と稚貝の育成

第二世代の生産にあたっては近親交配を避けるため異なる組間で交配したが、親貝の雌の生殖巣の発育不良によって生産できなかった組み合わせがあって白色系 19 組、黄色系 5 組の生産となった。生産された稚貝は殻長がおおよそ 2 ~ 5 mm の大きさで沖出しし、通常の管理を行って 11 月 28 日までに各組約 300 個体を残した。

2) 第二世代の親貝の真珠層色

賀田湾で育成した白色系 19 組、黄色系 5 組の親貝の真珠層の黄色度を図 12 に示した。白色系 19 組の黄色度は 11.6 ~ 20.6、平均が 14.9 で黄色系 5 組は 27.5 ~ 36.1、平均が 32.9 であった。第二世代の生産では受精前に親貝の二次選抜を行ったため、第一世代に比較して精度良く白色系貝を選ぶことができた。ただし、黄色系は残した親貝の数も少なく、黄色方向への選抜を意識して行わなかったため第一世代と同程度の黄色度となった。

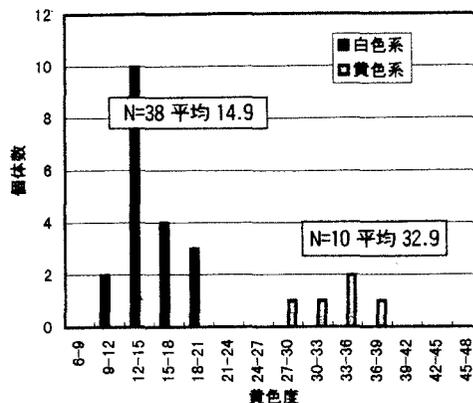


図12 第二世代の親貝の黄色度

7. 第二世代 (F2) の真珠層色

目 的

第二世代の真珠層色を測定し、改良効果を検定した。

方 法

1995年に生産し、賀田湾で育成した第二世代、白色系 19 組と黄色系 5 組の真珠層色を 1996年 7 月に測定した。測定貝数は第一世代と同様各組 20 個体とし、研磨しない状態で測定して研磨前後の関係式を用いて補正した。

結果および考察

第二世代の黄色度は図 13 に示すように白色系は 5.6 ~ 28.9 で平均は 15.3、黄色系は 18.2 ~ 33.7 で平均は 27.6 であり、親子の相関係数 (図 14) は 0.92 であった。

白色系では親貝の黄色度が 14.9、子は 15.3 で両者の差は 0.4 ポイントであったのに対して黄色系は親が 32.9 で子は 27.6 でその差は 5.3 ポイントと大きかった。黄色系第二世代の真珠層標本を観察すると多くの標本に共通して成長線に沿って 3 本の帯状の白色部が形成されており、これが黄色度を低下させていた。白色部の形成は、何らかの環境要因によって黄色色素の分泌が抑制されたためであろうと考えられた。

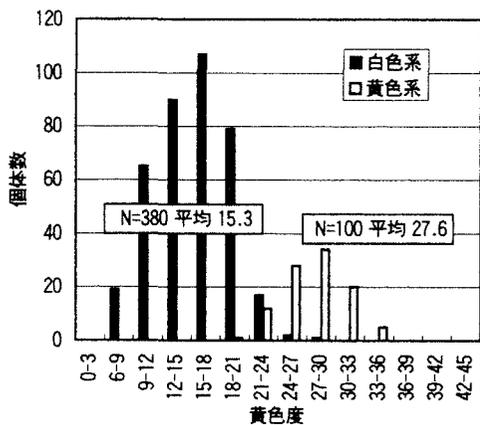


図13 第二世代の黄色度

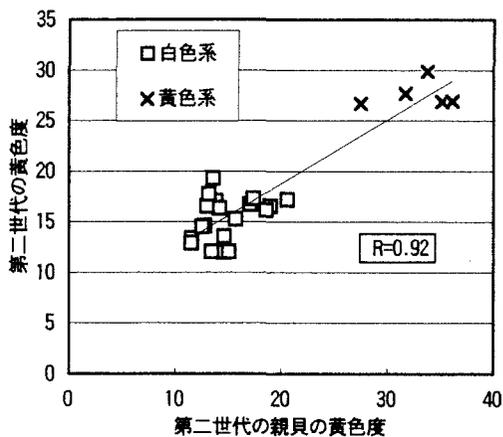


図14 親子の黄色度の相関

8. 第二世代による真珠生産試験

目 的

第二世代を用いて真珠を生産し、改良効果を確認した。

方 法

第二世代の白色系8組と黄色系2組および稜柱層白色貝をピース貝に使用して、各組とも70個体(13刃の満2才貝)に施術した。使用したピース貝は各組3～5個体、稜柱層白色貝は2個体で直径が約6.7mmの核の1個入れとした。

挿核は1996年4月4日～10日の間に行い、4月23日に英虞湾塩屋浦に沖出した。しかし、ヘテロカプサ赤潮の発生によって9月21日に全数が死滅してしまい、殻体内に残っていた真珠しか取り上げることができなかった。養殖期間が短く薄巻き状態であったが、これらの真珠を稜柱層白色貝から生産した真珠と見比べて黄色印象の強いものを黄色真珠に区分して出現割合を調べた。ピース貝の真珠層色は前述の方法で測定した。

結果および考察

ピース貝の黄色度および黄色真珠の生産割合を表3に示した。採取できた真珠数は少なかったが、白色系と黄色系とでは黄色真珠の生産割合は明らかに異なり、白色系では1.5% (1/68)、黄色系では52.6% (10/19)であった。白色系から黄色真珠が生産されたのはW04組の1個だけであり、これは使用した4個体のピース貝の中の黄色度の高い1個体(W04-2)から生産されたものと推察された。今回の結果を見ると、黄色真珠はピース貝の黄色度が30以上のものから出現しており、前述の真珠生産試験の結果に比べて白色真珠と黄色真珠の生産分岐点が7ポイント程高い値となった。

表3 ピース貝の黄色度と黄色真珠の出現率

	ピース貝 No	4月測定			7月測定	黄色真珠の	
		左殻	右殻	平均	20個体の平均	出現率	%
白色系	W04-1	22.9	18.7				
	W04-2	37.9	32.7	24.0	17.3	9.1	
	W04-3	22.1	21.0			(1/11)	
	W04-4	22.7	14.0				
	W06-1	24.1	16.9				
	W06-2	17.0	12.7	20.3	17.2	0.0	
	W06-3	27.2	19.6			(0/7)	
	W06-4	26.9	17.9				
	W07-1	16.8	14.8				
	W07-2	20.0	21.1				
	W07-3	26.2	26.7	21.0	13.5	0.0	
	W07-4	29.5	17.5			(0/1)	
	W07-5	21.4	16.4				
	W12-1	32.4	23.9				
	W12-2	26.2	19.8	27.6	17.0	0.0	
	W12-3	35.4	27.8			(0/5)	
	W12-4	32.3	22.9				
	W13-1	17.6	13.6				
	W13-2	24.9	21.1	18.9	—	0.0	
	W13-3	19.7	16.3			(0/5)	
W17-1	31.0	25.9					
W17-2	32.9	17.5	26.3	16.5	0.0		
W17-3	32.3	22.5			(0/17)		
W17-4	27.7	20.3					
W20-1	29.2	19.0					
W20-2	21.5	15.9	22.3	—	0.0		
W20-3	28.9	19.2			(0/6)		
W21-1	20.4	18.1					
W21-2	23.5	18.9	20.7	13.3	0.0	1.5	
W21-3	25.9	17.4			(0/16)	(1/68)	
黄色系	Y06-1	41.7	34.5				
	Y06-2	32.8	23.0	31.9	26.7	33.3	
	Y06-3	30.5	20.9			(4/12)	
	Y06-4	39.2	33.1				
	Y09-1	42.7	37.1				
	Y09-2	40.2	36.7	38.5	26.9	85.7	
	Y09-3	44.1	38.6			(6/7)	52.6
	Y09-4	35.4	33.1				(10/19)
ALB-1	13.1	10.1	12.4		0.0		
ALB-2	13.3	12.8			(0/15)		

ALB: 稜柱層白色貝

ピース貝の黄色度はピースとして使用された4月までの環境条件下での遺伝的形質が表現されていると考えられ、その後の黄色色素の分泌量を正確に予測することはできない。第二世代の真珠層色で述べたように1996年は黄色色素の分泌を抑制するような環境条件であったと考えられ、ピース貝の黄色度は4月に比べて7月の測定ではおよそ8ポイント低くなっていた。この点を考慮すれば白色真珠と黄色真珠の生産分岐点は前回の試験とよく似ていたと言えよう。

9. 基礎集団から第二世代までの殻体真珠層色の改良経過のまとめ

1992年から1996年までの5年間の真珠層色の改良経過を図15に示した。次式によって白色系第二世代の実現遺伝率を求めると0.97となった。

$$\frac{\text{黄色度 } 15.3 \quad 28.8}{\text{／(親貝-基礎集団) } = 0.97} \\ \frac{14.9 \quad 28.8}{\text{}}$$

真珠層色は第一世代および第二世代で見たように親子の相関が高いので、改良速度は親貝の選抜強度によって決定されると言える。ただし、真珠層の黄色度は漁場によって違いがあり、第二世代の黄色系の黄色度の推移からは年による変動もかなり大きいことが推察された。

殻体真珠層色が環境に影響されるのと同様、真珠の色調も環境によって変化すると考えられるのでピース貝の黄色度から黄色真珠の生産割合を正確に予測することはできないが、白色系の第二世代を使つての真珠生産試験結果は99% (67/68) が白色真珠となっており、第二世代は実用的にはピース貝として使用して支障のないレベルに達したと考えられた。

真珠に求められる色調は単純な白色ではないので、全く黄色色素を分泌しないレベルが最良であるとは言えず、干渉によって修飾された総合的な色感には、わずかな黄色色素がかえって効果をあげることも考えられる。真珠の品質を決定する要素には色の他に巻き、光沢などがあり、こ

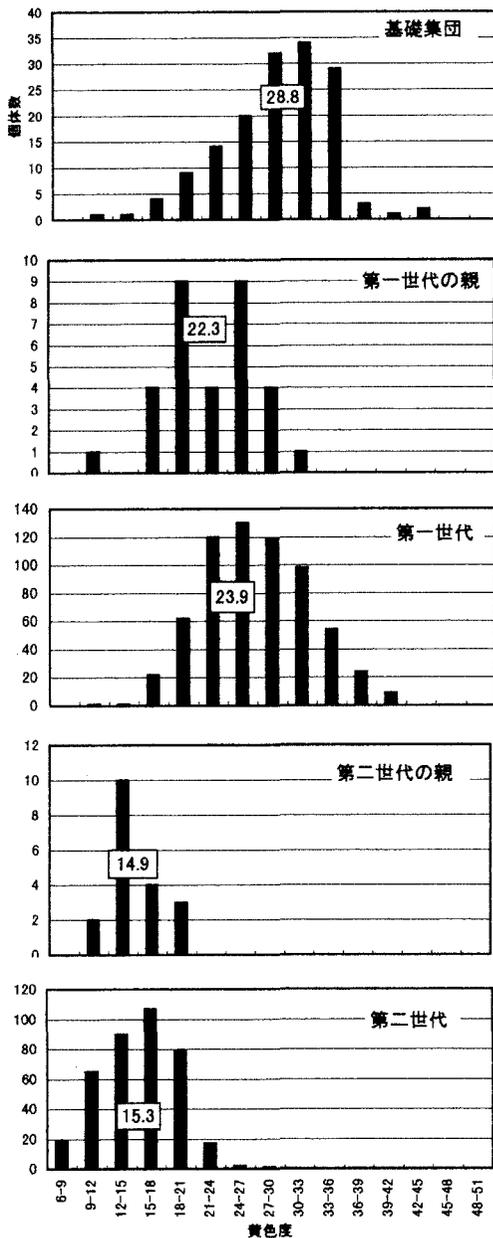


図15 殻体真珠層色 (Y) の改良経過

これらの形質がピースと関わっている可能性もあるので今後は真珠層改良貝を基にして総合的に改良を行う必要がある。

要 約

1. 白色真珠を高率に生産するピース貝の作出を目的として個体選抜による殻体真珠層色の改良を行った。
2. 殻体真珠層色の識別方法を検討し、水酸化カリウム処理による真珠層標本の作成方法を開発し、真珠層色の表示方法、親貝の選抜方法を示した。
3. 愛媛県産天然採苗貝（基礎集団）の中から殻体真珠層が白色系と黄色系の貝を選抜して1993年に第一世代を、1995年に第二世代を生産した。
4. 第一世代および第二世代の親子の殻体真珠層色の相関係数はそれぞれ0.81と0.92であった。
5. 1993年と1995年の2回の選抜によって殻体真珠層色の黄色度は28.8から15.3まで改良され、第二世代の白色系貝を使用した真珠生産試験での白色真珠の生産率は99%であった。
6. 殻体真珠層色の改良と関連して行った試験からは、殻体真珠層色は遺伝に強く支配されているが、環境にも影響されることが明らかになった。

引 用 文 献

- 1) 沢田保夫（1962）国立真珠研究所報告 8：913-919
- 2) 和田浩爾（1969）国立真珠研究所報告 14：1765-1820
- 3) 和田克彦（1984）養殖研究所報告 6：79-157
- 4) 渡部哲光（1950）真珠の研究 1(3)
- 5) 和田克彦（1986）養殖研究所報告 9：1-6

宇和海におけるアコヤガイ大量へい死に関する疫学調査

和田 浩爾*¹・山下 吉宏*²・植村 作治郎*²・蝶野 一徳*²

はじめに

1995年に一部の海域で騒がれ、1996年に各地に飛び火した貝柱褐色化に伴うアコヤガイの大量へい死は、1997年には全国に拡大し、1997年度の稚母貝生産額および真珠浜揚げ量と金額共に大打撃を与えた。1999年も7月中旬の時点で発症状況は同じ兆を示し始めており、水温上昇しだいで8月中旬以降に深刻な事態になりかねない状況にある。

本疫学調査の予備調査を開始した1996年10月頃は高水温、餌不足、有害プランクトンなどの不適環境、アコヤガイの生理代謝異常、近交弱勢、養殖魚の寄生虫駆除に使用されるホルムアルデヒドなど諸説が唱えられていた¹⁾。現在、貝柱褐色化に伴うアコヤガイの大量へい死の直接原因は、ウイルスによる感染症であることが疫学調査¹⁻⁴⁾および病理研究⁵⁻⁷⁾からほぼ確実となってきた。しかし、感染症に対する基本対策には全く手つかずの状態であり、生産現場は手詰まり状態である。

本疫学調査は1996年10月以降の準備期間を経て、1997年4月から開始し、1999年9月に終了して、新しい試験調査に発展させる予定であり、一応の調査結果が得られたので、ここに報告する。

調査目的

貝柱褐色化に伴うアコヤガイの大量へい死原因を疫学調査から明らかにし、適切な対策を立て、問題の解決にあたることを目的とする。特に病原体の特徴を明らかにし、生物産業にとって適切な問題解決の戦略をたてなおし、戦術を講じることにある。

疫学調査内容は貝柱の着色（発症）に着目し、他の解剖所見や活力指標を参考にしながら、感染、発症、病状悪化、へい死、退色などの季節推移を調べ、アコヤウイルス（仮称）⁸⁾との因果関係を明らかにするように心掛けた。

本報告に先だちアコヤウイルス分離培養および病理組織観察に協力をいただいた三重大学生物資源学部宮崎照雄教授に厚くお礼申します。また、本調査を行った試験員の管理に協力をいただいた漁場A、B、D、E、Gの組合員5氏に深謝します。なお、この調査に要した三重大学の奨学寄付金は(社)日本真珠振興会生産対策費より援助をいただいた。

結果および考察

1. 貝柱着色（発症）およびへい死の動向

1.1 発症とへい死の季節推移

貝柱の着色度を3.赤褐色、2.褐色、1.淡黄色、0.無着色の4ランクに分類し、A、B、D、E

*1 愛媛県漁業協同組合連合会参与 兼 全国真珠養殖漁業協同組合連合会指導顧問

*2 愛媛県漁業協同組合連合会宇和島支部

の4漁場におけるそれぞれの出現率の季節推移を調べ付表1に示した。本報告では着色度3と2を合わせて着色貝とし、着色度1を予備軍、初感染発症前の貝柱色を着色度0すなわち健常貝と呼称して結果をまとめ、病理組織学的所見、アコヤウイルス分離培養結果、へい死率、水温(2m)などと対比して表1に一覧した。なお、生産者などは淡黄色から黄色の着色や貝柱の芯に残った白濁を伴った着色を健常貝あるいは回復貝とみなしており、報告者は着色の始まりあるいは退色途上にある病貝の着色とみなしているため、生産者などの判定を勘案して予備軍を設けた、本報告だけの呼称である。また、黄色の着色は着色貝とし、貝柱の芯に残った白濁を伴った着色は予備軍として集計した。

調査貝は漁場AとBは天然採苗貝、漁場DとEは人工ふ化場HとJで作った人工採苗貝である。すなわち漁場AとBは地元天然採苗貝aとb、漁場DとEは人工ふ化場HとJで作った人工採苗貝hとjである。ともに1996年の採苗貝で、調査を開始した1997年の秋売り母貝に育てる数え年の2齢貝であり、調査を終了した1998年には数え年の3齢貝となる貝である。

表1および図1からわかるように、調査開始時の1997年4～7月、数え年の2齢貝では無着色は高い割合で認められたが、予備軍を含めると70%以上着色していた調査群もあり、採苗場間でかなり異なっていた。7月以降、各漁場とも着色は進行し、無着色は予備軍へ、予備軍は着色貝へと病状(着色度)は確実に悪化し、採苗場間で認められた着色の差は9月までに消失した。7月、着色度3が15%以上に達した漁場ではへい死が始まり、9～10月を中心に総ての調査漁場で大量へい死が起こった。11月以降、へい死は激減したが、退色はゆっくり進み、1998年3～4月に着色は最低となった。しかし無着色はほとんどなかった。6月に入ると新しい着色の兆が現れ、7月以降病状は急速に悪化し始め、へい死も始まった。数え年で3齢貝となっていた調査貝は、各調査漁場共に2齢貝の時に比べて病状悪化とへい死が1～2ヵ月ほど早く始まった(付表1)。

着色した貝柱の色は、着色し始めた5～6月は淡黄色から黄色の個体が多く、着色度が強くなり始める6～7月は淡褐色から褐色の個体となり、大量へい死が始まる8～10月には30～60%の個体が濃褐色から赤褐色となった。へい死率が激減した11～12月は赤褐色や濃褐色の個体も徐々に減少し、褐色から黄色の個体が増加した。その後1～4月に数え年の3齢になった退色貝には淡黄色や貝柱の芯に白濁を伴った着色を示す個体、いわゆる予備軍が多くなった。すなわち、着色からへい死、へい死から退色という1年周期の中で数え年の1齢貝の貝柱の色は無着色→淡黄色→黄色→淡褐色→褐色→濃褐色・赤褐色→褐色→淡褐色→黄色→淡黄色・白濁を伴った着色へと変化し、着色と退色を繰り返しながら加齢し、体力を消耗したり、抵抗力が減退しているように見えた。ここで大量へい死から12月頃までの着色度3の個体の減少は、退色によって減少するのではなく、むしろ病状の悪化した個体がへい死することによると思われる(付表1)。したがって11月から始まる着色度3の個体が非常にゆっくりと減少している理由は、病状の悪化した着色度3の個体のへい死数と着色度2の個体の病状が進行して着色度3の個体へ参入する数との引き算によって決まっているためと考えられた。

着色、病状悪化、へい死の季節推移と海況との関係を知るために、1997年4月から1999年7月の各調査漁場の2m層のクロロフィル-a量と水温を図2に示した。1997年と1998年、および漁場間に認められた餌量の変動と着色、病状、へい死の間には、もしクロロフィル-aが同一植物プランクトン組成であったと仮定しても、直接的な因果関係は認めにくい。

これとは対称的に、アコヤガイの着色、病状、へい死は水温に強く依存して推移した。すなわ

表1 アコヤガイ母貝の褐色化に伴うへい死の季節変化と病理組織検査等の比較

検査年月	着色度	A a	B b	D h	m	E c	j	備考
1997.4.25	着色貝	10 (%)	45 (%)	0 (%)				・水温(2m)18.4~19.6°C.
	予備軍	45	30	30				
	無着色	45	25	70				
5.22	着色貝	25	25	0		0	0	・水温(2m)19.0~19.7°C、ウイルス検査一、5月23日閉殻筋線維は顕著に空胞変性及び膨化、中には部分的に消失、異常筋線維内及び間質は血球浸潤、外套筋も同様に変性、血球浸潤あり。
	予備軍	25	75	15		0	0	
	無着色	50	0	85		100	100	
6.19	着色貝	35	45		0 *1			・水温(2m)20.8~22.4°C、死亡率0~4%.
	予備軍	35	40	台風	40	台風		
	無着色	30	15		60			
7.29	着色貝	60	60	50	40	50	40	・水温(2m)23.8~25.3°C、死亡率0~5%、7月14日ウイルス検査一、淡黄色閉殻筋貝は筋線維に弱い萎縮、変性、血球浸潤あり、淡褐色閉殻筋貝は筋線維全体が萎縮、空胞変性、血球浸潤あり。
	予備軍	35	40	30	40	40	50	
	無着色	5	0	20	20	10	10	
8.21	着色貝	75	95	80		50	40	・水温(2m)25.5~27.6°C、死亡率2~20%、8月7日ウイルス検査一、8月28日ウイルス検査十、淡黄色閉殻筋貝は閉殻筋、外套筋、足筋などに部分的に筋線維の萎縮や壊死、血球浸潤あり、褐色閉殻筋貝は筋線維に多数の細胞浸潤を伴う壊死、萎縮、膨化が顕著、消化盲嚢に糖原、蛋白貯蔵なし、心筋線維も萎縮から炎症性細胞浸潤を伴う部分的崩壊あり。
	予備軍	25	5	10		40	60	
	無着色	0	0	10		10	0	
9.25	着色貝	95	90	90		95 *3	90	・水温(2m)23.5~24.8°C、死亡率30~50%、9月4日ウイルス検査十、病理組織学的所見は8月と同様、病変が顕著な個体では糖原及び蛋白を消化盲嚢細胞でほとんど消失。
	予備軍	5	10	5		5	10	
	無着色	0	0	5		0	0	
10.23	着色貝	80	80	100	65	100	80	・水温(2m)22.0~23.0°C、死亡率20~40%、10月6日ウイルス検査十、10月29日検査十、病理組織学的所見及び糖原、蛋白の貯蔵状態は前月と同様。
	予備軍	20	20	0	30	0	20	
	無着色	0	0	0	5	0	0	
11.20	着色貝	95	90	100			95	・水温(2m)19.0~18.0°C、死亡率2~5%.
	予備軍	5	10	0			5	
	無着色	0	0	0			0	
12.8	着色貝	80	85	95			90	・水温(2m)21.5~22.0°C、死亡率0.5~1.4%。病理組織学的所見は閉殻筋、外套膜及び収足筋に、筋線維の壊死及び萎縮像があり、筋組織の病変の顕著な個体では糖原及び蛋白を貯蔵した消化盲嚢細胞は減少ないし殆ど消失、ウイルス検査行わなかった。
	予備軍	15	10	5			10	
	無着色	5	5	0			0	
1998.1.22	着色貝	90	85	80			90	・水温(2m)17.0~18.0°C、死亡率3%、1月8日ウイルス検査十、閉殻筋の着色はかなり増えているが、閉殻筋、外套筋及び足筋に筋線維の壊死及び萎縮像があり、病変の顕著な個体では糖原及び蛋白を貯蔵した消化盲嚢細胞はほとんど消失している。
	予備軍	10	15	20			10	
	無着色	0	0	0			0	
2.19	着色貝	90	80	80			85	・水温(2m)16.0~17.0°C、死亡率1~3%.
	予備軍	10	10	10			15	
	無着色	0	10	10			0	
3.18	着色貝	80	85	80			80	・水温(2m)16.0~17.0°C、死亡率1.7~4%、3月4日ウイルス検査十、多くの個体で閉殻筋、外套筋及び足筋の筋線維に軽度から顕著な壊死及び変性が見られ、中には壊死筋線維の周囲に線維細胞と膠原線維が増殖し、治癒に向かっていたが、筋線維の再生像はない。治癒過程の個体では消化盲嚢の糖原及び蛋白の貯蔵状態も良好となっていた。
	予備軍	20	15	20			20	
	無着色	0	0	0			0	
4.22	着色貝	70	90	70			85	・水温(2m)18.0~19.0°C、死亡率0~5%.
	予備軍	20	10	30			15	
	無着色	10	0	0			0	
5.20	着色貝	90	85	85			75	・水温(2m)22.0~21.0°C、死亡率0~5%、5月6日ウイルス検査一、筋線維の壊死像はなく、線維組織が増殖し、多くの個体で糖原及び蛋白質の貯蔵状態も良好となり、著しい回復を示していた。
	予備軍	10	15	15			20	
	無着色	0	0	0			5	

*1 台風のため棧橋に吊ってあった貝をかわりにむいたため、親貝 m から人工採苗した 2 齢貝で調査を行った。

*2 台風のため欠落。

*3 9 月 25 日以降は親貝 1 から人工採苗した 2 齢貝 1 で調査を行った。

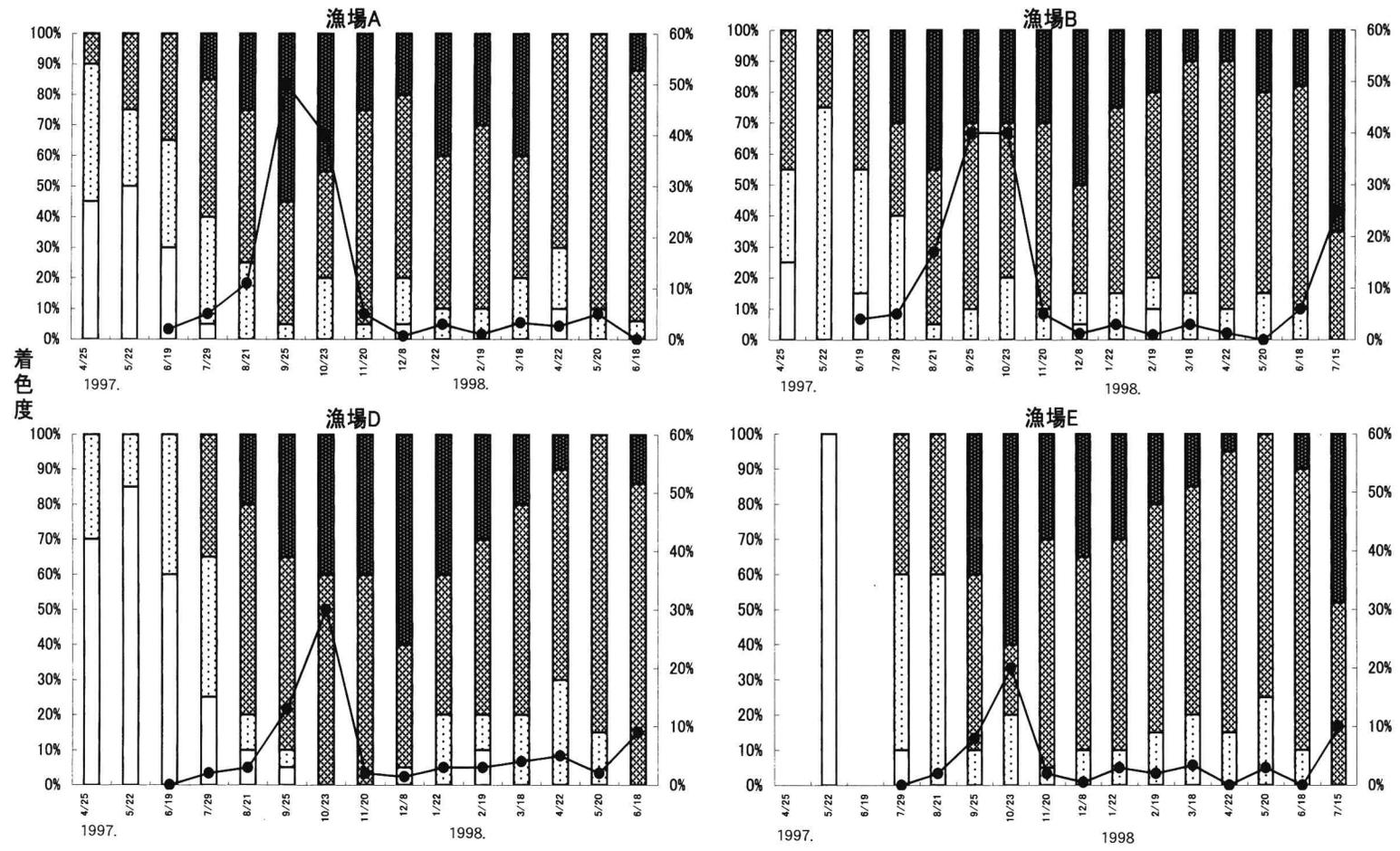


図1 1997～1998年の調査漁場におけるアコヤガイの貝柱着色度とへい死の季節推移

着色度: 0 (white) 1 (dotted) 2 (cross-hatched) 3 (solid black) 死亡率: ●—

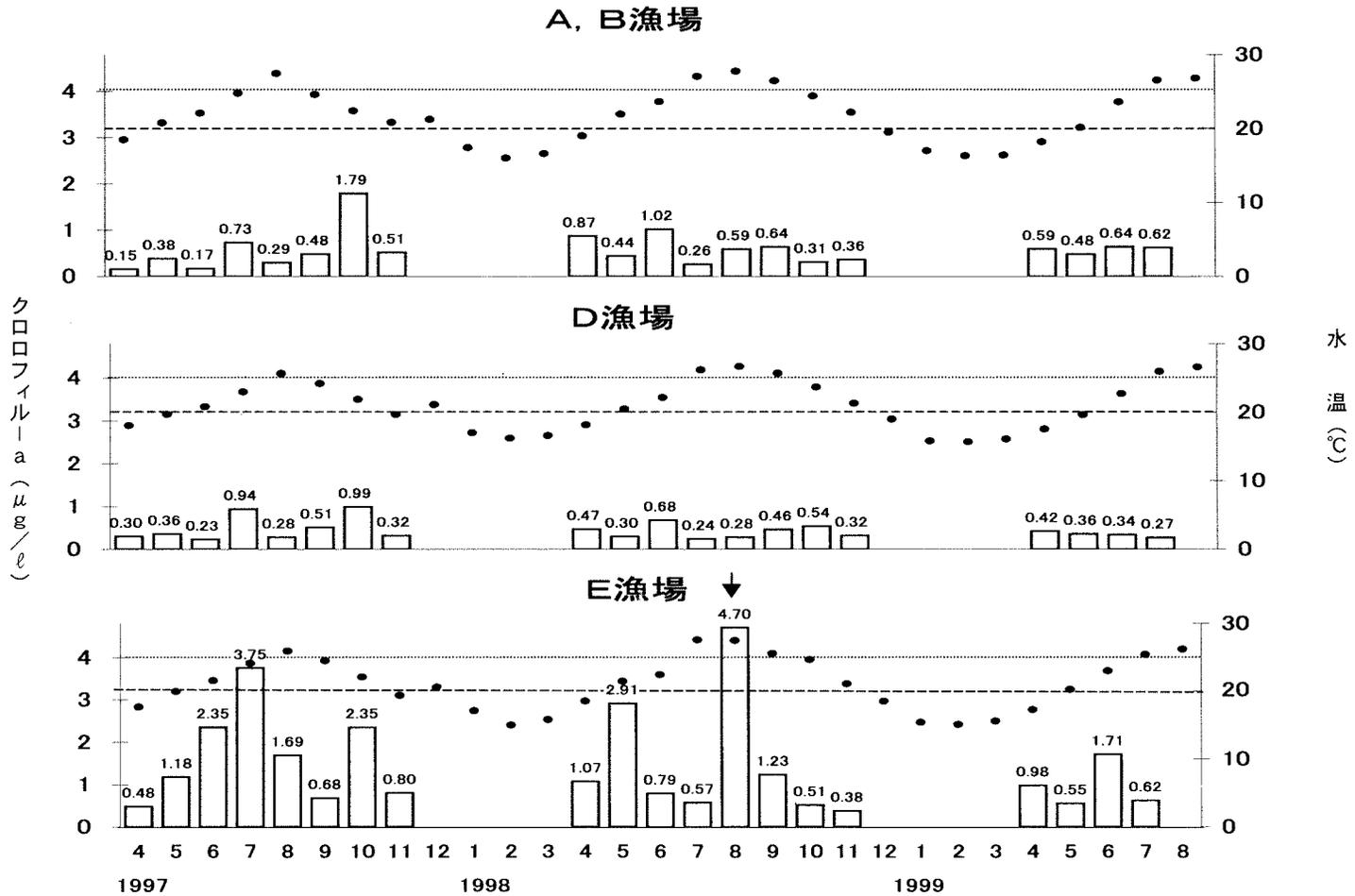


図2 調査漁場の2m層のクロロフィル-a量と水温の変化
破線は水温 20°C と 25°C を示す。矢印は赤潮。

ち水温が20℃以上になって2～3ヵ月を経過する頃になると、着色度3の赤褐色貝が15%以上現れ始め、へい死が始まる。すなわち産卵するに伴い貝肉は急激にやせ、着色度3の個体が増加し、体力を消耗して病状が悪化した個体からへい死し、水温25～28℃の8～10月を中心に大量へい死が起こった。水温が23～20℃以下に降る10月下旬～11月上旬になるとへい死率は激減し、着色度3の個体も徐々に減り、着色度2の個体が増加した。調査漁場の1998年の冬の水温は16～17℃までしか降らなかったためか、退色しても予備軍どまりであった。しかし、1997年2月20日数え年で2～3齢貝の貝柱着色度の予備調査を行った漁場Pの水温は12.3℃、また同日行った漁場Nは15℃であったが、着色度2と1の個体がそれぞれ10～20%、10～15%も認められた。このことから、アコヤガイの生息限界内低水温ではアコヤウイルスは不活性化しないので、健常貝のような貝柱色には戻らないと思われる。

また、1998年の4～11月にかけて、各調査漁場とも水温は1997年に比べ1～2℃高めに推移しており、発症、病状悪化、大量へい死など総てが1997年より1～2ヵ月前倒しに早く起こった。しかも冬の低水温期に17℃の高水温で推移した漁場A、Bは特に顕著な被害を受けており、低水温期に16～17℃以上ある漁場では病巣が完全に治癒することなく、加齢するたびに20℃以上の水温の影響が早く現れると推測された。

1.2 発症とへい死の経年推移

1.1で述べたように、数え年の2齢貝が加齢して3齢貝になった生まれて3回目の春から夏にかけての病状悪化やへい死状況などは共に1～2ヵ月ほど前倒しになっていた。これらは付表1の着色度変化からみて、前年の病状悪化程度や回復程度が翌年の病状悪化やへい死に少なからず影響していることを示唆している。低水温期に退色し、病巣が回復したかのように見える貝の大部分は、貝柱の芯に白濁を伴った着色が残っており、健常貝とは明らかに異なり、保菌貝として生き残る。したがって加齢するたびに、低水温期の回復状態やウイルス活性の抑制状態が翌年の病状の悪化速度に影響してくると考えられる。そこで1998年の秋売り母貝用に育てる数え年2齢貝の着色、病状悪化とへい死の動向を抜き取り調査し、その後1999年8月まで追跡調査した結果を付表2および図3に示し、付表1および図1と比較し、加齢に伴う病状悪化動向と水温との関係を検討した。

1997年の数え年2齢貝と同じように、1998年の2齢貝も7月に着色の兆を現わしたが、病状は7～8月にかけて急速に悪化し、8～10月を中心に総ての調査漁場で大量へい死を起こした。1998年の水温は1997年に比べて各調査漁場ともに1～2℃高く推移し(図2)、病状の悪化や大量へい死は約1ヵ月早く現れたが、4～10月の間、2齢貝として互いに類似した病状(着色度)で推移し、へい死した。一方、1999年の数え年3齢貝は前年12月頃から目だって退色し始め、多くの調査漁場で最も退色が進んだのは1998年の3齢貝に比べて1ヵ月遅れの5月であり、予備軍止まりであった。1998年の3齢貝は漁場によっては5月から着色の兆がすでに現れ、6～7月に病状が急速に悪化し、大量へい死したのに比べ、1999年の3齢貝は漁場によって差はあるが6月に入って着色の兆が現れ、7月に入って病状は急速に悪化し、へい死し始めた。図2でわかるように1999年3～5月の水温は1997年に類似しており、1998年に比べ約1～2℃ほど低めに推移しており、6月になって前年の5月の水温に達し、6月以降前年並でないし1997年と1998年の中間になりつつある。1999年は春の水温が低めに推移したこともあって数え年の3齢貝の発症および病状悪化は1998年の3齢貝より0.5～1ヵ月遅れていた。しかし、3～7月の間、3齢貝として互いに類似した病状で推移し、へい死し始めてきた。

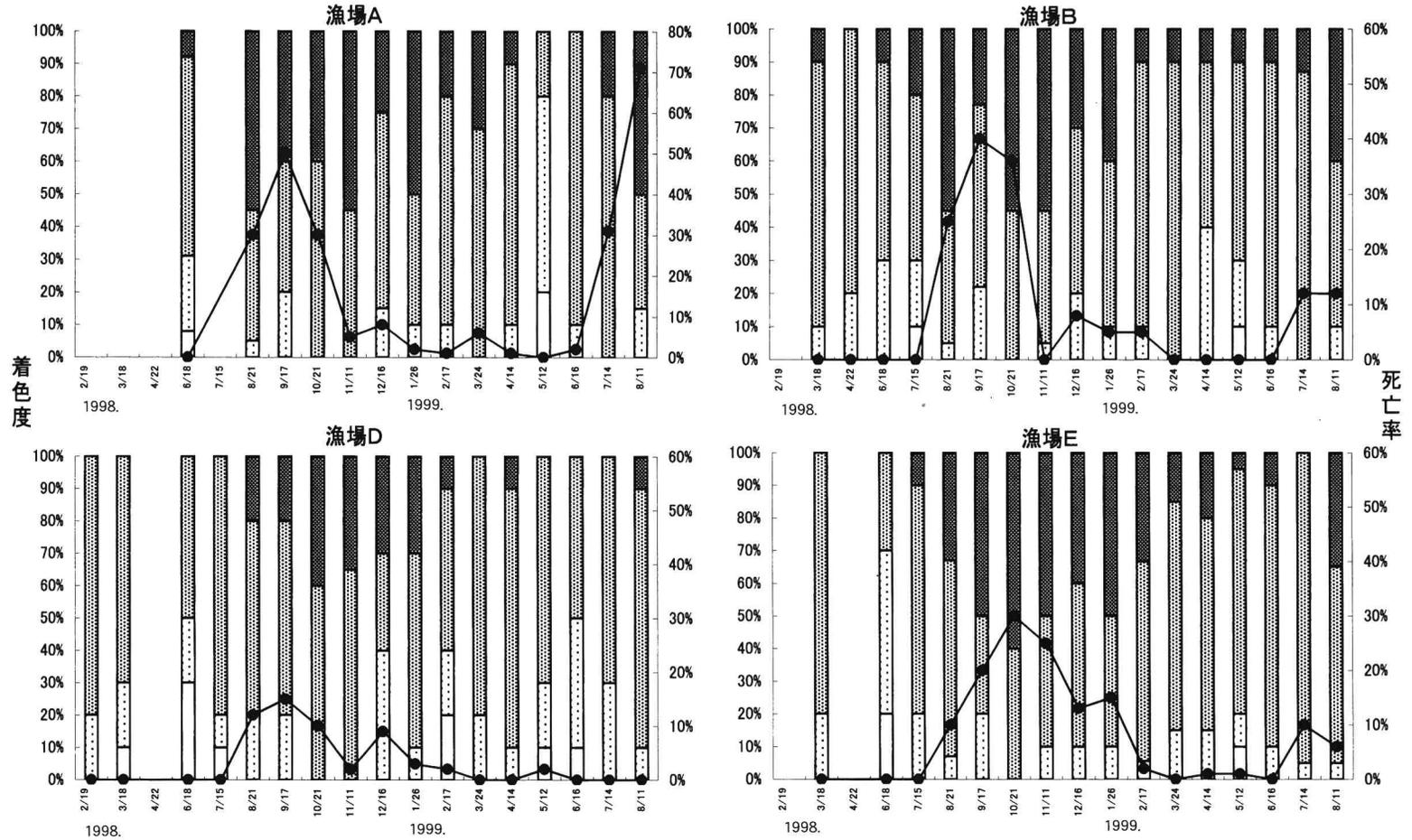


図3 1998～1999年の調査漁場におけるアコヤガイの貝柱着色度とへい死の季節推移

着色度: 0 1 2 3 死亡率:

1～2ヵ月齢の稚貝は水温 20℃ 以上の積算水温が 2,300℃ ほどで発症し、2,800℃ までの間に病状は悪化し、3,000℃ を越す頃には大量へい死が始まるとの報告⁹⁾がある。そこで加齢および水温と再発、病状、へい死の関係を 20℃ 以上の積算水温との関係から比較してみた。その結果、1997 年の低水温年も 1998 年の高水温年も、数え年 2 齢貝は 2,000℃ ～で再発し、病状は急速に悪化して 2,500℃ ～でへい死が始まったのに対し、それぞれの 2 齢貝が 3 齢貝になると 1998 年の高水温年も 1997 年も 1,500℃ ～で再発し、病状は急速に悪化して 2,100℃ ～でへい死が始まった。すなわち、加齢するに伴って病状悪化やへい死に至るまでの 20℃ 以上の積算水温は減少すること、また水温が高ければ高いほど再発から病状悪化やへい死に至る日数が急速に短くなることがわかる。さらに冬期の水温が高い漁場や年は低水温期に回復が少ないため、前倒して再発する傾向を示した。

ここで付表 2 からわかるように、中国系アコヤガイは日本種アコヤガイと同様にアコヤウイルスに感染、発症、へい死する。しかし、後者より 1～2℃ ほど高温に強い傾向を示す。その主な原因は両系統の成熟産卵生態の違いと考えられるが、今後の研究に待ちたい。

2. アコヤウイルスの分離動向

三重大研究グループは、貝柱が褐色化してへい死して行く異常アコヤガイからウイルスを分離培養し、また病巣や培養細胞中にウイルス粒子を電子顕微鏡で観察し、アコヤウイルスと仮称した⁹⁾。それによると、ウイルス粒子は大きさ 25～35nm の球形で、RNAウイルスでエンベロープを持たないことを確認している。

本疫学調査開始以来 1998 年 6 月 9 日までの調査員からのアコヤウイルス分離培養結果を付表 3 に示し、また他の調査項目と対比して表 1 に一覧した。当初は分離培養技術が十分に確立されていなかったこともあって、アコヤウイルスを最初に分離できたのは 1997 年 8 月 28 日であった。1997 年 8 月下旬～10 月上旬の検体からはほぼ 100% 分離され、貝柱の着色強度とほぼ対応していた。しかし、10 月下旬以降 1998 年 6 月上旬までの季節は、アコヤウイルスが分離されても貝柱の着色強度や肉質とは必ずしも対応していなかった。

アコヤウイルスの分離培養結果を発症、病状、へい死および海況と対比すると、アコヤウイルスの増殖(活性化)は温度依存性を強く示し、20℃ 以上の水温に達した 5 月以降、2～3ヵ月間に急速に増殖し、それまでは淡黄色から黄色に着色していた貝柱が褐色となって病状は悪化した。ウイルス粒子は、貝柱が濃褐色から赤褐色に着色する 8 月下旬から 10 月、水温にして 25℃ から 28℃ で 100% の個体から分離されており(付表 3)、大量へい死が起こった。10 月下旬から 11 月中旬、水温が 23℃ を割り込むと増殖は抑制され始め、着色は褐色を経て黄色、淡黄色へと退色すると同時に肉質が回復し始め、へい死率も 5% 以下に激減した。しかし、この時期の退色貝からもウイルスが分離されたことから、ウイルスの増殖は減退していても、ウイルス・フリーになっていないことには変わりないと言える。

3. 筋組織の着色と異常

調査期間中の組織異常経過についての記載は、三重大学宮崎教授からの私信を報告者が要約して記述したものである。

健全貝の貝柱は筋線維束の集合体からなり、筋線維は糖原を豊富に持っている。外套筋は膜縁部から縁膜部にかけて発達し、長い紡錘形の筋線維が結合組織内を縦横に走行する。心筋は密に

配列した太い筋線維からなる。消化盲嚢吸収上皮細胞は食胞形成が顕著で、クロロフィル関連の黄色色素や微細粒子を多く含む。

発症貝では貝柱の筋線維が部分的に壊死、崩壊し、多数の血球細胞が浸潤するほか、萎縮、膨化、空胞変性、部分的な硝子変性などの病変を示す。変性・壊死像を示す筋線維は直線的になり、筋線維内の糖原は減少する。貝柱の病変は発症貝で例外なく観察され、着色が濃い個体が病変の程度が顕著になる傾向を示した。淡黄色の貝柱でも、萎縮が顕著な個体では筋線維の病変が激しかった。筋線維の病変は外套筋や収足筋および鰓の筋組織にも同様に起こる。外套膜間質結合組織および血管中の血球細胞は、筋組織の病巣部に炎症性細胞浸潤が顕著な場合、増生的になるほか、逆にほとんど消失していることもあった。筋線維は萎縮および炎症性細胞浸潤をとまう部分的な壊死・崩壊を示すことが多かった。消化盲嚢吸収上皮細胞は食胞嚢、吸収粒子ともに減少して萎縮していた。

これまでの調査^{1~3)}や研究^{5)・7)}から、病状の悪化に伴って呼吸や摂餌活動が障害を受けて衰弱してくるため、僅かなストレスが加わってもへい死することが指摘されている。

季節的に追跡すると、筋線維におこる病変は、着色度とほぼ対応して顕著となる。4~7月に見られた淡黄色貝の筋線維は弱い変性を部分的におこし、血球細胞の浸潤などがみられる程度である。しかし、産卵に伴って貝肉はやせ、7月以降着色度は急速に進み、濃褐色から赤褐色に着色すると筋線維の病変は激しくなり、壊死、崩壊が起こり、筋線維内の糖原が減少する。また、消化盲嚢の色は淡くなり、糖原や蛋白を貯蔵した消化盲嚢細胞はほとんど消失する。へい死率が3%以下になる12月以降、貝柱の着色も弱くなるが、16~17℃と最低水温になった3月調査群でも貝柱や外套膜の筋線維には軽度の障害から顕著な壊死像および変性像が認められた。一方、壊死筋線維の周囲に線維細胞と膠原線維が増殖し、治癒像の認められた個体も現れてきたが、筋線維の再生は起こっていなかった。このように病巣が治癒過程にある個体は、糖原および蛋白の貯蔵状態も高水温期の病貝に比較して良好となっていた。また、筋線維に変性・壊死病変を示す個体でも、消化盲嚢細胞の糖原や蛋白の貯蔵状態は良好な傾向にあり、全体的に回復傾向に向かっていた。これは、ウイルスの活性化が低水温で抑制され、病巣も修復されてくるので、アコヤガイの摂餌・呼吸機能も回復してくるためと推察された。しかし、回復貝の貝柱は、感染前のような透明感は戻らず、淡黄色ないし白濁化している。

4. 貝柱の褐色化

貝柱など筋組織の褐色化の色素については、中村の研究⁸⁾がある。それによると、褐色化の主因となっている色素はカロテノイドではなく構造不明の黄色色素で、生体内で生成されている可能性が高い。この黄色色素はリポフシン、セロイド、メラニン、胆汁色素ではなく、アミノ酸を含む物質で、糖もしくはその類縁物が存在していることから、メイラード反応生成物質の可能性が指摘されている。

1.1で述べたように、貝肉の着色および退色の過程を見ると、病状の悪化に伴って淡黄色→黄色→褐色→赤褐色へと変色し、秋から冬、水温が20℃を割り込んで下降するに伴い赤褐色や褐色の個体が減少し始め、黄色、淡黄色へと退色して行く。濃褐色から赤褐色に着色する頃にはへい死が始まり、産卵後やせて衰弱した個体を中心に大量へい死する。この時期には養殖作業で僅かな負荷をかけただけで、また水温、流れ、餌などの環境条件の変化がへい死率を押し上げる。

通常、着色度が増すに伴って衰弱し、へい死に至る。ところが、水貝と呼ばれ非常に衰弱して

いる貝は着色しないか、着色しても非常に淡いのが一般的である。水貝にもウイルスが感染していると仮定すると、感染・発症する以前に非常に衰弱してしまった個体では、メイラード反応を起こしにくい体内環境—例えばアミノ酸や糖などの一般体成分の不足あるいは病変に伴って生ずる成分の不足—によって、黄色色素が生成されにくいと推測された。したがって、着色は元気な貝で急速に進行する傾向を示した。

また、着色度は病状の進行時期には病変状態とよく一致しているが、病状の回復時期には退色度合と病巣の治癒状態とはかなりずれてくる傾向を示した。

5. 初感染と発症

履歴の明らかな殻長2～3 cmの稚貝について、1997年9月25日(第1回調査)および10月23日(第2回調査)に貝柱の着色状態を目視観察し(表2)、アコヤウイルスが稚母貝養成時の何日、何処で初感染し、発症したかを推定した。

5.1 天然採苗稚貝と人工採苗稚貝の比較

表2-1に示した稚貝aおよびbは漁場AおよびBで1997年6月中旬にそれぞれ天然採苗し、稚貝ネットに収容した後、同海域で継続して養成した。また稚貝cは漁場Cで同時期に天然採苗し、稚貝ネットに収容した後、異なる漁場FおよびGに8月下旬および中旬にそれぞれ移入し養成した。これらの天然採苗稚貝a、b、cの着色貝の出現率は、受精ないし採苗から起算して約100日を経過した第1回調査日には著しく低かったが、約130日を経過した第2回調査日には急増した。特に漁場Cで採苗した稚貝cの着色率は、漁場A、Bで採苗した稚貝a、bの着色率に比べて激増した。また稚貝cは採苗2ヵ月後に異なる漁場F、Gにそれぞれ移入し、60～70日間養成したが、着色貝の出現率は両漁場の間でほぼ同一であった。もし天然採苗稚貝が受精ないし採苗直後に感染したと仮定できるならば90～100日、約3ヵ月を経過する頃から発症し、その後着色貝は短日間に急増しており、潜伏期間は90～100日と推定された。

一方、人工ふ化場Hで1997年3月上旬に人工受精し、ふ化場地先に沖出し後、5月上旬に漁場Dへ移入し、養成した人工採苗稚貝hの着色率は、受精ないし採苗から起算して約200日、養成漁場へ移入してから約140日を経過した第1回調査日にはすでに60%に達し、着色度もかなり強く、採苗後約130日を経過した天然採苗稚貝cの第2回調査時の着色貝の出現率に匹敵していた。

5.2 別々の親から生まれた子を同じ漁場で養成した場合

表2-2は別々の親から生まれた人工採苗稚貝j、k、lを同じ漁場Eで養成した時の貝柱発症状況を示す。養成漁場から遠く離れた異なる人工ふ化場J、K、Lで1996年12月下旬および1997年3月上旬にそれぞれ人工受精し採苗した稚貝のうち、12月受精稚貝は翌年3月に地先漁場へ沖出し、5月中旬に漁場Eへ移入、3月受精稚貝は5月ないし6月に地先漁場へ沖出し、7月中旬および6月下旬に漁場Eへ移入し、養成した。これらの人工採苗稚貝j、k、lの着色率は第1回調査日にすでに100%であった。12月および3月の人工採苗稚貝は、受精ないし採苗から起算して第1回調査までにそれぞれ270日および200日を経過しており、また漁場Eへ移入してから起算するとそれぞれ130日、70日、90日を経過していた。もし養成漁場へ移入後に感染、発症したと仮定すると、5.1の天然採苗稚貝a、b、cで推定した感染から発症までの潜伏期間と発症率との関係と比較して矛盾する。

ところが、人工受精ないし採苗から起算すると200～270日を経過しており、表2-1の第2

表2 アコヤガイ稚貝養成にみられた感染・発症状況

1. 同一の親から生まれた子を異なる漁場で養成した場合

採苗方法	採苗場所	親貝	採苗年月	養成漁場と移入年月	第1回調査('97.9.25)			第2回調査(97.10.23)				
天然採苗	A	a	'97.6.中旬	→ 3 ^{・1} / ₃ →	着色貝 5%	予備軍 60%	健全貝 35%	→ 4 ^{・1} / ₃ →	着色貝 25%	予備軍 30%	健全貝 45%	
天然採苗	B	b	'97.6.中旬	→ 3 ^{・1} / ₃ →	着色貝 0%	予備軍 55%	健全貝 45%	→ 4 ^{・1} / ₃ →	着色貝 15%	予備軍 40%	健全貝 45%	
天然採苗	C	c	'97.6.中旬	→ 2 ^{・1} / ₃ → F '97.8.下旬	→ 3 ^{・1} / ₃ → 1	着色貝 0%	予備軍 100%	健全貝 0%	→ 4 ^{・1} / ₃ → 2	着色貝 75%	予備軍 12%	健全貝 13%
天然採苗	C	c	'97.6.中旬	→ 2 → G '97.8.中旬	→ 3 ^{・1} / ₃ → 1 ^{・1} / ₃	着色貝 12%	予備軍 82%	健全貝 6%	→ 4 ^{・1} / ₃ → 2 ^{・1} / ₃	着色貝 75%	予備軍 25%	健全貝 0%
人工採苗	H	h	'97.3.上旬	→ 2 → D '97.5.上旬	→ 6 ^{・2} / ₃ → 4 ^{・2} / ₃	着色貝 60%	予備軍 35%	健全貝 5%	→ 7 ^{・2} / ₃ → 5 ^{・2} / ₃	着色貝 65%	予備軍 30%	健全貝 5%

* 矢印上段数字は採苗からの月数。矢印下段数字は養成漁場へ移入してからの月数。

2. 別々の親から生まれた子を同じ漁場で養成した場合

採苗方法	採苗場所	親貝	採苗年月	養成漁場と移入年月	第1回調査('97.9.25)			第2回調査(97.10.23)				
人工採苗	I	e × 0	'97.2.中旬	→ 3 ^{・1} / ₃ → I '97.5.下旬	→ 7 ^{・1} / ₃ → 4	着色貝 80%	予備軍 15%	健全貝 5%	→ 8 ^{・1} / ₃ → 5	着色貝 100%	予備軍 0%	健全貝 0%
人工採苗	I	e × 0	'97.2.中旬	→ 2 ^{・2} / ₃ → D '97.5.上旬	→ 7 ^{・1} / ₃ → 4 ^{・2} / ₃	着色貝 90%	予備軍 5%	健全貝 5%	→ 8 ^{・1} / ₃ → 5 ^{・2} / ₃	着色貝 80%	予備軍 15%	健全貝 5%
人工採苗	I	n × 0	'97.2.中旬	→ 3 ^{・1} / ₃ → I '97.5.下旬	→ 7 ^{・1} / ₃ → 4	着色貝 75%	予備軍 25%	健全貝 0%	→ 8 ^{・1} / ₃ → 5	着色貝 100%	予備軍 0%	健全貝 0%
人工採苗	I	n × 0	'97.2.中旬	→ 2 ^{・2} / ₃ → D '97.5.上旬	→ 7 ^{・1} / ₃ → 4 ^{・2} / ₃	着色貝 75%	予備軍 25%	健全貝 0%	→ 8 ^{・1} / ₃ → 5 ^{・2} / ₃	着色貝 50%	予備軍 45%	健全貝 5%

* 矢印上段数字は採苗からの月数。矢印下段数字は養成漁場へ移入してからの月数。

3. 同一の親から生まれた子を異なる漁場で養成した場合

採苗方法	採苗場所	親貝	採苗年月	養成漁場と移入年月	第1回調査('97.9.25)			第2回調査(97.10.23)				
人工採苗	I	e × 0	'97.2.中旬	→ 3 ^{・1} / ₃ → I '97.5.下旬	→ 7 ^{・1} / ₃ → 4	着色貝 80%	予備軍 15%	健全貝 5%	→ 8 ^{・1} / ₃ → 5	着色貝 100%	予備軍 0%	健全貝 0%
人工採苗	I	e × 0	'97.2.中旬	→ 2 ^{・2} / ₃ → D '97.5.上旬	→ 7 ^{・1} / ₃ → 4 ^{・2} / ₃	着色貝 90%	予備軍 5%	健全貝 5%	→ 8 ^{・1} / ₃ → 5 ^{・2} / ₃	着色貝 80%	予備軍 15%	健全貝 5%
人工採苗	I	n × 0	'97.2.中旬	→ 3 ^{・1} / ₃ → I '97.5.下旬	→ 7 ^{・1} / ₃ → 4	着色貝 75%	予備軍 25%	健全貝 0%	→ 8 ^{・1} / ₃ → 5	着色貝 100%	予備軍 0%	健全貝 0%
人工採苗	I	n × 0	'97.2.中旬	→ 2 ^{・2} / ₃ → D '97.5.上旬	→ 7 ^{・1} / ₃ → 4 ^{・2} / ₃	着色貝 75%	予備軍 25%	健全貝 0%	→ 8 ^{・1} / ₃ → 5 ^{・2} / ₃	着色貝 50%	予備軍 45%	健全貝 5%

* 矢印上段数字は採苗からの月数。矢印下段数字は養成漁場へ移入してからの月数。

回調査、すなわち受精ないし採苗から起算した天然採苗稚貝の130日や人工採苗稚貝hの230日よりさらに60日以上も多く経過しており、着色率が100%に達していたことを納得できる。また人工ふ化場地先への沖出しから起算すると、12月採苗稚貝j、kは沖出しから養成漁場で180日を過ごしており、3月採苗稚貝k、lはそれぞれ100日および120日を過ごしていたが、漁場で過ごした期間と着色率との関係から考え、漁場で感染したとは考えにくい。これらのことから、調査した人工採苗稚貝は、受精から採苗までの種苗生産時、すなわち沖出し以前にすでにアコヤウイルスに感染していた可能性が強い。

5.3 同じ親から生まれた子を異なる漁場で養成した場合

人工ふ化場で異なる3系統の親貝e、n、oを組み合わせさせて集団交配させて作った人工採苗稚貝(e×o)および(n×o)を、人工ふ化場地先漁場Iと遠く離れた他県の漁場Dで養成した時の貝柱着色状況を表2-3に示した。1997年2月18日に人工ふ化場Iで受精し、採苗した人工稚貝(e×o)および(n×o)は殻長3mmになるまでふ化場内水槽で育成した後、1組を5月8日に養成漁場Dへ、もう1組を5月24日に地先養成漁場Iへ移入した。受精時から起算すると220日目にあたる第1回調査では、養成漁場DおよびIへ移入したいずれの稚貝もすでに高率で着色していた。ところが、漁場DあるいはIのいずれで養成していても、稚貝(e×o)は稚貝(n×o)よりも着色率が高く、親貝あるいは採苗条件の違いが育成稚貝へのウイルス感染率にかかわっている可能性がある。

一方、第1回調査日に稚貝(e×o)と稚貝(n×o)との間に認められた採苗時と関連した着色率の特徴は、第2回調査日には消失し、とってかわって養成漁場IおよびDの漁場特性および漁場のウイルス汚染度由来すると思われる着色率の特徴がそれぞれに現れてきた。このことは、表2-1、表2-2および表2-3を比較してわかるように、稚貝は初感染した後、第1回目の水温23℃から28℃の高水温期を過ごした頃から、養成漁場の水温変化に依存した特徴を現わし始めることを示唆している。例えば9月25日に比較して10月23日になると、養成漁場によっては今まで増加し続けていた着色貝が減少し、予備軍や無着色貝が増加する傾向をみせ始める。すなわち表1に示した母貝と同じ発症とへい死動向に組み込まれていく。

以上のことからわかるように、アコヤウイルスの初感染は、種苗採取時の天然採苗漁場や人工採苗施設ですでに起こっており、初感染稚貝の発症、病状悪化、へい死亡率などに、最初の夏までは採苗場や親貝に由来する因子の影響が色濃く現れるが、その後は養成漁場のウイルス汚染状況や海況特性に由来する因子の影響が色濃く現れると思われる。

6. アコヤウイルス感染症の特徴

アコヤウイルス(仮称)はアコヤガイに感染すると、筋線維を標的細胞として宿り、水温に強く依存しながら増殖と抑制を毎年繰り返す。採苗時や沖出し養成時に保菌貝と同居したり、ウイルス汚染環境に接することで初感染し、筋線維の病変に伴って発症(着色)し、病状(着色度)の悪化によって摂餌および呼吸機能が障害を受け、衰弱死する(図4)。

宇和海の疫学調査から、発症に約3.5ヵ月の潜伏期間を要したが、水温に依存して南部海域では短くなり、北部海域では長くなる傾向を示した。発症後の病状も水温に強く依存し、23～28℃で急速に悪化し、8～10月を中心に大量へい死した。水温が23℃を割り込む10月下旬以降、水温の下降に伴って退色し、3～4月を中心に最も退色したが、水温13℃以下になっても貝柱の芯には白濁を伴った着色が残るか、淡黄色に着色しており、アコヤウイルスが不活化したり、

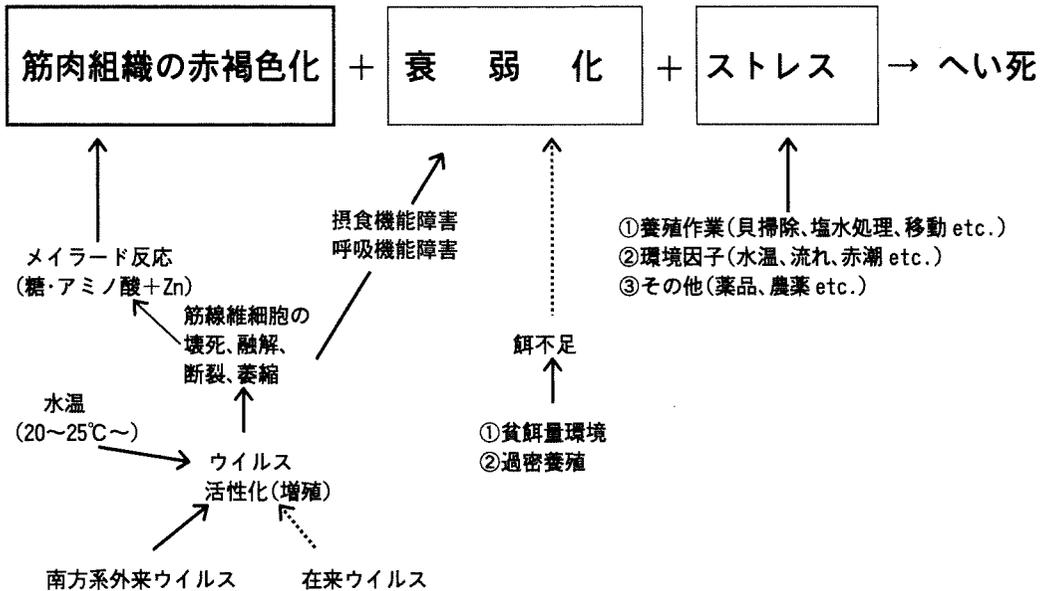


図4 貝柱褐色アコヤガイの着色化および衰弱化とウイルスの関連図²⁾

体外に脱出して完治したわけではない。低水温期はウイルスの増殖が抑制され、病変が治癒していくので、摂餌および呼吸機能も回復に向かい、退色が進む。水温下降期から低水温期のへい死率は激減し、退色も進むが、病状が悪化し耐えられなくなった貝から死ぬため、濃褐色から赤褐色の重症貝も退色して回復しているかのように見える。淡黄色貝の病巣ですら完治していない。水温が20℃以上に上昇してくると着色は再び目につきだし、水温の上昇と産卵による体力の消耗に伴って病状は急速に悪化し、へい死が始まる。再度病状が悪化し、へい死が起こる初期状況は水温上昇に強く依存しながら変化し、また低水温期に貝の体力がどれだけ回復したかの影響を受けるため、発症、病状悪化、へい死などは一般的に言って加齢に伴って前倒しになる傾向を示す。すなわち、発症、病状悪化、へい死に要する積算水温は、加齢に伴って減少し、へい死に必要な積算水温以上に達していれば、水温が23℃以上の漁場では常にへい死の起こる可能性があり、水温が高ければ高いほど大量へい死を起こす危険性が高い。

以上のようにアコヤウイルスは水温に強く影響されながら増殖と抑制を繰り返しており、へい死の直接原因は感染試験⁵⁻⁷⁾からウイルスによる感染症であることも立証されている。

7. 中国種アコヤガイからのウイルス分離

赤褐色に発症したアコヤガイは中国現地でも、中国から輸入された貝にも20～30%ほど見られ¹⁾、輸入後P漁場に移入してあった中国産アコヤガイからもウイルスが分離されている⁵⁾。

表3は1998年4月1日高知県に輸入されてきた、日本の海水に1度もつけない中国産アコヤガイからのウイルス分離培養結果³⁾である。28検体中17検体、約61%からウイルスが分離されており、同時期の日本の養殖アコヤガイ(付表3の8月4日および5月6日の合計)の約31%に比べ高率である。しかも、ウイルス分離された検体数の47%は貝柱が着色していな

表3 輸入中国産アコヤガイからのウイルス分離培養結果

採集年月日	検体No.	検体の状態 ^{*1}		ウイルス分離組織	株化細胞の種類 ^{*2} と変性強度 ^{*3}
		貝柱着色度	体萎縮		
1998.4.1	01	-	-	貝柱	EPC細胞 -
	02	-	-	貝柱	EPC細胞 -
	03	+	+++	貝柱	EPC細胞 +
	04	±	-	貝柱	EPC細胞 +
	05	+	+++	貝柱	EPC細胞 +
	06	+	+	貝柱	EPC細胞 -
	07	-	+++	貝柱	EPC細胞 +
	08	-	-	貝柱	EPC細胞 +
	09	-	-	貝柱	EPC細胞 -
	10	-	-	貝柱	EPC細胞 -
	11	-	-	貝柱	EPC細胞 -
	12	+	+++	貝柱	EPC細胞 +
	13	-	+++	貝柱	EPC細胞 ?
	14	-	+++	貝柱	EPC細胞 +
	15	-	+++	貝柱	EPC細胞 -
	16	-	++	貝柱	EPC細胞 -
	17	-	+++	貝柱	EPC細胞 +
	18	+	+	貝柱	EPC細胞 +
	19	-	+++	貝柱	EPC細胞 ?
	20	-	+++	貝柱	EPC細胞 +
	21	+	+++	貝柱	EPC細胞 ?
	22	-	+	貝柱	EPC細胞 +
	23	+	+++	貝柱	EPC細胞 +
	24	-	+++	貝柱	EPC細胞 +
	25	-	+++	貝柱	EPC細胞 +
	26	+	++	貝柱	EPC細胞 +
	27	-	+++	貝柱	EPC細胞 +
	28	+	-	貝柱	EPC細胞 +

*1 三重大生物資源学部宮崎先生の判定。

*2 EPC細胞とはコイの表皮細胞。

*3 +: プラス反応、 -: マイナス反応、?: 不明。

い個体であり、貝柱の着色を基準にして感染の有無を判定することは非常に危険である。むしろウイルス分離が1検体からできた場合、ロット全体が感染していると考えた方が妥当であろう。

現在、三重大でアコヤウイルスのプライマーを作製中であり、アコヤウイルスと中国産アコヤガイから分離されるウイルスとの関係が近い将来明らかにされるであろう。疫学的には感染症の大流行は、或る地域社会に大流行しているものを持ち込んだと考えるのが妥当である。

8. アコヤガイ地貝からのウイルス分離

1997年3月にたまたま訪れたN地先水深25mの海底から採集された地貝から無作為に5個体を抽出し、貝柱を目視観察したところ、全個体が着色しており、赤褐色に発症した地貝が見つかった¹⁾。その後これらの地貝からアコヤウイルスが分離培養された⁵⁾。このことから、病貝が持ち込まれた漁場とその周辺に生息する地貝は、かなり感染してしまっていると思われる。

9. 生産現場対策

報告者の1人和田はしばしば指摘してきた^{1~3)}。ここに貝柱褐色化に伴うアコヤガイの大量へ

い死対策の要点を以下にまとめたので、ウイルス感染症（病気）だということを十分に認識した上で、感染症基本対策を中心に据え、真珠養殖当面对策を講ずることが望まれる。

(1) 感染症基本対策

- 1) 感染源を断つ
- 2) 感染・発症貝の漁場間移動の自粛
- 3) 感染貝の早期発見・除去・焼却
- 4) 健全日本種アコヤガイの資源保護
- 5) 日本種アコヤガイの健全種苗生産
- 6) アコヤウイルス・フリー漁場の保全
- 7) アコヤウイルス汚染漁場の再生

(2) 真珠養殖当面对策

- 1) 感染予防
 - a. 健全貝の使用
 - b. 感染貝との同居回避
 - c. 感染・発症貝の除去・焼却
- 2) 体力の維持・強化
 - a. 疎殖養殖
 - b. 健康養殖
 - c. 科学（頭脳）的養殖管理
- 3) 漁場利用の工夫

(3) 環境破壊をおこさない対策が大切

現在、中国系アコヤガイの卵抜きやウイルスの不活化にオゾン処理が普及されつつあるが、オゾンは人の健康を阻害し、使用法によっては養魚で使用したホルマリン同様に環境破壊の可能性を含んでいる。また、殺菌作用から考えて過大の期待は禁物であり、できることなら使わない方が好ましい。その理由の一つとして、オゾン処理は細菌の細胞膜の脂肪酸二重結合やウイルスのカプシッド蛋白質を破壊し、不活化するといわれている。したがって、体表に居る病原体は不活化できるが、細胞内に侵入した病原体を不活化するには、感染貝自体の健康を害することになる。また、オゾン処理液をたれ流すことは環境中の有用細菌や餌プランクトン、その他の生物に被害を与えることになるので、扱いを充分注意する必要がある。その他の薬品処理も十分に検討した後に注意して使用することである。できることなら使わないほうが好ましい。

(4) 生産現場における問題点

現在、その場、その場を乗り越える対症療法的養殖が模索されているが、その中で最も注意しなければならないことは、遺伝的にウイルスに強い耐病性アコヤガイを作出する動き一色となっており、感染症基本対策を全く行っていないことである。とくに外国系アコヤガイや日本種アコヤガイとのハイブリットが高水温に強いとのメリットで盛んに作出されているが、日本種同様にアコヤウイルスに感染・発症・へい死する。また、天然種苗にハイブリットと同形のものがかなり現れており、純日本種が消滅した上に 1980 年代から始まった日本種アコヤガイの弱体化と同じ現象が起ころねばと心配している。

これとは別に、伝統的日本種アコヤガイの真珠品質⁹⁾が外国系アコヤガイやハイブリットから養殖できるかの答えはまだでない。

要 約

1. 1996年から日本各地で流行している貝柱褐色化に伴うアコヤガイの大量へい死の特徴と原因を明らかにし、へい死対策を講ずる目的で、宇和海を調査域として1997年から1999年にわたって日本種アコヤガイの貝柱の着色(発症)状況、着色度(病状の悪化および回復)、へい死率の周年変化および経年変化を調査し、病理組織像、アコヤウイルス(仮称)分離培養、海況などと比較して考察を行った。
2. アコヤガイはウイルス保菌貝と同居したり、ウイルス汚染環境と接することで初感染しており、採苗時や沖出し養成時に感染している。
3. アコヤウイルスはアコヤガイの筋線維を標的細胞として宿り、筋線維の病変によって発症し、摂餌機能および呼吸機能に障害を与え、アコヤガイは病状の悪化に伴って衰弱死する。
4. アコヤウイルスは水温が20℃以上になる5～6月頃から活発に増殖し、アコヤガイは約2～3ヵ月で発症、23～28℃で病状は急速に悪化して8～10月を中心に大量へい死した。
5. 水温が23℃を割り込む10月下旬以降、水温の下降に伴ってへい死率は激減し、翌年3～4月に最も退色した。
6. アコヤウイルスの増殖は低水温期には抑制され、病巣が回復するにつれ、摂餌機能および呼吸機能も回復に向かう。しかし、アコヤガイの生息可能限界水温内でアコヤウイルスが不活化したり、体外に脱出してアコヤガイがウイルス・フリーになることはない。
7. 貝柱の着色は水温上昇期には淡黄色→黄色→褐色→濃褐色・赤褐色へと変色し、病状が悪化し、衰弱したアコヤガイはへい死した。水温下降期には濃褐色・赤褐色の個体が減少し、貝柱は褐色→黄色→貝柱の芯に白濁を伴った淡い着色を残すか淡黄色へと退色し、回復貝は水温に依存して毎年再発、症状悪化、へい死を繰り返した。
8. アコヤウイルス病によるアコヤガイの大量へい死は、へい死に要する積算水温に達し、しかも漁場水温が23℃以上あれば、水温が高ければ高いほど加速して起こっていた。
9. 加齢に伴って病状悪化やへい死に至るまでの20℃以上の積算水温は減少し、また水温が高ければ高いほど再発から病状悪化やへい死に至る日数が急速に短縮した。
10. 冬期の水温が高い漁場や年は、低水温期に回復が少ないため、再発が前倒しになる傾向を示した。
11. 以上の結果から推測されるように、貝柱褐色化に伴うアコヤガイの大量へい死の直接原因はアコヤウイルスの感染症であり、水温はウイルスの増殖および抑制因子として強く作用する。

参 考 文 献

- 1) 和田浩爾 1997. 平成6年から始まったアコヤガイの大量へい死の特徴と原因について. SHINJU けんきゅう No.6, 2-23.
- 2) 和田浩爾 1997. 貝柱褐色化アコヤガイの大量へい死に関する疫学的調査研究中間結果から. SHINJU けんきゅう No.8, 2-24.
- 3) 和田浩爾 1999. 貝柱褐色化アコヤガイの大量へい死に関する疫学的調査研究結果. 真珠の雑誌 No.40, 1-25.
- 4) 和田浩爾・永井清仁・田口美香 1999. アコヤウイルス(仮称)の垂直感染および水平感染に

- 関する試験. 全真連技術研究会報 14, 37-49.
- 5) 宮崎照雄 1998. 養殖真珠貝の大量へい死を起こすアコヤウイルス病. 月刊海洋 No.14, 77-84.
 - 6) 宮崎照雄・小林立弥・日高悦久 1998. アコヤウイルス(仮称)の実験感染. 平成10年度日本魚病学会春季大会講演要旨, No.22.
 - 7) 黒川忠英・鈴木徹・岡内正典・三輪理・永井清仁・中村弘二・本城凡夫・中島員洋・芦田勝朗・船越将二 1999. 外套膜片移植および同居飼育によるアコヤガイ *Pinctada fucata martensii* の閉殻筋の赤変化を伴う疾病の人為的感染. 日水誌 65(2), 241-251.
 - 8) 中村弘二 1997. 貝柱の赤色化現象とへい死の関係の解明. 平成8年度アコヤガイの貝柱の赤色化と大量へい死に関する緊急調査研究実施報告書, 18-31. 水産庁養殖研究所.
 - 9) 和田浩爾 1999. 真珠の科学—真珠のできる仕組みと見分け方—. 真珠新聞社.

付表1 各漁場における1997年2齢貝の貝柱着色度とへい死の推移(1997. 4. 25~1998. 8. 21)

漁場A

着色度	1997年(2齢貝)									1998年					
	4/25	5/22	6/19	7/29	8/21	9/25	10/23	11/20	12/8	1/22	2/19	3/18	4/22	5/20	6/18
0	45	50	30	5	0	0	0	0	5	0	0	0	10	0	0
1	45	25	35	35	25	5	20	5	15	10	10	20	20	10	6
2	10	25	35	45	50	40	35	70	60	50	60	40	70	90	82
3	0	0	0	15	25	55	45	25	20	40	30	40	0	0	12
死亡率	0	0	2	5	11	50	40	5	1	3	1	3	3	5	0

漁場B

着色度	1997年(2齢貝)									1998年							
	4/25	5/22	6/19	7/29	8/21	9/25	10/23	11/20	12/8	1/22	2/19	3/18	4/22	5/20	6/18	7/15	8/21
0	25	0	15	0	0	0	0	0	5	0	10	0	0	0	0	0	0
1	30	75	40	40	5	10	20	10	10	15	10	15	10	15	10	0	0
2	45	25	45	30	50	60	50	60	35	60	60	75	80	65	72	35	56
3	0	0	0	30	45	30	30	30	50	25	20	10	10	20	18	65	44
死亡率	0	0	4	5	17	40	40	5	1	3	1	3	1	0	6	25	44

漁場D

着色度	1997年(2齢貝)									1998年					
	4/25	5/22	6/19	7/29	8/21	9/25	10/23	11/20	12/8	1/22	2/19	3/18	4/22	5/20	6/18
0	70	85	60	25	10	5	0	0	0	0	10	0	0	0	0
1	30	15	40	40	10	5	0	0	5	20	10	20	30	15	0
2	0	0	0	35	60	55	60	60	35	40	50	60	60	85	86
3	0	0	0	0	20	35	40	40	60	40	30	20	10	0	14
死亡率	0	0	0	2	3	13	30	2	1	3	3	4	5	2	9

漁場E

着色度	1997年(2齢貝)									1998年						
	4/25	5/22	6/19	7/29	8/21	9/25	10/23	11/20	12/8	1/22	2/19	3/18	4/22	5/20	6/18	7/15
0		100		10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1		0		50	60	10	20	5	10	10	15	20	15	25	10	0
2		0		40	40	50	20	65	55	60	65	65	80	75	80	52
3		0		0	0	40	60	30	35	30	20	15	5	0	10	48
死亡率		0		0	2	8	20	2	1	3	2	3	0	3	0	10

*値は%.

付表2 各漁場における1998年2齢貝の貝柱着色度とへい死の推移(1998.2~1999年現在も調査中)

漁場A

着色度	1998年(2齢貝)				1999年										
	6/18	8/21	9/17	10/21	11/11	12/16	1/27	2/17	3/24	4/14	5/12	6/16	7/14	8/11	
0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	
1	23	5	20	0	0	15	10	10	0	10	60	10	0	15	
2	61	40	40	60	45	60	40	70	70	80	20	90	80	35	
3	8	55	40	40	55	25	50	20	30	10	0	0	20	50	
死亡率	0	30	50	30	5	8	2	1	6	1	0	2	31	71	

漁場B

着色度	1998年(2齢貝)				1999年												
	3/18	4/22	6/18	7/15	8/21	9/17	10/21	11/11	12/16	1/26	2/17	3/24	4/14	5/12	6/16	7/14	8/11
0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0
1	10	20	30	20	5	22	0	5	20	10	10	0	40	20	10	0	10
2	80	80	60	50	40	55	45	40	50	50	80	90	50	60	80	87	50
3	10	0	10	20	55	23	55	55	30	40	10	10	10	10	10	13	40
死亡率	0	0	0	0	25	40	36	0	8	5	5	0	0	0	0	12	12

漁場D

着色度	1998年(2齢貝)				1999年												
	2/19	3/18	6/18	7/15	8/21	9/17	10/21	11/11	12/16	1/26	2/17	3/24	4/14	5/12	6/16	7/14	8/11
0	0	10	30	10	0	0	0	0	0	0	20	0	0	10	10	0	0
1	20	20	20	10	20	20	0	0	40	10	20	20	10	20	40	30	10
2	80	70	50	80	60	60	65	30	60	50	80	80	70	50	70	80	80
3	0	0	0	0	20	20	40	35	30	30	10	0	10	0	0	0	10
死亡率	0	0	0	0	12	15	10	2	9	3	2	0	0	2	0	0	0

漁場E

着色度	1998年(2齢貝)				1999年											
	3/18	6/18	7/15	8/21	9/17	10/21	11/11	12/16	1/26	2/17	3/24	4/14	5/12	6/16	7/14	8/11
0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0
1	20	50	20	7	20	0	10	10	10	15	15	15	10	10	5	5
2	80	30	70	60	30	40	40	50	40	55	70	65	75	80	95	60
3	0	0	10	33	50	60	50	40	50	30	15	20	5	10	0	35
死亡率	0	0	0	10	20	30	25	13	15	2	0	1	1	0	10	6

漁場G

着色度	1998年(2齢貝)		1999年								
	10/21	11/11	12/16	1/26	2/17	3/24	4/14	5/12	6/16	7/14	8/11
0	0	10	0	0	20	0	0	0	30	0	0
1	40	30	30	20	40	10	20	20	60	50	30
2	50	60	60	60	40	90	60	80	10	50	70
3	0	0	10	20	0	0	20	0	0	0	0
死亡率	20	0	4	0	0	0	6	10	8	0	0

* 値は%.

** 1998年11月以降は11月にセットした新規2齢貝で調査.

*** 漁場DとGは日本種アコヤガイ×中国産アコヤガイのハイブリッド.

*** 漁場Aは1999年7月調査後に貝掃除を行った.

付表3 調査期間中のウイルス分離培養結果

採集年月日	検体No.	検体の解剖所見 ^{*1}		ウイルス分離組織	株化細胞の種類 ^{*2} とウイルス分離 ^{*3}	備考
		貝柱着色度	体萎縮			
1997.8.28	08	+++	+++	貝柱+外套膜	EPC細胞 +	4代継代
	16	+++	+++	軟体部全体	EPC細胞 +	4代継代
1997.9.5	03	-	+++	貝柱+外套膜	EK-1細胞 +	2代継代
	12	++	+	貝柱+外套膜	EK-1細胞 +	2代継代
	13	++	+	貝柱+外套膜	EK-1細胞 +	2代継代
	14	++	+++	軟体部全体	EK-1細胞 +	2代継代
1997.10.6 ^{*4}	A群					
	01	++	-	軟体部全体	EPC細胞 +	
	03	++	-	軟体部全体	EPC細胞 +	
	06	+++	-	貝柱+外套膜	EPC細胞 +	
	12	++++	-	貝柱	EPC細胞 +	
	15	++	-	貝柱	EPC細胞 +	
	16	++	-	貝柱	EPC細胞 +	
	20	+	+++	軟体部全体	EPC細胞 +	
	B群					
	22	±	-	貝柱	EPC細胞 +	
	23	±	-	軟体部全体	EPC細胞 +	
	29	++	-	貝柱	EPC細胞 +	
	34	++	-	貝柱	EPC細胞 +	
	36	++	-	貝柱	EPC細胞 ?	
40	-	+	貝柱	EPC細胞 +		
1997.10.29 ^{*5}	A群					
	01	++	-	貝柱	EPC細胞 -	
	02	+	-	貝柱	EPC細胞 -	
	03	±	+++	貝柱	EPC細胞 -	
	04	-	+++	貝柱	EPC細胞 -	
	05	+	-	貝柱	EPC細胞 -	
	06	-	+++	貝柱	EPC細胞 -	
	07	+	-	貝柱	EPC細胞 -	
	08	++	-	貝柱	EPC細胞 -	
	09	-	-	貝柱	EPC細胞 +	
	10	-	-	貝柱	EPC細胞 -	
	B群					
	22	++	-	貝柱	EPC細胞 -	
	24	++	-	貝柱	EPC細胞 -	
25	+	-	貝柱	EPC細胞 -		
27	++	-	貝柱	EPC細胞 +		
30	-	-	貝柱	EPC細胞 -		

1998.1.8* ⁶	21			貝柱	EPC細胞	+
	22			貝柱	EPC細胞	+
	23			貝柱	EPC細胞	-
	24			貝柱	EPC細胞	+
	25			貝柱	EPC細胞	-
	26			貝柱	EPC細胞	-
	27			貝柱	EPC細胞	-
	28			貝柱	EPC細胞	+
1998.3.4* ⁷	A群					
	01	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	02	-	-	貝柱+鰓	EPC細胞	-
	03	-	-	貝柱	EPC細胞	+
	04	±	-	貝柱	EPC細胞	+
	05	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	06	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	07	-	-	貝柱	EPC細胞	+
	08	-	-	貝柱	EPC細胞	+
	B群					
	11	+	-	貝柱	EPC細胞	+
	12	-	-	貝柱+鰓	EPC細胞	-
	13	±	-	貝柱	EPC細胞	-
	14	-	-	貝柱	EPC細胞	+
	15	-	-	貝柱	EPC細胞	+
	16	-	-	貝柱	EPC細胞	+
	17	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	18	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	19	-	-	貝柱	EPC細胞	
	20	-	-	貝柱	EPC細胞	
1998.5.6* ⁸	B群					
	01	+	+	貝柱	EPC細胞	-
	02	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	03	++	+	貝柱	EPC細胞	-
	04	-	-	貝柱	EPC細胞	-
05	-	-	貝柱	EPC細胞	-	
	D群					
	06	-	+	貝柱	EPC細胞	-
	07	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	08	-	+	貝柱	EPC細胞	-
	09	-	-	貝柱	EPC細胞	-
10	+	+	貝柱	EPC細胞	-	
1998.6.9* ⁹	A群					

	01	++	+	貝柱	EPC細胞	?
	02	+	-	貝柱	EPC細胞	-
	03	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	04	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	05	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	B群					
	06	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	07	+	-	貝柱	EPC細胞	-
	08	-	+	貝柱	EPC細胞	-
	09	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	10	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	D群					
	11	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	12	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	13	-	+	貝柱	EPC細胞	-
	14	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	15	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	E群					
	16	+	-	貝柱	EPC細胞	-
	17	-	+	貝柱	EPC細胞	-
	18	-	-	貝柱	EPC細胞	-
	19	-	-	貝柱	EPC細胞	-

*1 三重大生物資源学部宮崎先生の判定。

*2 EPC: コイの表皮細胞、EK-1: ウナギの腎臓細胞。

*3 +: プラス反応、 -: マイナス反応、?: 不明。

*4 A 及び B 群はそれぞれ愛媛県 G 地区の人工採苗育成母貝と天然採苗育成母貝。

*5 A 及び B 群はそれぞれ愛媛県 N 地区の汚れの多い天然採苗育成母貝と汚れの少ない天然採苗育成母貝。

*6 検体が小さかったため解剖所見はとれなかった。

*7 A 及び B 群はそれぞれ愛媛県 B 地区の人工採苗育成母貝と H 地区の人工採苗育成母貝。

*8 B、D 群は表 1 中の B、D 漁場で調査していた 3 齡貝。

*9 A、B、D、E 群は表 1 中のそれぞれ A、B、D、E 漁場で調査していた 3 齡貝。

アコヤウイルス(仮称)の垂直感染および水平感染に関する試験-I

和田浩爾^{*1}・永井清仁^{*2}・田口美香^{*3}

はじめに

病理組織研究^{1),2)}、疫学調査^{3),4)}および感染試験^{5),6)}は、1995年に一部海域で騒がれ、1996年に各海域に飛び火し、1998年も猛威をふるった貝柱褐色化に伴うアコヤガイの大量へい死がウイルスによる感染症である可能性を強く示唆している。

このウイルスはアコヤウイルスと仮称されており^{1),5)}、アコヤガイの筋肉細胞を標的組織として宿り、空胞変性、腫脹、融解消失、断裂、萎縮など、何らかの細胞変性を生ぜしめ^{1),2)}、これらの傷害が摂餌機能や呼吸機能に障害をもたらし^{2),3),6)}、筋肉細胞、消化盲嚢や外套膜の細胞中の糖原や蛋白質を減少させ²⁾、アコヤガイは呼吸作用を活発にする季節や漁場環境下で、また放卵受精あるいは養殖作業によって急速に衰弱し、大量へい死する^{3),4)}。

疫学調査^{3),4)}は、アコヤウイルスの活性化(増殖)が温度に強く依存する特性を明らかにしてきた。すなわち、アコヤウイルスの活性は水温13℃以下で著しく抑制されるが、水温が20℃以上に達する頃から盛んに活性化し始め、水温が23℃を越すと爆発的に増殖し、20℃以下に下がる11月頃から抑制され始める。このようなアコヤウイルスの温度依存特性に呼応するかのように、感染したアコヤガイの貝柱は水温が18℃に達する春には淡黄色に着色し始める。水温20℃以上になり2~3ヵ月間もすると赤褐色に着色した個体が現れ、その後2~3ヵ月以内、水温にして23~28℃で激増し、夏から秋に赤褐色に着色した重症貝を中心に大量にへい死する。水温が20℃以下となる晩秋の頃から症状の軽い個体から退色し、肉質も回復するが、症状の重い赤褐色貝は死亡し続ける。また、大量へい死がおこる時期には、赤褐色に発症した個体が30~60%に達する。赤褐色に発症した個体は一般に肉質が著しく痩せて衰弱しているが、ロット、季節あるいは漁場によってかなり異なることも明らかになってきた。しかも、水温に依存して同じ変化を毎年繰り返すため、感染したアコヤガイの発症と衰弱は、症状が重かった個体ほど加齢に伴って年々早くなる傾向を示す⁴⁾。

貝柱着色の季節推移をアコヤウイルス分離状況と関連づけて調べた疫学調査^{3),4)}によると、水温にして20℃に達する5月から7月頃までの淡黄色から赤褐色に着色していた個体では分離されないが、8月下旬から10月上旬、水温にして25~28℃では赤褐色に着色した個体を中心として100%の割合で分離されている。ところが、貝柱の着色が退色していく10月下旬以降、水温にして23℃から16℃以下に下がる翌年3月頃までは、アコヤウイルスは赤褐色個体だけでなく淡黄色個体からも高率で分離されている。

培養したアコヤウイルス液の0.5 ml (25~30日の培養液、 10^{5-6} レベルのウイルス粒子を含む)を健常貝の外套膜に接種し、水温25℃で飼育した感染試験によると、接種後7~9日目に瀕死・へい死状態に陥った個体が現れ、接種14日後以降の累積へい死率は50~100%に達し⁵⁾、

*1 全国真珠養殖漁業協同組合連合会指導顧問 兼 愛媛県漁業協同組合連合会参与

*2 (株)ミキモト真珠研究所

*3 全国真珠養殖漁業協同組合連合会

また、赤変異常貝の外套膜を常法に従って健常貝へ移植し、24℃で飼育した感染試験によると、移植後15日および1ヵ月では赤変化も病変も認められなかったが、2ヵ月後および3ヵ月後には全個体で赤変化と外套膜の病変が認められ、2ヵ月日以降にへい死個体が現れる⁶⁾。一方、人工種苗および天然種苗の漁場移入後の疫学調査によると、両種苗ともに移入後約3ヵ月で発症し始め、移入した年の8～10月の大量へい死時期までは親と種苗生産時の条件、すなわち種苗ロットの違いがかなりの差となって現れるが、その後は移入した漁場の環境条件、主としてウイルス汚染状態とウイルス感染・増殖の助長条件による影響がはっきりと現れている^{3),4)}。

目 的

はじめに述べたように、貝柱褐色化に伴うアコヤガイの大量へい死はウイルスによる感染症であり、日本沿岸にある既存のアコヤガイ真珠養殖漁場全域に年々蔓延する気配すらみえ、終息する兆は現在のところ全く認められない。その最大の原因は、ウイルス感染症に対する認識の甘さと、生産業界の総力を結集した感染症に対する基本対策の欠落と共に、アコヤウイルスの特性と感染症に対する適切な基本対策を組織的に取り組んでいないためである。

感染症に対する基本対策を強力に推進し、また理にかなった真珠養殖当面对策を立て^{3),4)}、日本のアコヤガイ真珠養殖産業を再建することを目的として、愛媛県漁業協同組合連合会宇和島支部で1997年から行ってきた「宇和海におけるアコヤガイの大量へい死に関する疫学調査」は、アコヤウイルスの特性について貴重な知見を得てきた⁴⁾。本報告は、「ウイルスは成熟、産卵、育成のどの時点でアコヤガイに感染してくるか」を調べるために、1998年より全国真珠養殖漁業協同組合連合会で同時併行的に行った試験結果であり、アコヤウイルス感染症に対する基本対策に真珠養殖当面对策をどのように組み合わせ^{3),4)}、どんな戦略戦術を立てられるかを検討するのに役立つことにある。

本報告に先だち、種苗の移入と養殖管理に協力いただいた立神真珠養殖漁業協同組合中井義久氏と対馬真珠養殖漁業協同組合印東正登、小田貢両氏に厚くお礼申し上げます。また、ウイルス分離培養を行っていただいた三重大学生物資源学部教授宮崎照雄氏に深謝します。なお、この調査に要した三重大学の奨学寄付金は(社)日本真珠振興会生産対策費より援助をいただいた。

試 験 内 容

ウイルスは成熟、産卵、育成のどの時点でアコヤガイに感染し、どのくらいの潜伏期間を経て発症してくるか、また養成漁場間や海況差によってどのように相違してくるかを解析するために、次の三つの試験を行った。なお、感染と発症の判定は貝柱着色度の目視観察とウイルス分離結果から行った。

1. 親子の関係 (垂直感染試験)

生殖細胞を介してウイルスが親子の間で垂直感染するかどうかを調べるために、保菌者(病貝)同士あるいは非保菌者(健常貝)同士の集団交配によって垂直感染の可能性のある子供達A群と、その可能性のない子供達B群を作出した。なお、親の選別や子供の沖出し前に、貝柱の着色観察やウイルス分離培養を行い、また試験2で行った沖出し後の子供達の感染、発症状態の追跡調査

結果と比較し、ウイルスの垂直感染の可能性を検討した。

A群の両親には貝柱が着色し、赤褐色個体にウイルス分離検査プラス反応の個体があった愛媛県産天然貝雌 15 個体と対馬産天然貝雄 12 個体を、B群の両親にはウイルス分離検査マイナス反応で、貝柱の着色がない能登産天然貝雌 6 個体と雄 9 個体を使用した(結果 1、2 を参照)。

別々に成熟させた雌雄の親貝を、A群は 1998 年 2 月 26 日に、B群は 1998 年 3 月 13 日に、各々 0.5 t パンライト水槽に収容し、温度刺激の誘発処理によって自然放卵による集団交配で受精させた。親貝は放卵・放精が完了したらすぐに取り出した。受精卵は 1 μm ポアサイズのフィルターで濾過後紫外線照射した海水で十分に洗卵した後、30 ℓ パンライト水槽に移して 24 時間後に正常に発生した D 型幼生を、別に準備した 100 ℓ パンライト水槽で発育させた。飼育は 2 ~ 3 日ごとに全換水し、餌料として *Pavlova* および *Chaetoceros* を投与し、水温は 25 ± 1°C に保持した。飼育海水は、紫外線照射した濾過海水を使用し、受精 30 日後に 25 × 27 cm の遮光ネットに稚貝を付着させて、同水槽に垂下して沖出しまで飼育した。

2. 養成漁場と稚貝の感染、発症(水平感染試験)

ウイルスの感染率や発症率は、保菌親から生まれた子供と非保菌親から生まれた子供との間で差があるのか、あるいは養成漁場のウイルス汚染状態によって決まってくるかを明らかにするために、試験 1 で作出した A 群および B 群の稚貝を異なる漁場へ沖出し、稚貝の感染、発症率が養成漁場間で異なってくるかを経時的に追跡調査した。

A 群は 4 月 20 日に英虞湾内へ、5 月 15 日に浅茅湾内へ沖出し、B 群は 4 月 26 日に英虞湾内へ、5 月 8 日に英虞湾口と湾外へ、また 5 月 15 日に浅茅湾内へ沖出した。貝柱着色度の目視観察とウイルス分離・培養は、A 群および B 群ともに沖出し前の稚貝を 5 月 7 日に、三重県志摩海域へ沖出した稚貝を 6 月 4 日、9 月 4 日、10 月 15 日に、また対馬漁場へ沖出した稚貝を 6 月 23 日、8 月 24 日、10 月 27 日に行った。

なお、着色度は従来行っていた 4 段階法⁹⁾の 2. 褐色を 3. 褐色と 2. 淡褐色に 2 分し、4. 赤褐色、3. 褐色、2. 淡褐色~黄色、1. 淡黄色、0. 無着色の 5 段階に分けて行った。ウイルス分離・培養は 5 月 7 日の稚貝は小さすぎたため、適量の稚貝をよく洗浄して貝殻ごと磨砕、磨砕物を、また 6 月 4 日以降の稚貝は貝殻より分離した肉質部の磨砕物を 0.45 μm ポアサイズのフィルターで濾過、濾液を EPC 細胞(株化したコイの表皮細胞)を用いて行った。

3. 種苗と発症成貝との同居試験(水平感染試験)

病気にかかっていない子供達と保菌者を一緒に生活させた場合、子供達は感染してこないか、感染から発症するまでに要する潜伏期間はどのくらいか、また水温は感染や発症に影響してくるかを明らかにするために、試験 1 で作出した B 群の稚貝を発症した成貝と 85 日間同居させ、稚貝の感染、発症率が試験 2 の試験区の A 群および B 群と異なってくるかを追跡調査した。

同居試験は、B 群の稚貝約 2,000 個体を 1998 年 5 月 15 日に 100 ℓ パンライト水槽に収容し、赤褐色に発症した愛媛県産天然貝(2 齢)の 2 個体を 8 月 8 日まで同居させた。同居試験区は、8 月 8 日に貝柱の目視観察をした後、英虞湾内へ沖出し、9 月 4 日と 10 月 15 日に貝柱の着色度の目視観察とウイルスの分離培養を行い、感染、発症率の経時変化を調べ、試験 2 の試験区と比較した。

試験 1、2、3 で行った試験内容の相互の関係を図 1 に示した。

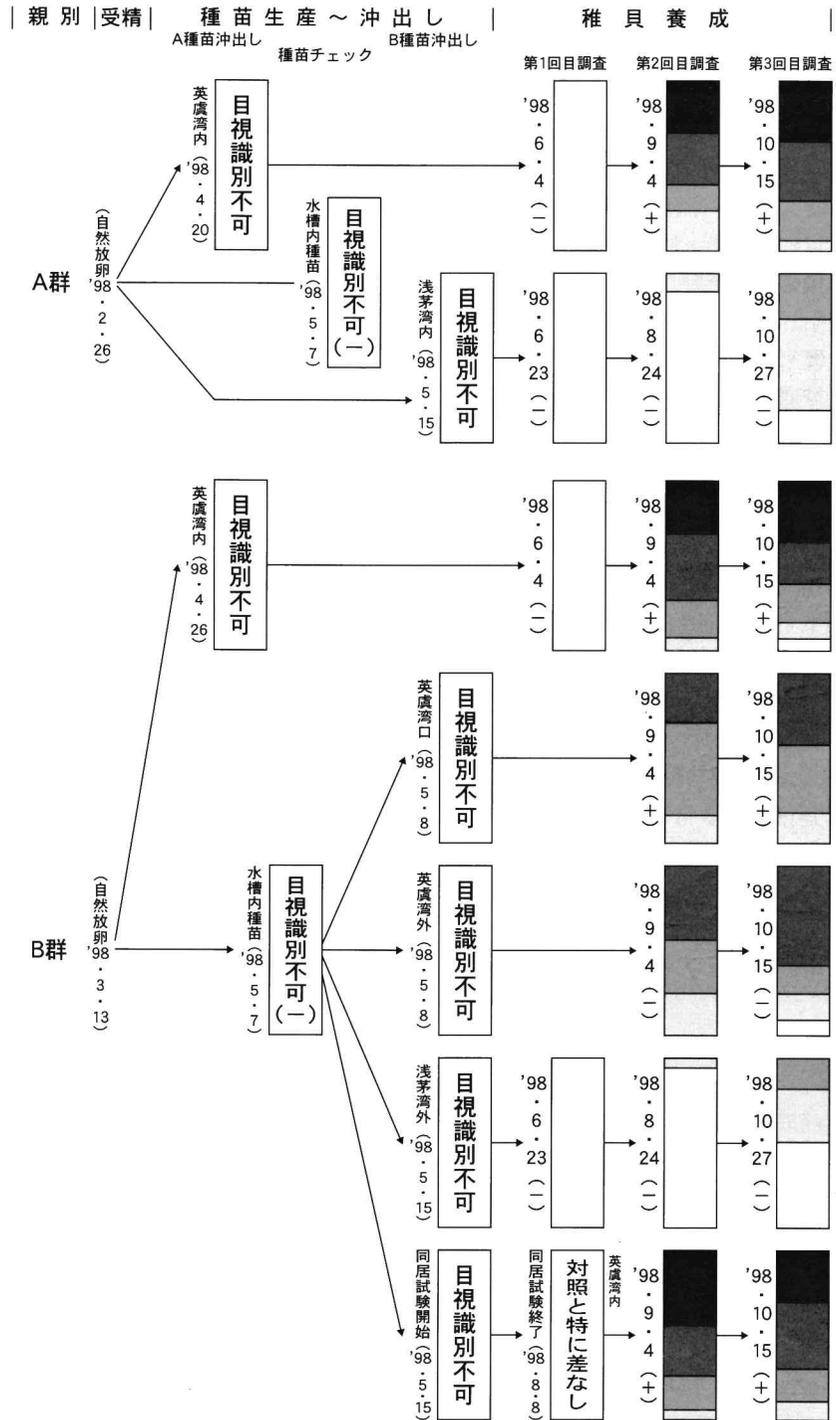


図1. 種苗生産から稚貝養成行程におけるアコヤウイルスの感染・発症状況

着色度: 0 1 2 3 4

() 内の+, -はウイルス分離状況

結果および考察

1. 貝柱着色度から見た垂直感染と水平感染

1.1 使用した親貝の着色度

交配に使用した親貝は、まえもって貝柱着色の有無の目視観察により、病貝と判定した愛媛県産天然貝と対馬産天然貝および、健全貝と判定した能登産天然貝であった。自然放卵後、A群の親貝として使用した愛媛県産雌 15 個体および対馬産雄 12 個体の中から各々 10 個体、またB群の親貝として使用した能登産雌 6 個体および雄 9 個体の中から各々 5 個体を無作為に抽出し、貝を割って貝柱の着色度を目視観察した。

その結果、A群の愛媛県産雌親は着色度4が20%、3と2が各々30%、1が20%で無着色はなく(図2)、また、対馬産雄親は着色度4が50%、3が30%、2が20%で無着色はなかった(図3)ことから、両親ともに保菌者とみなした。一方、B群の能登産天然貝の雌親とともに着色度1が20%で他は無着色であった(図4)。なお、1に着色していた能登産天然貝は総て虫貝であったことから、能登産の雌親と雄親はともに非保菌者とみなした。

1.2 種苗生産行程における変化

病貝の両親から生まれたA群の稚貝および健全貝の両親から生まれたB群の稚貝を水温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ で飼育し、4月20日に英虞湾内へ、5月15日に浅茅湾へ沖出したA群の稚貝、および4月26日に英虞湾内へ、5月8日に英虞湾口と湾外へ、また5月15日に浅茅湾へ沖出したB群の稚貝は、沖出し時点で殻長は2mm以下と小さすぎ、貝柱の着色度を目視観察で識別することは不可能であった(図1)。

1.3 異なる養成漁場へ沖出し後の着色度の推移

沖出し後6ヵ月齢までの稚貝の貝柱着色度について、20個体ずつ割って追跡調査した漁場別の経時変化



図2 親貝(A群)愛媛県産天然貝雌 1998.2.26



図3 親貝(A群)対馬産天然貝雄 1998.2.26

を図1に図説した。

A群の稚貝は、英虞湾内へ沖出した試験区では6月4日は総て無着色であったが、9月4日になると着色度4と3が各々30%、2が15%、1が25%で総て着色し、10月15日には4と3が各々35%、2が25%、1が15%となり、更に濃く着色する傾向を示した。一方、浅茅湾内へ沖出したA群の稚貝は、6月23日は総て無着色であり、8月24日には90%が無着色であったが着色度1が10%あり、着色の兆を現し、10月27日は2が25%、1が55%と着色率、着色度ともに増加する傾向を示した。

しかし無着色が20%もあり、濃く着色した個体でも着色度2の淡褐色～黄色どまりであった。

B群の稚貝は、英虞湾内へ沖出した試験区では6月4日は総て無着色であった。ところが、9月4日に調査したところ、英虞湾内は着色度4が30%、3が40%、2が25%、1が5%、英虞湾口は3が30%、2が55%、1が15%、英虞湾外は3が40%、2が35%、1が25%と各々100%着色していたが、着色度は漁場間でかなりの差を生じていた。10月15日になると湾内は4が35%、3と2が各々25%、1が10%、0が5%、湾口は3が45%、2が40%、1が15%、湾外は3が57%、2が19%、1が14%、0が10%と漁場間差は変化しており、濃くなる傾向がみられる反面、湾内と湾外で退色する兆も現れていた。一方、浅茅湾内へ沖出したB群の稚貝は、6月23日は総て無着色であり、8月24日には90%が無着色であったが着色度1が10%あり、着色の兆しを現し、10月27日は2が15%、1が35%と着色率、着色度ともに増加する傾向を示した。しかし50%が無着色であり、着色しても2以下であった。

以上の結果からわかるように、病貝の両親から生まれたA群の稚貝も健常貝の両親から生まれたB群の稚貝も、英虞湾内へ沖出しすると感染・発症率が著しく高く、貝柱の着色率や着色度は相互に非常に類似した変化を示しながら推移した。しかし、三重県志摩海域内でも漁場が異なると着色率も着色度も異なってくる。すなわちアコヤウイルスは水平感染し、感染率は漁場によって大きく異なっており、また海況の違いが貝柱の着色すなわち発症率と病状に大きく影響していると言えよう。

ところが、浅茅湾内漁場へ沖出したA群とB群の稚貝の着色率には、無視できない差が認められ、種苗生産行程における条件（親の性質や保菌、飼育水の汚染や水温など）の差によって、この行程でも感染し、沖出し後の感染・発症率に差を生ずる可能性を完全には否定できない。また、A群とB群を養成した漁場がわずかに離れており、流れに差があると言う。いずれにせよ、生殖細胞を介した垂直感染の可能性については、ウイルス分離検査などによって明らかにされねばならないが、感染・発症に要する期間に関する疫学調査^{3),4)}と比較すると、今回の試験結果は垂直感染の可能性が非常に小さいと言える。



図4 親貝(B群)能登産天然貝雌(上)雄(下) 1998.3.13

1.4 発症成貝と85日間同居させた試験区の着色度の推移

健常貝の両親から生まれたB群の稚貝を赤褐色に発症した成貝と85日間同居させた後、20個体ずつ割って貝柱着色度の経時変化を追跡調査し、1.3の試験区と比較して図1に図示し、感染から発症(着色)に要する日数(潜伏期間)を推測し、また病貝からの水平感染状況を調べた。

85日間の同居を終えた8月8日の時点では同居試験区の貝柱は着色しておらず、英虞湾内へ4月26日に沖出したB群の試験区(対照)の貝柱と特に差を認められなかった。ところが、試験終了後の8月8日に英虞湾内へ沖出した同居試験区のB群は、27日後の9月4日には着色度4が44%、3が31%、2が19%、1が6%となり、総て着色しており、英虞湾内へ131日間沖出しされていた試験区(対照)のB群よりも濃く着色した個体の比率が高く、貝の状態(肉質や貝殻端先など)もかなり悪かった。10月15日になると状態の悪かった赤褐色個体が死んだためか、着色度4が30%と減り、3が40%と増え、2が20%、1が10%となり、対照と同様に4と3に着色した個体が60%以上を占めていた。

もし同居させた直後に感染したと仮定すると、感染から発症までに112日間要したことになるが、86日目以降112日目までの比較的短い26日間に急激に発症し、病状は悪化したことになる。この結果は、疫学調査^{3),4)}から推測されている感染から発症までの潜伏期間の約3ヵ月間とはほぼ一致している。また、感染力は強力であり、着色度4いわゆる赤褐色個体と一緒に同居させると簡単に感染することがわかる。

2. ウイルス分離状況から見た垂直感染と水平感染

2.1 使用した親貝からのウイルス分離状況

交配に使用した親貝と同じロットから、愛媛県産天然貝雌5個体、対馬産天然貝雄5個体、および能登産天然貝雌3個体、雄3個体を各々無作為に抽出し、個体別に貝柱を磨砕、0.45 μmポアサイズのフィルターで濾過、常法に従ってEPC細胞に接種・培養してウイルス分離検査を行った。また、交配に使用した能登産天然貝雌雄各1個体の凍結試料についても分離を行った。

ウイルス分離培養の結果、愛媛県産天然貝および対馬産天然貝の各1個体がプラス反応を示し、能登産天然貝は総てマイナス反応を示した。これらの結果を試験1で述べた貝柱着色度の目視観察結果と比較し、愛媛県産天然貝および対馬産天然貝はウイルス感染・発症貝(保菌者)であり、能登産天然貝は健常貝(非保菌者)とみなした。

2.2 生産した種苗からのウイルス分離状況

愛媛県産雌親と対馬産雄親、および能登産雌親と雄親の集団交配により生産した、A群およびB群の稚貝を各々5月7日までパンライト水槽で飼育し、組織培養用蒸留水により十分に洗浄した後、貝殻ごと磨砕、濾液を常法に従ってEPC細胞に接種培養した。

その結果、沖出し前のA群およびB群の稚貝はともにウイルス検査マイナス反応を示した。詳細な基礎研究を待たねばならないが、1.3や3.3の結果と関連づけて考察してみると、A群のように病貝から生まれた子供が生殖細胞を介して親子間で垂直感染する可能性は少ないと思われる。すなわち、両親に健常貝を使用すれば勿論のこと、病貝を使用したとしても交配、洗卵、飼育水などに十分に注意を払えば、ウイルスに感染していない種苗を生産できる可能性のあることを示唆していると言える。しかし実際には、病貝を親貝として種苗生産施設に持ち込めば施設を汚染するので、健常種苗を安定生産することはできないから健常な親貝を使用することが望まれる。

2.3 異なる養成漁場へ沖出し後のウイルス分離状況

英虞湾および浅茅湾内へ沖出したA群およびB群の試験区について、1.3で行った貝柱着色度の目視観察時に適当数の稚貝を採集し、肉質部の磨砕、濾液の接種培養を行った。

その結果、4月に英虞湾内へ沖出したA群およびB群は、貝柱の着色がともに認められなかった6月にウイルス分離検査マイナス反応を示したが、貝柱が赤褐色に着色した9月以降の2度の検査ともプラス反応を示した。また、5月に英虞湾口へ沖出したB群は、貝柱が褐色に着色した9月以降の2度の検査ともプラス反応を示したのに対し、湾外へ沖出したB群は、貝柱が褐色に着色した9月以降の検査でもマイナス反応であった。一方、5月に浅茅湾内へ沖出したA群およびB群は、貝柱の着色はみられたが着色度は2以下であり、ウイルス検査は沖出し後も一貫してマイナス反応を示した。ここでプラス反応を示したA群とB群を比較すると、A群が常に強く反応する傾向を示した。

以上のウイルス分離培養結果を図1に加え、貝柱着色率および着色度の経時推移と比較してみると、両者の関係はよく一致していることがわかる。

2.4 同居試験区からのウイルス分離状況

同居試験終了時の稚貝のウイルス分離検査を行わなかったことは大きな手落ちであった。同居試験区のB群は、沖出し27日目の9月4日に着色度4と3を合計すると75%を占め、4月に英虞湾に沖出したA群の60%およびB群の70%をすでにうわまわり、1.3で指摘したように貝の状態は総ての試験区中で最も悪化し、赤褐色に発症した成貝との同居効果が強く現れていた。このことを裏付けるかのように、同居試験区のB群は9月4日ウイルス分離検査で4月に英虞湾へ沖出した試験区のA群と同じ強さでプラス反応を示し、10月15日検査ではA群よりも強いプラス反応を示した。なお、4月に英虞湾へ沖出した試験区のB群は9月4日検査以降プラス反応を示したが、A群より反応は弱い傾向を示した。

3. 貝柱着色とウイルス分離から見た感染と発症

3.1 着色度とウイルス分離の比較

貝柱の着色率や着色度とウイルス分離培養結果を比較してみると、4.赤褐色に着色した個体の多くはプラス反応を示したが、2.淡褐色～黄色および1.淡黄色に着色した個体ではマイナス反応を示し、3.褐色に着色した個体はプラス反応あるいはマイナス反応を示した。

これまでの疫学調査⁴⁾でも、貝柱などの筋肉組織が赤褐色に着色した個体をのぞくと、着色度とウイルス分離結果とは検査時期によっても異なり、必ずしも対応していない。また、現在は貝柱の着色をもって発症とし、感染貝を健全貝から識別する指標にしているが、着色はアコヤガイの抵抗力、主として体力とウイルス活性化に深く関与する水温によって左右され、感染すなわち着色とは限らない。むしろ、感染してから着色物質が新生され、筋肉組織が着色するまでには、1.4でも指摘したように約3ヵ月間の長い月日を要する。したがって、赤褐色貝が次々にへい死し、ウイルス粒子が盛んに放出される9月以降は、貝柱着色度と関係なくウイルス分離検査⁴⁾でプラス反応を示すようになるかと推測される。

報告者がすでに基本対策として提言した項目⁴⁾を履行するためには、着色すなわち発症にかかわる感染を早期発見できる手法、例えばアコヤウイルスの接種培養技術を改善して発症前に感染を発見できるように精度をあげたり、アコヤウイルス用プライマーを開発することにより、感染貝の早期発見・除去・焼却を行える技術開発をする必要がある。ところが、現在の真珠生産業界は

感染症に対する基本対策を軽視し、試行錯誤的に当面对策にのみ走り、真珠生産業界の総力を挙げて基本対策として何を行うべきか、また当面对策として何を行ってはならないのかの討論が欠落している点に問題がある。

3.2 沖出し漁場の水温と発症状況

試験稚貝を沖出し養成した英虞湾内漁場および浅茅湾内漁場における沖出し日と調査日の2m層の水温を比較して表1に示した。

表1 試験中の沖出し漁場間の2m層水温(°C)の比較

年月日	1998年											
	4/20	4/26	5/8	5/15	6/4	6/23	7/21	8/8	8/24	9/4	10/15	10/27
英虞湾内	18.6	19.6	20.6	19.4	22.1	23.4	26.1	28.9	28.8	27.5	23.3	20.6
浅茅湾内	17.6	17.3	19.0	19.0	21.4	21.0	25.8	27.3	28.2	27.4	23.5	22.4

表2 沖出し後5月以降の月別概算積算水温と調査期間中の積算水温(°C)

試験区	月(間)							
	5月	6月	7月	8月	9月	10月	5月8日~9月4日	5月8日~10月27日
英虞湾内漁場試験区 ^{*1}	646	683	811	894	782	738	2,992	4,313
浅茅湾内漁場試験区 ^{*1}	600	636	749	860	776	757	2,813	4,145
	775 ^{*2}	636	749	860	776	757	2,948	4,280
同居試験区	400 ^{*3}	750 ^{*3}	775 ^{*3}	839 ^{*4}	782	738	2,868	4,189

*1 沖出し漁場の各月の概算積算水温。

*2 水槽飼育時の積算水温。

*3 同居試験中の各月の積算水温。

*4 同居試験(～7日)と沖出し漁場(8日～)との積算水温。

表3 沖出し漁場の20°C以上の積算水温と養殖貝のへい死との関係

漁場	月					
	5月	6月	7月	8月	9月	10月
英虞湾内	646	1,329	2,148	3,034	3,816	4,554
浅茅湾内		636	1,385	2,245	3,021	3,778

* 太枠は養殖貝のへい死が目立ってきた月。1998年の養殖貝のへい死は英虞湾内漁場では8月中～下旬頃から、浅茅湾の一部沖合海域では9月中旬頃から目立ってきた(聞き取り調査)。

A群およびB群の稚貝は沖出し前は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ で採苗場内水槽で飼育されており、英虞湾内漁場へは水温が $18.6 \sim 19.6^\circ\text{C}$ の4月に、浅茅湾内漁場へは水温が 19.0°C の5月に沖出した。 20°C 以上に上昇したのは英虞湾内漁場は5月上旬、浅茅湾内漁場は6月上旬と推測できる。その後、 $28 \sim 29^\circ\text{C}$ の高水温に達した8月下旬までは、英虞湾内漁場が浅茅湾内漁場よりも1ヵ月ほど先行しながら上昇し続けている。9月上旬以降10月中旬までの両湾の水温は同じ温度を示しながら下降し、10月下旬は浅茅湾内漁場の水温がむしろ高い傾向を示した。

2齢貝の疫学調査⁴⁾によると、宇和海漁場では水温が 20°C を越えて2～3ヵ月を経過する7月頃から赤褐色に着色した個体が現れ、その後2～3ヵ月以内、水温にして $23 \sim 28^\circ\text{C}$ の時期

に赤褐色の個体が全体の30～60%と激増し、大量へい死が始まると指摘されている。今、各試験区について20℃以上の水温を積算して表2に示した。試験中の20℃以上の積算水温は、英虞湾内漁場試験区が最も高く、次に浅茅湾内漁場試験区であり、同居試験区が最も低い。それにもかかわらず、第2回目調査の9月4日には同居試験区は英虞湾内漁場試験区と同様に100%発症し、病状は最も悪化していたのに対し、第3回目調査の10月27日でも浅茅湾内漁場試験区の発症率は10%と低く、病状は着色度2どまりであった。このことは、感染するかどうかは沖出し養成漁場のウイルス汚染度によって決まり、水温は発症率や病状悪化に深く関係しているにすぎないと言えよう。すなわち、水温はアコヤウイルスの活性化(増殖)を促進あるいは抑制する因子として強く作用し、アコヤガイの生理活動が冬眠状態になる水温13℃以下³⁾で強く抑制されているが、水温の上昇に伴ってアコヤウイルスは活性化し、水温20℃を境に高温側で爆発的に活性化し、20℃以上の積算水温が3,000℃に達する頃には病状は悪化し、大量へい死が始まる(表3)。

3.3 感染と沖出し養成漁場のウイルス汚染度

図1からわかるように、健全な種苗を生産できたとしても、健全な稚母貝が養成できるとは限らない。健全な種苗が感染して病気になるかどうかは、沖出し養成した漁場がアコヤウイルスで汚染されているかどうかによって先ず決まっている。例えば、発症率や病状悪化状況、ウイルス分離培養結果からわかるように、英虞湾内漁場は宇和海漁場に匹敵するほどにアコヤウイルスの汚染度は進行してしまっただと思われる。アコヤウイルスの活性化に適した水温に達すると、出現水温状況によっても大きく異なるが、約3ヵ月から4ヵ月で感染貝は発症し、病状が急速に悪化する。一方、今回沖出した浅茅湾内漁場のアコヤウイルス汚染度は軽度と思われるが、決して油断できない。何故ならば、アコヤガイ体内に侵入したウイルス粒子数が少なくても、活性化適量になると徐々に増殖し、発症率が増え、病状も悪化する傾向を示しているからである。

すなわち、感染はアコヤウイルス粒子が漁場にどのくらい存在しているかによって決まっており、水温は感染・発症率や病状の促進あるいは抑制因子として作用していると思われる。言葉を換えて言えば、アコヤウイルス粒子がアコヤガイへ侵入する危険度は、漁場がアコヤウイルスによってどれだけ汚染されているかによって決定され、特にウイルスに感染・発症した病貝(養殖アコヤガイおよび天然アコヤガイ)が漁場にどれだけ収容され、近くに生息しているか、そしてアコヤウイルス粒子が海水中にどれだけ放出され拡散されるか、また感染され易い条件、例えば密殖や貝の体力減退程度によって決定されている。このことは赤褐色成貝と同居させた稚貝の感染・発症率が100%で、しかも病状が急速に悪化し、試験区中で最悪になることから推測される。また、漁場では流向などがウイルスの拡散と感染に深くかかわっている。

3.4 潜伏期間と積算水温

同居試験区の試験日や漁場試験区の沖出し日から調査日までの日数と積算水温を比較し、感染から発症までの潜伏期間と積算水温との関係を検討してみた。

1.4および2.2で指摘したことを根拠として、A群とB群の稚貝はともに健全であり、同居試験開始日に病貝から感染したと仮定する。同居試験区のB群の稚貝は、85日間の同居試験を終了した8月8日に英虞湾内漁場へ沖出した日までの積算水温は2,100℃で、まだ着色は認められなかったが、27日後の試験開始から112日目の第2回目調査の9月4日、積算水温にして2,843℃で100%発症し、病状も最悪となっており、第3回目調査の10月15日、積算水温にして4,161℃、漁場水温23.3℃まで同様の症状が続いていた(図1)。英虞湾内漁場へ4月20日に沖出したA群および4月26日に沖出したB群は、沖出し後39～45日目の6月4日の第1回目

調査、積算水温にして790～905℃では発症は認められなかったが、131～137日目の9月4日の第2回目調査、積算水温にして3,188～3,303℃で100%発症し、病状も悪化していた。これに対して、浅茅湾内漁場へ5月15日に沖出したA群およびB群は、沖出し後38日目の6月23日の第1回目調査、積算水温にして825℃では発症は認められなかったが、100日目の8月24日の第2回目調査、積算水温にして2,361℃、漁場水温28.2℃で10%程発症し始め、164日目の10月27日の第3回目調査、積算水温にして4,626℃、漁場水温22.4℃で発症率は50～80%と増加していたが、病状は着色度で2以下、ウイルス分離検査はマイナス反応であった(図1)。

すなわち、浅茅湾内漁場試験区は沖出し後100日目、積算水温2,361℃、水温28.2℃で10%発症し、病状は着色度で1、英虞湾内漁場試験区は沖出し後131～137日目、積算水温3,188～3,303℃、水温27.5℃で100%発症し、病状は着色度4と3の合計で60～70%、同居試験区は沖出し後112日目、積算水温2,843℃、水温27.5℃で100%発症し、病状は着色度4と3の合計で75%であった。3試験区を比較してみると、漁場試験区も沖出し後すぐに感染していると思われること、健全貝は積算水温で2,300℃程で発症し、2,800℃程で病状は最悪状態にまで進行し、3,000℃を越える頃からへい死し始めると推測される。したがって、感染から発症までの潜伏期間は水温に依存し、水温が高ければ高いほど短くなると考えられる。例えば、潜伏期間は水温20℃で115日間(3.8ヵ月)、25℃で92日間(3ヵ月)、28℃で82日間(2.7ヵ月)となり、病状が悪化するには20℃で140日間(4.6ヵ月)、25℃で112日間(3.7ヵ月)、28℃で100日間(3.3ヵ月)であり、疫学調査^{3),4)}とよく一致している。また、へい死が始まるには20℃で150日間(5ヵ月)、25℃で120日間(4ヵ月)、28℃で107日間(3.6ヵ月)程となる。この概算は、アコヤウイルスの活性は水温20℃以上で活発になると仮定すると、実際の真珠養殖漁場で起こっている発症、病状悪化、へい死などの時期とよく一致している(表1～3)。アコヤウイルスの活性は13℃以下で強く抑制され、20℃よりも低温側で養成すれば、積算水温が低減できるので、それだけ発症や病状悪化を遅らせることはできる。

3.5 貝柱褐色化アコヤガイのへい死メカニズム

これまでの病理組織研究^{1),2)}、疫学調査^{3),4)}や生理研究⁶⁾は、貝柱褐色化アコヤガイのへい死メカニズムとして筋細胞の病変による摂食機能および呼吸機能の障害を主な原因と指摘している。これらの機能障害によってアコヤガイは衰弱し、特に高水温時期に大量へい死する。さらに、着色メカニズム⁷⁾の詳細な研究を行い、着色に関係している生体内反応過程で生成する物質がアコヤガイに及ぼす影響を明らかにする必要がある。

4. アコヤガイの種苗生産および稚母貝生産に関する検討

3.3で指摘したように、健全種苗を生産できても、健全稚母貝の養成が非常に難しくなっている。その大きな原因は、基本対策として何を行うべきか、また当面対策として何を行ってはならないかの議論が、生産者間で欠落しているからである。

4.1 種苗生産上の注意

健全種苗の生産は可能である。しかし残念なことに天然種苗も人工種苗も健全に稚母貝に養成できる漁場がなくなりつつある。病貝が漁場に多数いればいるほど健全な種苗を作ることは困難である。天然採苗漁場の現状から考え、健全な天然種苗を生産するには何を行ってはならないかを議論し、得られたコンセンサスを実行することであろう。一方、健全な人工種苗は1.3で指摘したことをきめ細かく配慮することによって生産は容易にできると思われる。ここで親貝を無茶

苦茶に交配することにより遺伝資源を失う危険性があるので、日本のアコヤガイが何故して弱体化してしまったかを参考にして2度とこのようなことをしないように努力することであろう。大切なことは健全な日本の遺伝資源を確実に保存し、日本種アコヤガイの健全種苗を生産することである。そのことがウイルス汚染漁場の再生にとっても一番大切なことである。

4.2 稚母貝生産上の注意

3で指摘したように、感染・発症率、病状悪化は漁場によってかなり異なる。感染するかどうかは漁場のウイルス汚染度によって決まり、感染率は病貝の密度（疎殖養殖の勧め）によって主に決まる。水温は発症率や病状悪化の促進あるいは抑制因子として作用している。したがって、感染貝や発症貝などおかしな貝を漁場に持ち込まないことが基本となる。もし誤って感染貝や発症貝を漁場に持ち込んでしまったら、早期発見・除去・焼却することが正しい処置である。

アコヤウイルスは水温20℃を境に高温側で活性化し、積算水温が3,000℃に達する頃には病状は悪化し、へい死が始まる。感染から発症までの潜伏期間や発症後の病状悪化は20～29℃の間では高温になればなるほど加速化する。貝柱着色による発症は積算水温2,300℃を越す頃から比較的短い日時でおこるから、発症していなくても貝の状態をきめ細かく観察して必要な処置あるいは扱いをするとよい。水温13℃以下においたからと言ってウイルスが不活化することはなく、発症を遅らせるにすぎない。1齢貝よりは2齢貝、2齢貝よりは3齢貝と加齢するに伴い、前年に病状をどこまで悪化させたかによって、発症と病状悪化が加速化していることは、そのことを物語っている。そして今一番必要なことは、漁場をウイルス汚染させない努力と、漁場のウイルス汚染度を低減させるために、また20℃以下での真珠の巻きは著しく悪いことを克服するために、真珠養殖当面对策⁹⁾のできるものから地道に工夫する努力にとりかかることである。

4.3 珠貝養殖上の注意

基本的には稚母貝生産と同じことに注意し、病状が着色度で3以上になったならば除去・焼却するのがよい。アコヤウイルス感染症の特徴を正しく認識し、病状を悪化させないよう（健康養殖の勧め）にするだけでなく、日本のアコヤガイ真珠ブランド⁸⁾の特徴とは何か、その特徴はどうしたら養殖できるかをよく考えて戦術を立て、実践しながら漁場のウイルス汚染を低減させ、真珠養殖の再構築を図らなければならない（科学的養殖管理の勧め）。

要 約

1. アコヤウイルスは生殖細胞を介して親子の間で垂直感染するのかどうか、環境水中に放出されたウイルスが感染するのかを明らかにする目的で、病貝（保菌者）の雌雄（両親）あるいは健全貝（非保菌者）の雌雄（両親）の集団交配で生まれた稚貝（子供）をそれぞれ英虞湾内および浅茅湾内へ沖出し、貝柱の着色率、着色度およびウイルス分離培養などの比較追跡調査を行った。なお、健全な親貝から生まれた稚貝については英虞湾口、英虞湾外にも沖出し、また病貝との同居試験を行い、追跡調査を行った。
2. 病貝から生まれた稚貝も健全貝から生まれた稚貝も英虞湾内へ沖出しすると、感染・発症率は著しく高く、病状（着色度など）は急速に悪化し、またウイルス分離状況も互いに非常に類似していることから、感染・発症率は漁場のウイルス汚染度、主に病貝の収容密度によって決まってくると考えられる。このことは同居試験などからも推測される。
3. 病貝から生まれた稚貝も健全貝から生まれた稚貝も浅茅湾内へ沖出したものは、感染・発症

率は低いことから、アコヤウイルスは生殖細胞(卵子・精子)を介して親から子へ垂直感染している可能性は小さいと思われる。垂直感染に関しては更に詳細な研究を行って確認する必要がある。

4. 稚貝は病貝と同居直後および沖出し直後に初感染し、3～4ヵ月後に発症(着色)した。
5. アコヤウイルスは水温20℃以上で活発に増殖し、30℃までは水温上昇に比例して加速的に増殖した。一方、水温が20℃以下に下降するにもなって増殖は抑制された。
6. 初感染した1～2ヵ月齢の稚貝は、20℃以上の水温積算値が2,300℃程で発症し、2,800℃程で病状は最悪状態にまで進行し、3,000℃を越す頃から大量へい死が始まる。以上のように、感染、発症、病状悪化、死亡はともに水温に強く依存している。
7. 本試験調査結果から概算すると、潜伏期間は水温20℃で115日間(3.8ヵ月)、25℃で92日間(3ヵ月)、30℃で77日間(2.5ヵ月)となり、病状悪化は20℃で140日間(4.6ヵ月)、25℃で112日間(3.7ヵ月)、30℃で93日間(3.1ヵ月)であり、大量へい死が始まるには20℃で150日間(5ヵ月)、25℃で120日間(4ヵ月)、30℃で100日間(3.3ヵ月)程となる。
8. 8月から10月における貝柱着色度とウイルス分離培養との関係は、着色度4の総ての個体でウイルス分離培養プラス反応、着色度2と1の個体はマイナス反応、着色度3の個体はプラス反応あるいはマイナス反応を示した。このことから、アコヤウイルスの増殖期にはウイルス増殖に連動して病巣悪化と貝柱着色度が進行していると推測され、日本種アコヤガイでは着色度を指標に使って病状を示すことができる。

参 考 文 献

- 1) 宮崎照雄・後藤久仁子・小林立弥・片山泰伸 1998. 大量斃死に関わる異常アコヤガイの電顕観察とアコヤウイルス(仮称)の分離. 平成10年度日本魚病学会春季大会講演要旨, No.21.
- 2) 宮崎照雄 1998. 養殖真珠貝の大量へい死を起こすアコヤウイルス病. 月刊海洋 No.14, 77-84.
- 3) 和田浩爾 1997. 貝柱褐色化アコヤガイの大量へい死に関する疫学的調査研究中間結果から. SHINJU けんきゅう No.8, 2-24.
- 4) 和田浩爾・植村作治郎・蝶野一徳 1999. 宇和海におけるアコヤガイ大量へい死に関する疫学調査. 全真連技術研究会報 14, 15-36.
- 5) 宮崎照雄・小林立弥・日高悦久 1998. アコヤウイルス(仮称)の実験感染. 平成10年度日本魚病学会春季大会講演要旨, No.22.
- 6) 黒川忠英・鈴木徹・岡内正典・三輪理・永井清仁・中村弘二・本城凡夫・中島員洋・芦田勝朗・船越将二 1998. 閉殻筋の赤変化を伴うアコヤガイ疾病の人為的感染. 平成9年度アコヤガイ大量へい死原因究明に関する水産庁研究所研究成果報告書, II-2-(6).
- 7) 中村弘二 1997. 貝柱の赤変化現象とへい死の関係の解明. 平成8年度アコヤガイの貝柱の赤化と大量へい死に関する緊急調査研究実施報告書, 18-31. 水産庁養殖研究所.
- 8) 和田浩爾 1999. 真珠の科学—真珠のできる仕組と見分け方—. 真珠新聞社.

真珠の巻きに対する漁場環境、赤変化の影響について

岩 城 秀 夫*

研究目的

真珠は漁場、海況、個人の技術等により品質に差が生じる。これらのうち、環境すなわち漁場による差は時期によってどう変わるのか、また、貝柱の赤変状況は真珠の巻きにどのような影響を与えるのか。平成10年4月から平成11年1月まで毎月試験むきをおこない、真珠の巻きおよび貝の健康度と、赤変化の指標となる色差計 a 値を調査し、環境と赤変化が真珠の巻きに与える影響について考察した。

研究方法

母貝は交流のある宇和島市下波漁協青年部から平成9年11月に13匁(約49g/個)で購入し、平成10年4月20日に挿核した。核サイズは2分3厘(直径約7.125～7.230mm)に統一した。挿核から沖出しまでは全て和具で行い、7月中旬～8月初旬にかけて、各漁場に貝を移動した。

漁場は英虞湾・和具(以下和具)と伊勢湾口・菅島(以下鳥羽)、五ヶ所湾・宿浦(以下五ヶ所)の3カ所設定した(図1)。1漁場につきそれぞれ2人が担当し、管理内容は各人の判断で行った(表1)。また各漁場の水温や珪藻の細胞数などを観測した。

試験むきは月末に行い、1担当者につき25個とした(50個/漁場)。

測定項目のうち、「直径」は真珠の3カ所の測定値平均を用い、変形珠は計測しなかった。「全湿重量」は貝内部の水を出した状態での重量、「貝柱重量」と「殻重量」は共に湿重量である。「グリコーゲン」と「卵持ち」は全国で使われている愛媛県漁連等作成のポスターを使い、目視5段階で評価した。「貝柱の赤変化」は水産技術センターの指導を受け、1漁場あたり20個の貝柱を消化管側から横断切開し、色彩色差計を用いて計測したが、研究途中で機械が故障し、新しい機種に変更せざるを得なかったため、機種の変更時にはデータが連続しないものとして扱った。

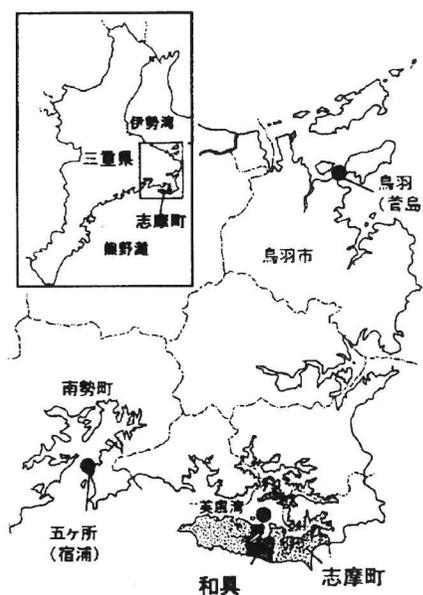


図1 漁場図

* 和具真珠青年研究会 会長

表1 各担当者の管理内容

	クリーナの回数						その他の管理		
	6月	7月	8月	9月	10月	11月	塩水処理	水処理	塩振り
97年	和具A	2	2	2	2	1	6月2回、10月1回		
	和具B	1	4	0	2	2		6月1回	
	鳥羽A	0	3	4	2	2	6、9月各1回		
	鳥羽B	2	1	3	2	2		6、8月各1回	9月1回
	五ヶ所A	0	2	3	1	0	1	6、9、10月各1回	
	五ヶ所B	0	2	3	1	0	1	6、9、10月各1回	
98年	和具1	2	2	3	2	3			
	和具2	1	2	1					
	鳥羽1	1	2	3	1				
	鳥羽2	1	3	2	2				
	五ヶ所1	1	2	4	2	2	2		
	五ヶ所2			2	0	1	1		

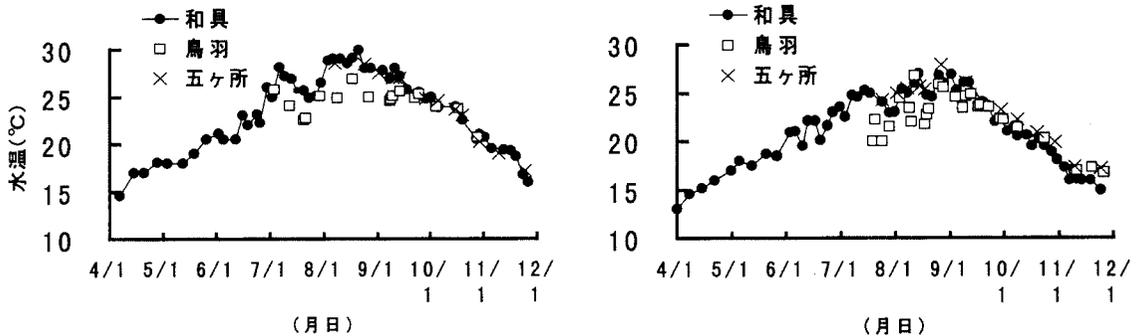


図2 平成10年(左)、9年(右)の水温(2m層)

結果と考察

○環境

・水温

各漁場における2m層の水温を図2に示した。平成10年度は平成9年度と比較して全般的に水温は高く、最高水温は和具の8月で29.9℃に達し、8～9月には和具と五ヶ所で27℃以上の水温が続いた。鳥羽は、平成9年と比較して8月後半に水温が高い日が続いた。各漁場における違いは、夏に鳥羽の水温が比較的低くなることであり、平成9年と同じ傾向であった。

ここには示していないが、平成10年は2～3月頃、沖合からの暖水波及の影響で著しい高水温であった。また、水温の低下時期も遅く、20℃を下回ったのは11月に入ってからであった。したがって、平成10年は平成9年と比較すると最高水温もさることながら、水温の高い状態が長期間続いたことが特徴であったといえる。

・餌料環境

アコヤガイの餌料となる珪藻細胞数の計数結果を図3に示した。アコヤガイを置いている間しか計数を行っていないため、五ヶ所、鳥羽ではデータ採取期間が短くなっている。和具では、珪藻細胞数は挿核後の5～6月にかけて安定していたが、7月後半～8月前半にかけて、著しく減少する事があり、不安定な状態であった。鳥羽、五ヶ所については比較的安定しており、あまり大きな差がみられなかった。

平成9年と比較すると、和具での細胞数の不安定さが目立っていた。また、春先はより早く細胞数が上昇し、秋はより遅くまで細胞数を維持していた。鳥羽と五ヶ所ではデータが不十分ではあるが、餌の面からは各漁場とも春と秋には比較的よい状態であったことが考えられる。

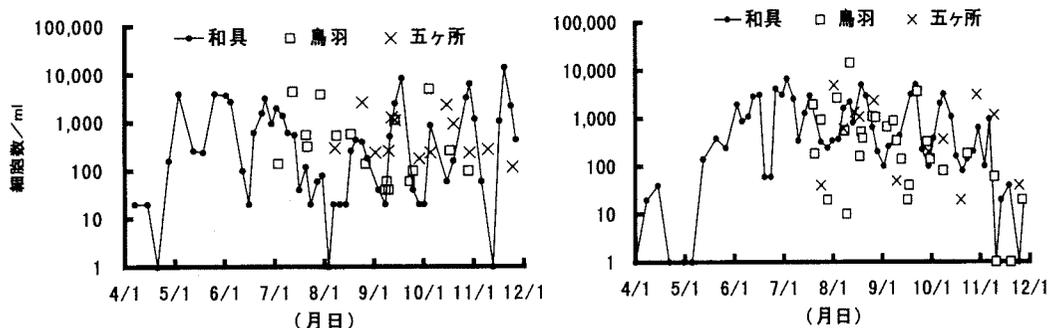


図3 平成10年(左)、9年(右)の珪藻細胞数(2m層)

○真珠の成長(図4、5)

真珠の直径(平均値)の経月変化を図4に、各月あたりの成長量を図5に示した。各漁場とも真珠の直径は7月あるいは8月まで急激に増加し、その後は緩やかに増加したが、一部の漁場では直径の減少も見られた。最大の直径は和具の11月で7.9mmであった。平成9年と比較すると、特に6～7月に成長がよく、全体的に良好な結果であった。また、11月に「五ヶ所2」、12月に「五ヶ所1」で、比較的増加量が多かった。これは11月～12月にかけて、五ヶ所の環境がよかったことが理由として考えられる。最も真珠の巻きがよい「和具2」は、9月～10月にかけて真珠の成長量が増加しつづけ、11月には一時的に巻きが止まったが、11月に塩水処理をした後、12月後半まで真珠の直径の増加が見られた。

一般に、真珠は8～9月に最も巻き、それ以降は水温低下によってあまり巻かないといわれる。平成10年は水温が高い状態が続き、比較的長期にわたって真珠の成長が継続しうる環境であったと見込まれるが、先にも述べたとおり平成9年との決定的な差は初夏にあったといえそうである。このことはつまり、水温の上昇が早かったために本来の8、9月が平成10年は6、7月に該当し、その後の緩やかな成長期間が長期にわたったという事を示しているのではないだろうか。また、11月に貝に処理を行った和具2、五ヶ所1はその後の巻きが良好であった。平成10年度は水温が高い状態が継続するという条件ではあったが、その時の貝の状態にあった手入れをすることによって、通常は真珠の成長量が低下するといわれている時期にも巻きが増加するという興味深い結果が得られた。

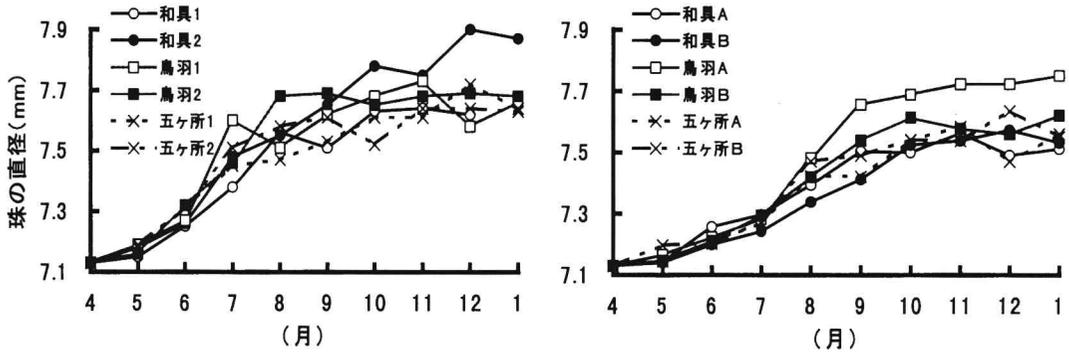


図4 平成10年(左)、平成9年(右)における真珠の直径

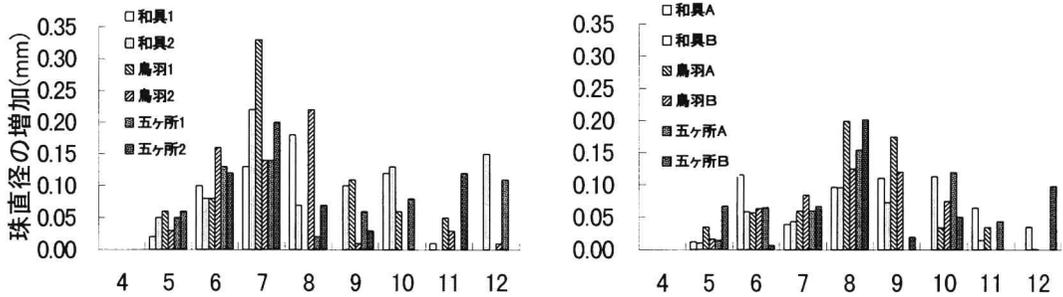


図5 平成10年(左)、平成9年(右)における月ごとの真珠成長量

○貝の成長

全湿重量の経月変化を図6に示した。12月の平均値を比較すると、平成10年は68.8g、平成9年は65.5gと平成10年の方がわずかに大きかった。また、平成10年は漁場間の差があるものの、増加傾向が研究終了まで継続していたのに対し、平成9年は11月をピークに全体が減少傾向を示した。

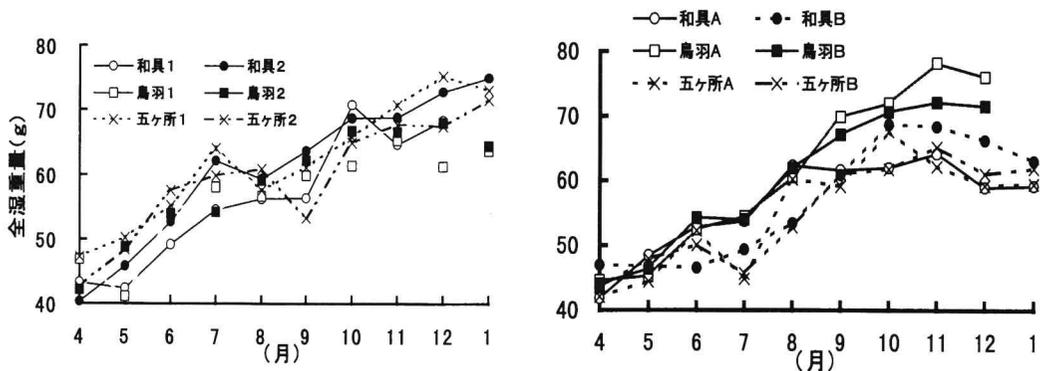


図6 平成10年(左)、平成9年(右)の全湿重量

○卵持ち・グリコーゲン（図7, 8）

卵持ち・グリコーゲンの目視5段階評価の経月変化を図7, 8に示した。平成10年度の卵持ちには明瞭な季節変化が認められ、5～7月にピークを迎えた後減少し、以降は低い水準で推移した。平成9年度にはこのような傾向は見られなかったが、真珠の巻きという面から考えれば、平成10年度は平成9年度と比較して生殖巣を発達させるエネルギーを無駄に使っておらず、集中して真珠層形成を行っていた可能性がある。

平成10年度のグリコーゲンは、6月から増加を開始したが、著しく上昇することなく総じて低調であった。特に、五ヶ所1、2と和具1は9月に著しく減少した。平成9年度の方が全体的にグリコーゲンの値が大きいのが、増加開始時期は8月あるいは9月であった。平成10年のグリコーゲンに関しては、最大蓄積量は小さいが蓄積開始時期は2ヶ月ほど早かったといえる。

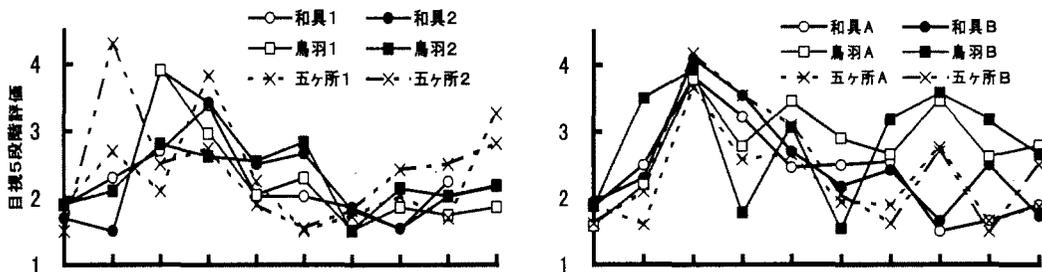


図7 平成10年(左)、平成9年(右)の卵持ち

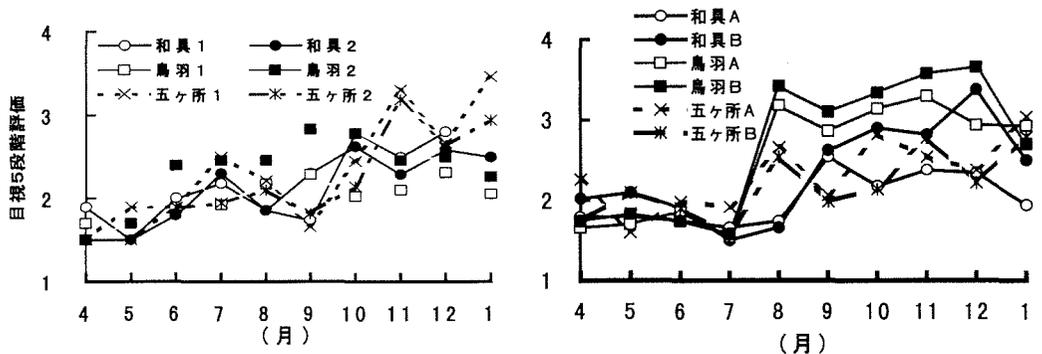


図8 平成10年(左)、平成9年(右)のグリコーゲン

○貝柱の赤変化と生残率

平成8年の大量へい死の時、主観的な色の評価では異常発生時期等の追求が難しいことに気づき、平成9年度から色を客観的に評価できる色彩差計を用い、「赤」の程度を示す「a値」の変化（数字が大きいほど赤い）について調査を行っている。平成10年、平成9年における色彩差計の「a値」の経月変化を図9に示した。なお、平成10年は9月から機種を変更したためグラフをつなげずにそれぞれの機種における増加、減少傾向を確認することとした。平成10年度はすべての漁場で7月から「a値」の値が上昇し、目視でも明らかに赤く着色していることがわかった。

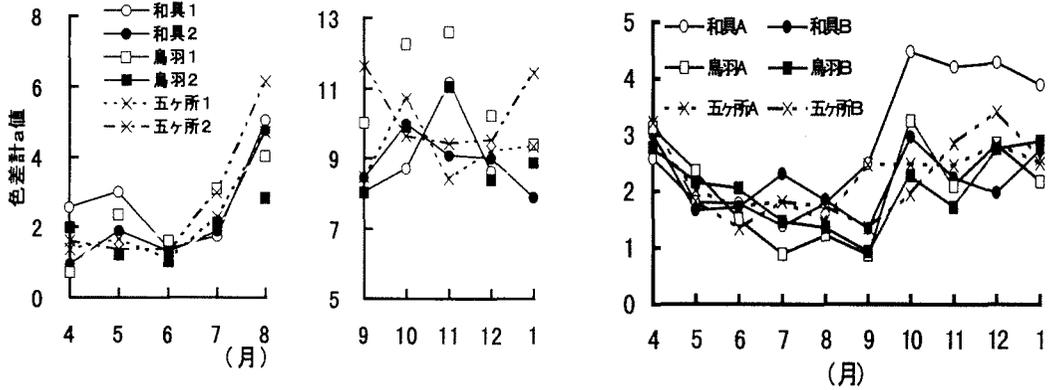


図9 平成10年(左、中)、平成9年(右)の貝柱着色度

9月以降、貝柱は赤変状態から白く回復することがなかったが、色差計の値は12月ごろからわずかに減少する場合も見られた。平成9、10年とも漁場に関係なくa値の値は変動したが、値が上昇したのは平成9年が10月であったのに対し、平成10年は7月からと3ヶ月も早かった。この結果も水温の上昇時期に起因しているものと考えられる。

平成10年度の各月における生残率の経月変化を図10に示した。各漁場ごとに一定の傾向は見られないが、貝柱の赤変化が激しくなった8月には生残率も急激に減少し、a値の減少が見られた12月には生残率も上昇した。

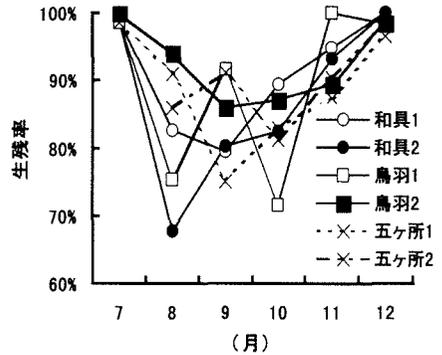


図10 平成10年における月ごとの生残率

○着色度と真珠の巻き

9月から11月までの貝柱の着色度とその珠の直径を図11に示した。平成10年度は色差計a値と真珠の巻きについて明瞭な関係は見られないようであるが、9月に限ってみれば色差計の値が高いものには直径の大きなものがない。平成9年度にはこの傾向が9～11月まで共通している。

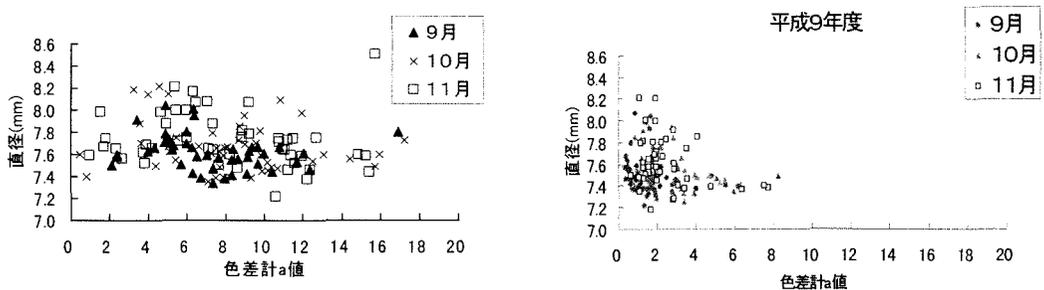


図11 貝柱の着色度と珠の直径

たが平成10年度は10、11月になると赤変化が著しく、かつ珠の直径が大きい場合があった。

貝柱の赤変化はその貝の過去の状態を表すわけではなく、また、珠の巻きも過去の積み重ねの結果であって過去にさかのぼった状態は不明であるが、平成10年度の巻きが6月から、平成9年度の巻きは8月から好調に巻き始め、特に平成10年度は6、7月の巻きが著しかったことを考えると以下のような憶測が可能である。

- ・赤変状態が深刻になった貝は真珠の巻が悪い。
- ・赤変貝のうち、10月、11月に巻きがよかった貝は赤変後に巻いたわけではなく、赤変前に十分巻いていた可能性がある。

ま と め

平成10年度の結果を簡単にまとめると以下のようなになる。

- ・冬から春先にかけて高水温であり、秋から冬にかけては水温の低下が遅く、アコヤガイにとって「目が覚めた」状態が長かった。
- ・珪藻細胞数、グリコーゲンの増加開始、真珠の巻きは平成9年より2ヶ月早く、6月には良好な状態に達した。
- ・すべての漁場で赤変化が起こり、赤変割合は平成9年より著しかった。
- ・赤変状態になると巻きは悪化するが、取り扱いによっては巻かせることも不可能ではない。特にa値が減少する12月に巻きを増加させることがある。

平成9、10年と研究を続けてきたが、当初期待していたような漁場による差というものが明確には見えてこなかった。よい珠を巻かせる条件は結局のところアコヤガイの状態をよりの確に把握し、その時々に応じた取り扱いを行う事に尽きると考えられる。今後は年間を通して漁場の環境把握につとめ、アコヤガイの体のリズムが環境条件によってどのように変化していくのかを調査していきたいと考えている。

第23回全国真珠品評会審査報告

社団法人日本真珠振興会並びに全国真珠養殖漁業協同組合連合会主催の全国真珠品評会が平成11年2月17日午後2時より全真連会議室において行われましたが、ここに審査の概要について報告させていただきます。

審査対象真珠は、全真連傘下組合の組合員で平成10年10月11日以降浜揚げされた同一地域の玄貝100貝を所属組合職員立ち会の上剥き落とし、その全量を一点として所属組合において地区予選または選抜を行い選ばれた優秀作品11点でした。

審査に先立ち、審査会前日に審査補助員である全真連事務局において、出品作品1点ごとに商品珠、スソ珠、シラ・ドクズ珠の3区分に適正に選別を行い、その後、計数、計量を行い、商品珠歩留まり率を求め、出品明細表を作成致しました。

審査は、審査員8名及び補助員3名により、別に定める審査要領に従い、商品珠出現率を参考に、品質審査として巻き、光沢、キズ、シミ、色相、形状等を勘案し、品質の良い物8点を入賞作品として選出し、最終審査は歩留まり、品質はもとより、出品物から感じられる技術力及び花珠の出現を含む総合審査として公正かつ厳正な判断のもとに選考し、合議により順位を決定しました。

審査を終わりましたことは、全国の各組合を代表する優秀作品であるため、成績が非常に伯仲しており、かつ当年物、越物、大、中、小珠、挿核個数等多岐にわたる条件のものが含まれておりますので、審査員一同、選考に大変苦慮したところです。

今回の成績ですが、まず品質面では、上位入賞作品の場合、巻きを含む全ての品質項目において前年並みであり、近年の厳しい状況を勘案しますと模範に余りある成績であったと思います。

一方、出品明細表より全出品物の挿核個数に対する商品珠歩留まり率を昨年と比較しますと、1個挿核でプラス、2個挿核で前年並みとなっており、歩留まり率のみで判断する限り前年を上回っていることになりました。

以上、成績について述べました。

最後に、平成8年度より続いている異常へい死の影響は依然として厳しい状況が続いておりますが、昨年11月には全真連主催により大分県において「大量へい死防止事例発表大会」が開催されました。その際、優良事例を発表された方の多くが今回優秀な珠を出品されたことは非常に力強く、このような時にこそ、官民一体となり、この状況下で取るべき最善の方向を検討、実行することが必要であると感じるとともに、一層の研究、技術の向上に努めることにより、今後とも日本真珠産業が発展しますことを期待致しまして審査報告の終わりとします。

審査委員代表 水産庁栽培養殖課真珠係長 城崎和義

第23回全国真珠品評会入賞者名簿

(審査 平成11年2月17日)

賞 名	出品番号	組 合	氏 名
農 林 水 産 大 臣 賞	4	長崎県	田崎真珠 株式会社
水 産 庁 長 官 賞	1	対 馬	北村真珠養殖株式会社
”	5	長崎県	株式会社 上村真珠
日 本 真 珠 振 興 会 会 長 賞	8	大分県	小 坂 琴 治
全国真珠養殖漁業協同組合 連 合 会 会 長 賞	7	大分県	戸高真珠 合資会社
全国真珠信用保証基金協会 理 事 長 賞	11	愛媛県	松 岡 幸 利
日本真珠輸出加工協同組合 理 事 長 賞	10	愛媛県	大畑真珠 株式会社
日本真珠小売店協会会長賞	9	愛媛県	浅田真珠 有限会社

第 23 回 全国真珠品評会入賞品の明細

H11. 2. 17

出品 No	組合	出品者	挿 核 数	全 量		商 品 珠		ス ソ 珠		シラドクズ		商 品 珠 歩 留 率		
				① 個 数	② 重 量	③ 個 数	④ 重 量	個 数	重 量	個 数	重 量	挿核個数 ③/挿核	浜揚個数 ③/①	浜揚重量 ④/②
4	長崎県	田崎真珠(株)	2	196	47.5	147	35.2	45	11.1	4	1.2	73.5	75.0	74.1
1	対馬	北村真珠養殖(株)	2	189	31.8	110	19.5	73	11.5	6	0.8	55.0	58.2	61.3
5	長崎県	(株)上村真珠	1	96	26.5	70	19.7	25	6.6	1	0.2	70.0	72.9	74.3
8	大分県	小坂琴治	2	146	23.6	92	14.9	50	8.4	4	0.3	46.0	63.0	63.1
7	大分県	戸高真珠(資)	2	182	16.1	119	10.9	55	4.6	8	0.6	59.5	65.3	67.7
11	愛媛県	松岡幸利	2	164	24.6	112	17.3	44	6.5	8	0.8	56.0	68.2	70.3
10	愛媛県	大畑真珠(株)	1	87	12.3	62	9.1	18	2.4	7	0.8	62.0	71.2	73.9
9	愛媛県	浅田真珠(有)	1	100	21.5	61	13.5	37	7.6	2	0.4	61.0	61.0	62.7
入賞品平均		3点	1	94	20.1	64	14.1	27	5.5	3	0.5	64.0	68.0	70.1
		5点	2	175	28.7	116	19.6	53	8.4	6	0.7	58.0	66.2	68.2
全出品平均		6点	1	97	19.7	55	11.7	39	7.6	3	0.4	55.0	56.7	59.3
		5点	2	175	28.7	116	19.6	53	8.4	6	0.7	58.0	66.2	68.2