

# 国立真珠研究所報告

15

昭和45年(1970) 5月

---

Bulletin of the National Pearl Research Laboratory

15

May 1970

# 国立真珠研究所報告 15 (1970)



## 内 容

植本東彦	アコヤガイの成長と生理的指標について.....	1863
桑谷幸正・西飯保・和田克彦	アコヤガイの生理および成長におよぼすアンモニアの影響について.....	1874
蓮尾真澄・山口一登・船越将二	挿核手術に付随した諸作業に関する研究 I. 貝立てに関する生理学的研究.....	1900
蓮尾真澄・山口一登・船越将二	挿核手術に付随した諸作業に関する研究 II. 栓差しに関する生理学的研究.....	1913
蓮尾真澄・山口一登・船越将二	挿核手術に付随した諸作業に関する研究 III. 挿核手術直後の貝の空中露出について.....	1922
阪口清次・保科利一・見奈美輝彦	アコヤガイに寄生する <i>Proctoeces</i> 属の吸虫に関する研究 I. 虫体の形態と寄生部位および罹病貝の分布.....	1931
阪口清次・見奈美輝彦・山村豊	アコヤガイに寄生する <i>Proctoeces</i> 属の吸虫に関する研究 II. メタセルカリアの最終宿主への人工感染.....	1939

# アコヤガイの成長と生理的指標 について\*†

植 本 東 彦

国立真珠研究所

真珠養殖漁場の環境要因およびその条件とアコヤガイの成長との関係について、従来、様ざまな方法によって両者を結びつけるための努力が払われてきた。とくに、貝の成長を極端に抑止したり斃死させる要因や条件が加わらず、貝の正常な成長を維持させ得ると思われる条件の漁場において、なおかつ、それらの間で貝の成長度に相違が生じるのは、一体何に起因するのかという基本的な問題が提起されている。このような成長の相違が顕われるのは、一言で云えば、それぞれの漁場における多くの環境要因とその条件が貝の生理活動の在り方を直接・間接に支配する結果であると考えられるので、これらの関係を貝の生理的な動向から解明していくために、とりあえず貝の生理状態の変化が把握でき、かつ、貝の成長と結びつけ得ると思われる二、三の生理的指標について検討することとした。これらの指標には、血球を除いた血清中の蛋白質量、非蛋白性窒素量、糖量および乳酸量ならびに杆晶体重量などを用い<sup>り</sup>、本研究所で行なわれた漁場別養殖試験と平行して貝を養殖し、上記の指標の動向と貝の成長との間に何らかの関係を見出すことができるか否かを検討した。その結果の概要を報告する。

稿を草するに当たり、終始御協力をいただいた本研究所漁場環境研究室長桑谷幸正博士、西飯 保技官、山村 豊技官に感謝の意を表す。

## 材料および方法

血液採取用のアコヤガイには、三重県産満2年生母貝を用い、本研究所において行なった昭和43年度漁場別養殖試験と平行して、5月14日に多徳島臨海実験場地先から、図1に示した8定点の筏に、それぞれ120個宛垂下養殖し、6月から11月まで各月の中旬に各定点から臨海実験場に持ち帰り、その中から各群20個ずつを取出して血液の採取を行ない、残りのものは貝掃除の後にそれぞれの定点に戻した。血液の採取は露出させた心室に直接注射針を刺し、1個体当たり平均0.5 ccを採取した。採取した血液は氷冷した遠心管に集め

\* Haruhiko Uemoto. Relationship between the physiological indicator and the growth of the pearl oyster, *Pinctada fucata*. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 15: 1863—1873. 1970

† 国立真珠研究所業績 No.186. (国立真珠研究所報告15: 1863—1873. 昭和45年5月)

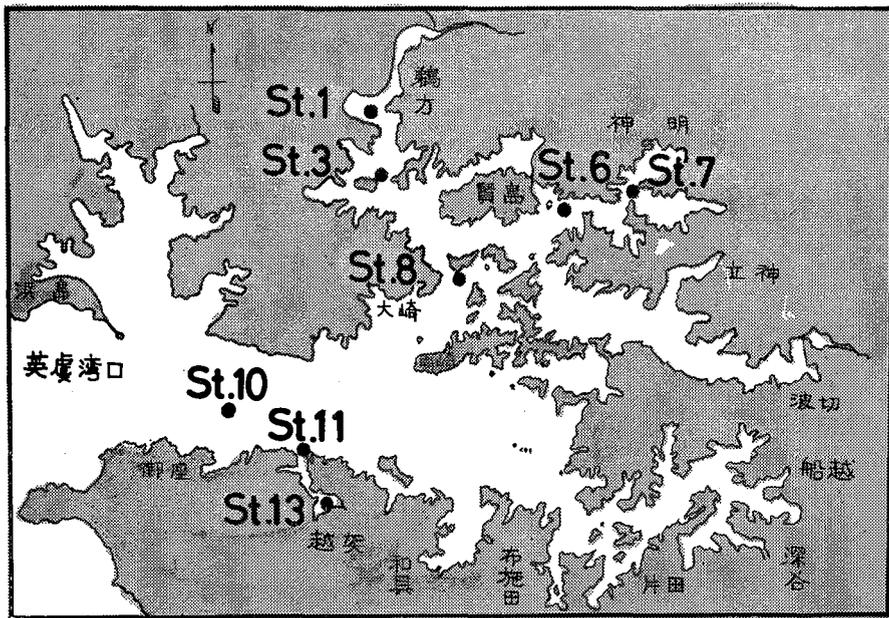


図1. 試験地点

St. 1: 鶴方地区湾奥部, St. 3: 同湾口部, St. 6: 神明地区湾口部,  
 St. 7: 同湾奥部, St. 8: 多徳島地先, St. 10: 御座地区地先,  
 St. 11: 越後地区湾口部, St. 13: 同湾奥部

て遠心し、血球を除いて管瓶に移して  $-20^{\circ}\text{C}$  に凍結保存した。これらの血清は用いて臨み融解され、次の諸元につき分析された。

血清蛋白質の定量にはビューレット法を用いた。除蛋白剤には、前報<sup>1)</sup>ではRAPPAPORTの非蛋白性窒素の分析に用いる除蛋白剤を使用した。アコヤガイの血清に 1:1 あるいは 1:2 の割合で用いても蛋白沈澱量が少ないため、FOLIN-WU の除蛋白法に変更し、その濃度を稀くして用いた。すなわち、1%のタングステン酸 1 ml に血清 1 ml を加えて混合し、 $\frac{n}{15}$  硫酸 (0.2 g/dl の割合に硫酸カドミウムを加える) の 1 ml を加えて攪拌し、数分後に遠心した。上清を非蛋白性窒素の測定に使用し、沈澱を  $\frac{1}{5}$  飽和炭酸ナトリウム溶液 5 ml に溶解した後ビューレット試薬 1 ml を加えて、 $50^{\circ}\text{C}$  に 10 分間加温してから放冷し、分々度計の  $330\text{ m}\mu$  を用いて比色した。標準液は仔牛血清アルブミン標準液 (第一製薬) を用いて作製した。

非蛋白性窒素の定量には RAPPAPORT の方法<sup>2)</sup>を用いた。タングステン酸法による除蛋白の後、その上清 2 ml を脱 N 剤 5 ml 中にとり、 $25^{\circ}\text{C}$  に 10 分以上静置してから測定した。

糖量の定量は従来行なわれている HAGEDORN-JENSEN の血糖測定法では遊離グルコースが極めて少ないアコヤガイの血液には向かないので、フェノール硫酸法<sup>3)</sup>によって全ヘキソース量を測定することとした。血清 0.5 ml をとり、これに水 0.5 ml、5% フェノール 1 ml を加えてから濃硫酸 5 ml を急速に加えて放置し発現した黄橙色を  $490\text{ m}\mu$  で比色した。

基準液にはガラクトース・マンノース等量混合液を用いた。

乳酸の定量にはパラオキシジフェニルによる比色法<sup>4)</sup>を用いた。但し、本実験では除蛋白および除糖には CONWAY<sup>5)</sup>の方法を用いた。

杆晶体重量の測定は、血液採取後の貝の腸管から取出した杆晶体の粘液等を取去り、ポリエチレンの小袋に密封して凍結保存し、後日秤量した。

貝の成長量は、先に述べた漁場別養殖試験において測定された結果<sup>6)</sup>を用いた。測定値は水中重量であり、各個体が測定日から次の測定日まで成長した重量をその間の日数で割り、日間成長量として比較した。示された数値は各群50個体の平均値である。

### 実験結果

血清成分そのほかの実験結果の比較は、主として各枝湾の湾口部と湾奥部の2点に養殖された群の間でおこなうこととして、図2以下に示した。St. 8とSt.10とは英虞湾の湾口部と湾奥部の比較の意味をもっている。

血清蛋白質量：鵜方地区（湾奥部 St. 1, 湾口部 St. 3, 図2）では8, 10月に2群間の開きが大きくなっているほかは、両者の間に著しい値の相違はない。神明地区（湾口部 St. 6, 湾奥部 St. 7）でも同様に値の相違が少ない。湾口部では春および秋にやや湾奥部より値

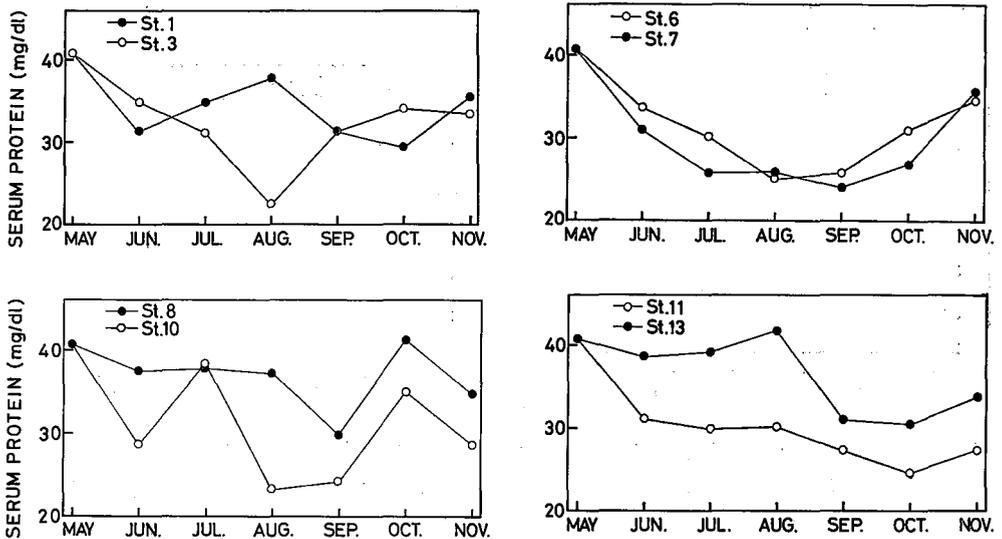


図2. 血清蛋白質量の変化

○—は湾口部, ●—は湾奥部の定点の貝における値を示す。なお、5月の値は多徳島地先における実験開始時の値を示した（以下図8まで同じ）。

が大きくなった。英虞湾々口部 St. 10と湾奥部 St. 8（多徳島臨海実験場地先）とを比較すると、7月を除いて両群間には差があり、St. 8群の値が殆んどの場合 St. 10群より大きい値を示した。越賀地区（湾口部 St. 11, 湾奥部 St. 13）でも同様に終始 St. 13群の値が高く、かなりの差を生じた。

血清非蛋白性窒素：St. 1 群と St. 3 群との比較では 9、10 月を除き湾口部の St. 3 群の値がやや多い値を示して推移している。神明地区の St. 6 と St. 7 の両群の動向は 8 月および 11 月を除き殆んど同じ変化を示した。両群が 8 月に特に大きな値を示しているが、その理由は不明である。このような傾向は越賀地区の St. 11 および St. 13 にもみられ、St. 7 と極めてよく似た推移を示している。両群の間には殆んど差がみられなかった。St. 8 と St. 10 との比較では、8 月まで両群の値は殆んど変りないが、9、10 月に St. 10 の値が大きく増加している。

血清蛋白質量と非蛋白性窒素量の比：体内における蛋白質代謝がその収支の上で、プラ

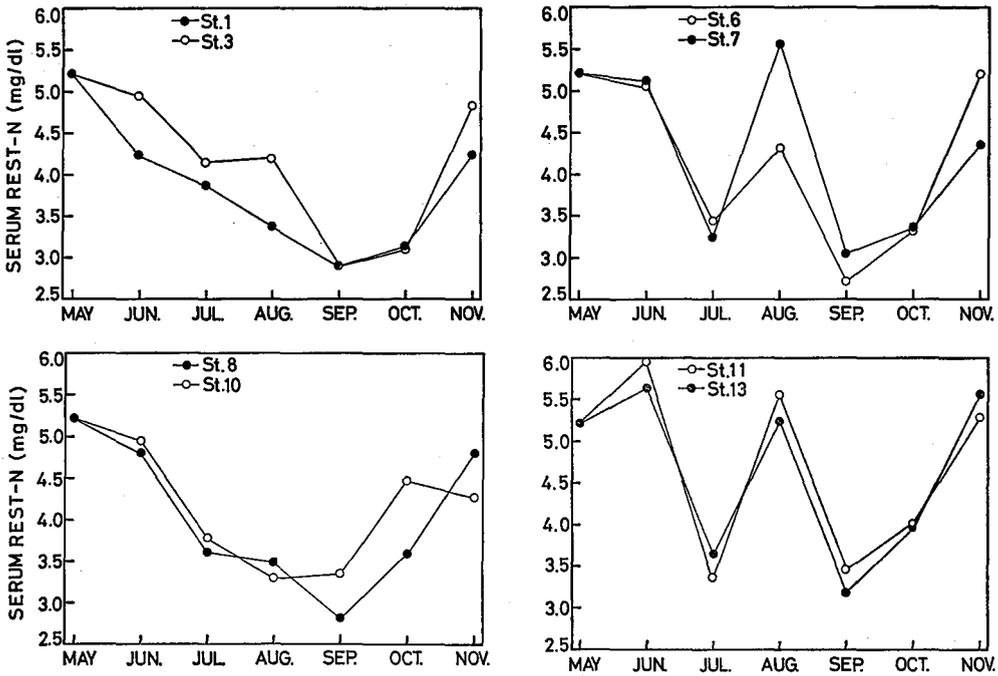


図3. 血清非蛋白性窒素量の変化

スの側にあるかマイナスに偏っているか、すなわち、同化作用と異化作用のどちらがより強く働いているかを推定するために、蛋白質量と非蛋白性窒素量の比を求めて図 4 に示した。鵜方地区の 2 群間の比較では 8 月に St. 3 群が高い値を示した以外は St. 1 群とあまり変りない推移であった。神明地区の 2 群間の動きもよく似た形であるが、9 月以降に両者の開きがやや大きくなった。St. 8 群と St. 10 群の比較では、7、11 月を除く各月における St. 8 群の値が St. 10 群にくらべて低く推移し、同化作用の側に偏っていたと推定される。越賀地区においても同じように、St. 11 にくらべて湾奥の St. 13 群の値が 7 月を除き各月とも低くなっており、St. 13 群の蛋白質代謝は St. 11 よりもプラスに偏っていたと推定される。

血清糖質量(全ヘキソース量)：各群の値は図 5 のようであった。St. 1 および St. 3 の両

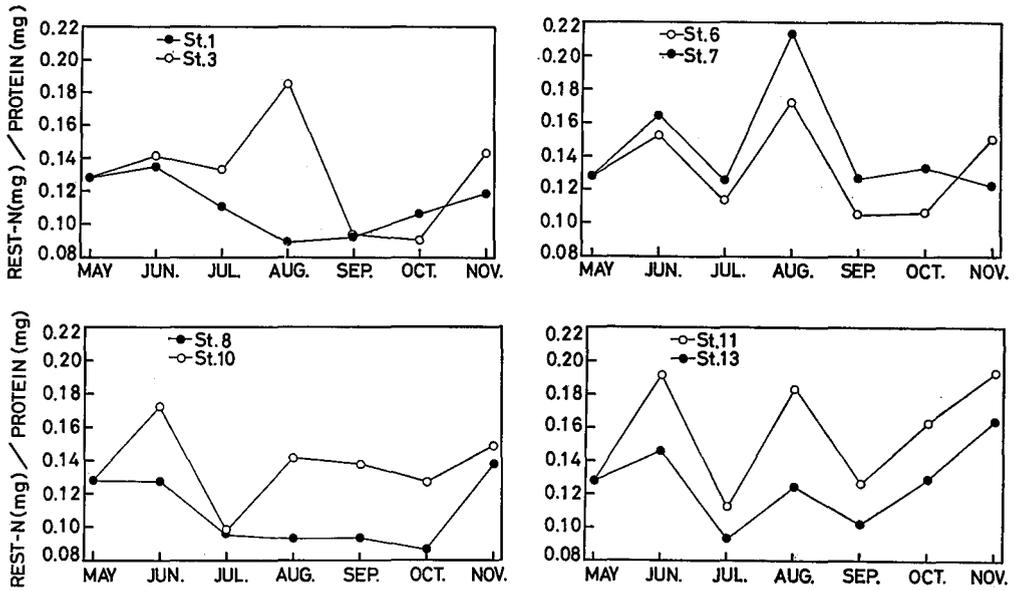


図4. 血清蛋白質量と非蛋白性窒素量の比

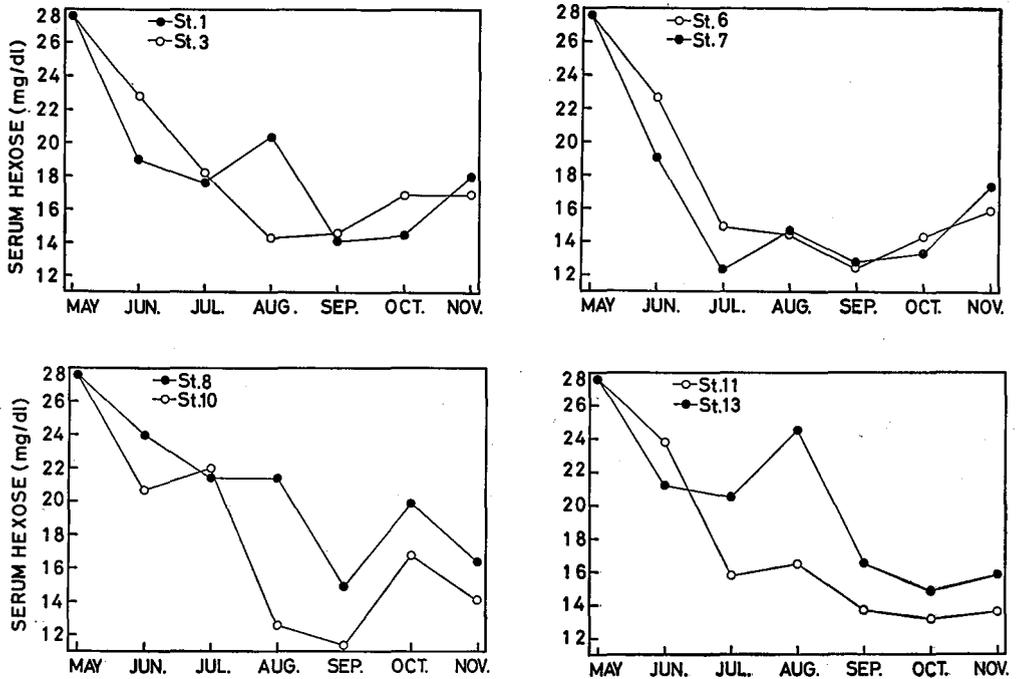


図5. 血清糖質(全ヘキソース)量の変化

群は全く別々な動きを示しているが、St. 1 群は他の湾奥部の St. 7 および St. 13 などとよく似た動向を示している。神明地区の St. 6 および St. 7 には大きな相違が見られなかった。St. 8 と 10 の両群を比較すると、7 月を除く他の全ての時点において St. 8 群の値が高かった。越賀地区の St. 11 および St. 13 両群の比較では 6 月以降に湾奥部の St. 13 群の値が高くなった。

血清乳酸量：結果を図 6 に示した。鵜方地区の St. 1 および St. 3 の両群における動きには 7 月まで開きがあり、St. 3 群の値が高かったが、秋には両群の差がみられなくなった。神明地区でも 2 群間の動きに 8 月まで相違がみられたが、一定の関係ではなかった。9 月以降には差がなくなった。St. 8 および St. 10 の両群は全く異なった動きを示し、St. 8 群は他の St. 1, 7 および 13 などの群と殆んど同じ推移を示しているのに反し、St. 10 群は 6 月から 9 月にかけて、ゆるいカーブで減少する傾向を示し、秋以後に増加する形をとり、

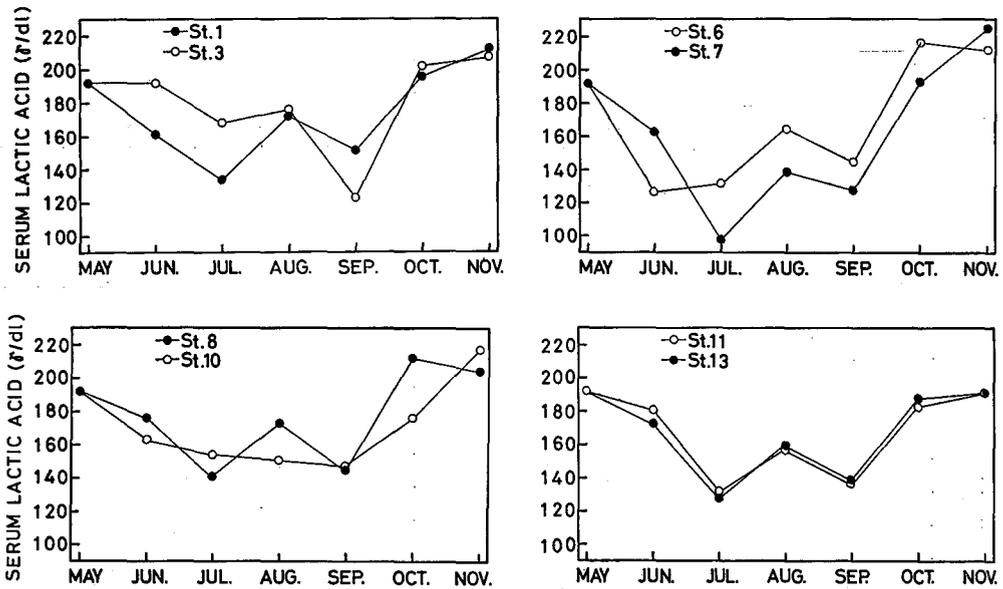


図6. 血清乳酸量の変化

他群と共通する変化を示さなかった。越賀地区の 2 群は殆んど同じ値で推移し、差がみられなかった。

血清糖質量と乳酸量の比：体内の炭水化物代謝がその収支の上で同化と異化のどちらに偏っているかを推定するために、血清中の糖質量と乳酸量との比をとって図 7 に示した。比の値が高いほど相対的な意味で異化に偏っていることを示している。鵜方地区では St. 3 群が 8 月に高い値を示し、9 月には逆に St. 1 群の値が多くなっている。神明地区では 6 月に湾口部の St. 6 の値が低かったが、8、9 月には遂に St. 7 よりも高い値を示している。St. 8 と St. 10 の両群間では実験期間を通じて St. 8 が殆んど St. 10 より低い値を示し、とくに 8、9 および 11 月には St. 10 群との開きが著しい。越賀地区においても St. 11 にくら

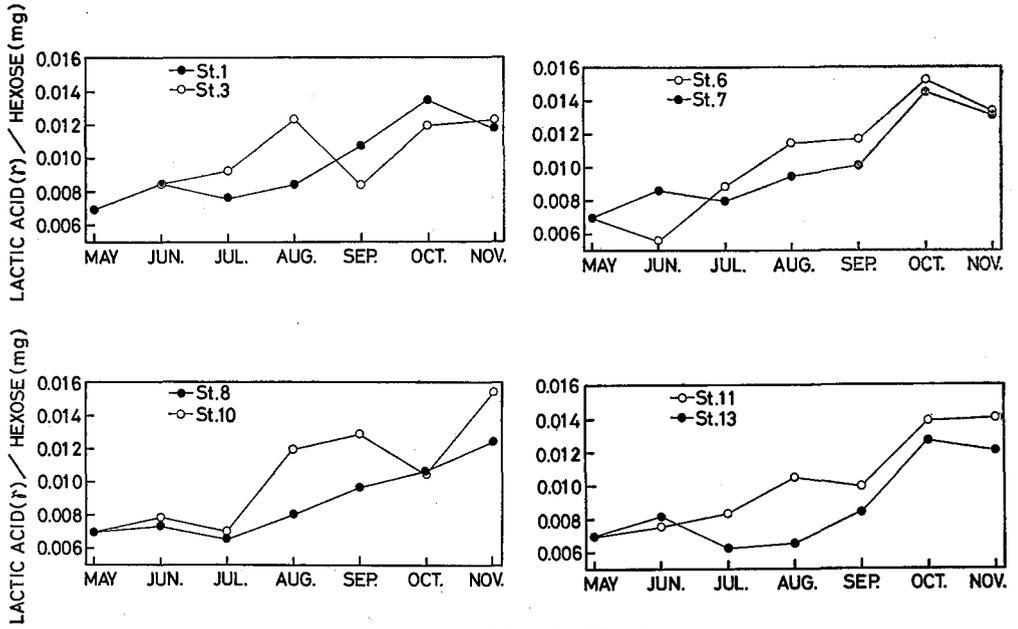


図7. 血清糖質量と乳酸量の比

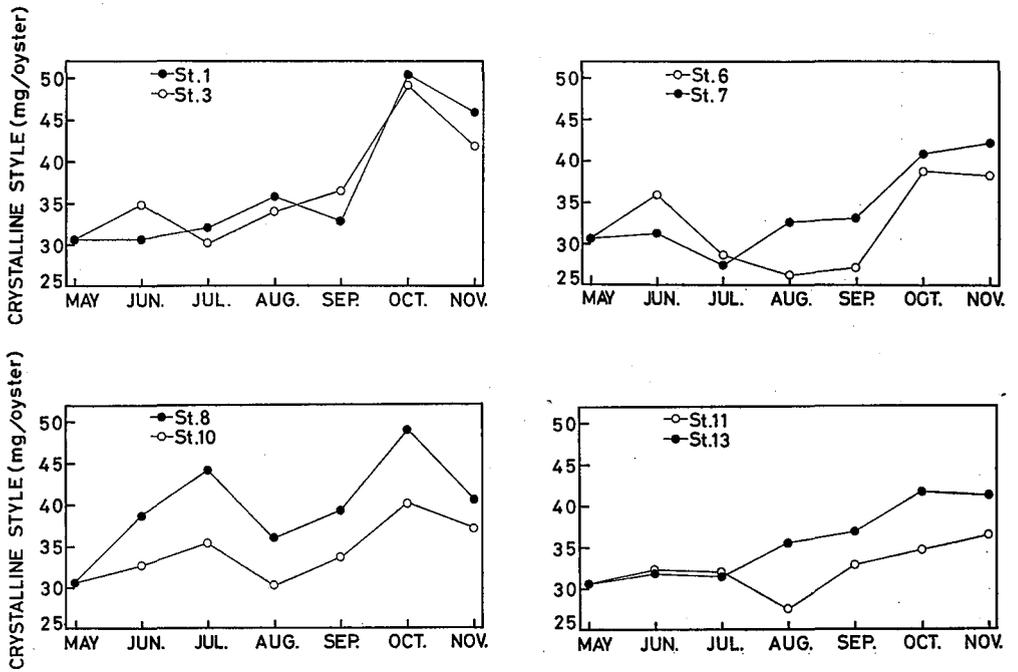


図8. 杆晶体重量の変化

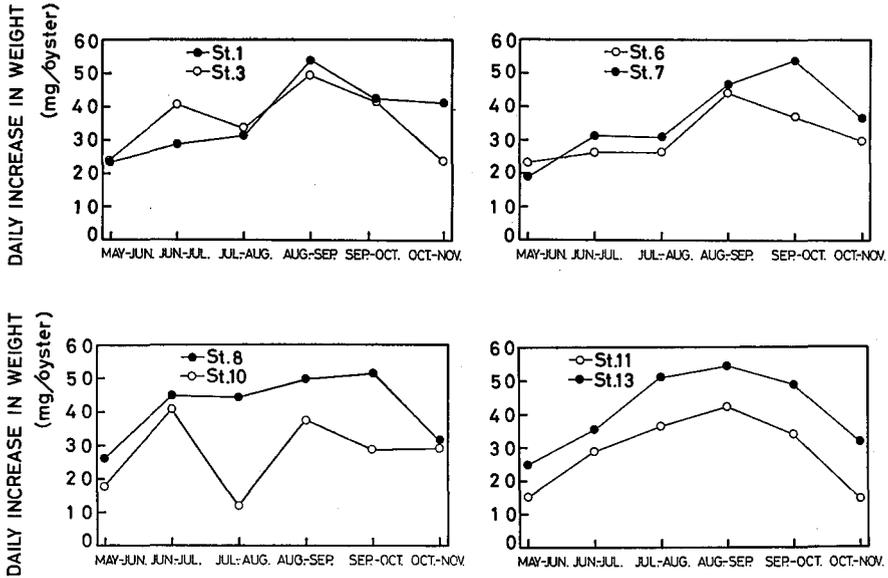


図9. 貝の日間成長量 (水中重量) の比較

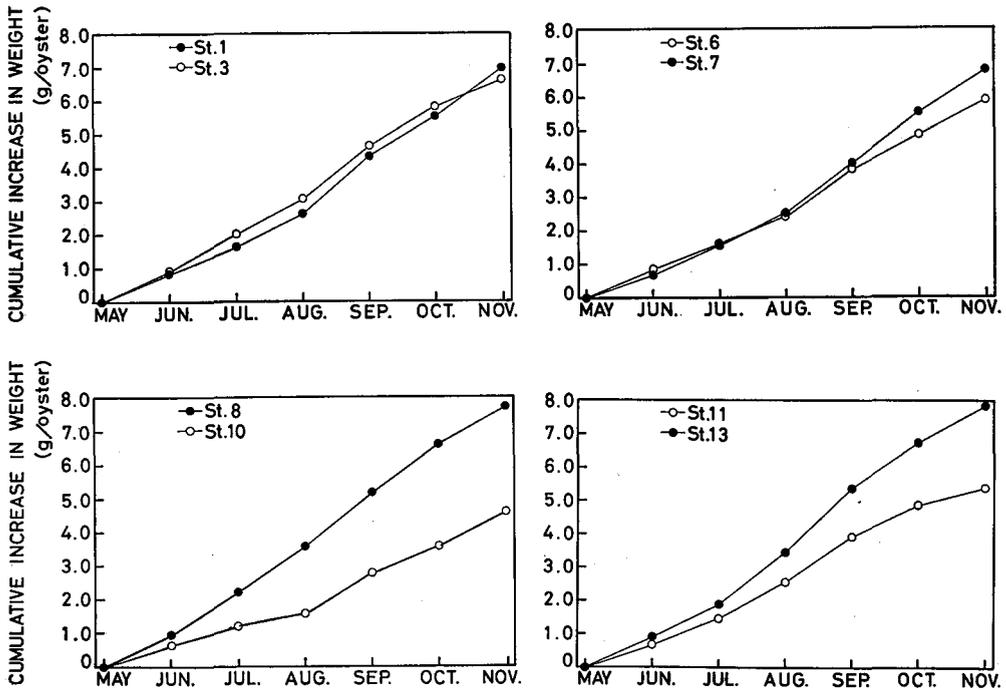


図10. 貝の積算成長量 (水中重量) の比較

べて St. 13 の群における値が全般的に低くなっていて、同化への偏りが大きいと推定される。

**杆晶体重量：**各群の変化を図 8 に示した。鵜方地区の湾奥部の St. 1 および湾口部の St. 3 の両群間には大きな差がみられなかったが、春に St. 3 群が、秋に St. 1 群がやや高い値を示した。神明地区でもほぼ同様に 6 月には湾口部の St. 6 群が、8 月以降は St. 7 群が大きい値を示した。St. 8 群は常に St. 10 群よりも高い値をもって推移し、明確な相違がみられた。St. 11 と St. 13 の両群間においても 8 月以降に差ができて、湾奥部の St. 13 の値が高くなった。

**成長量：**成長量は水中重量によって継続的に測定されたものであり、生理的指標を得るために用いられた群と母集団は同じであるが、異なった個体である。

各群の日間成長量および成長の推移を図 9 ならびに図 10 に示した。鵜方地区の St. 1 と St. 3 との成長の開きは 6 月から 7 月にかけてあらわれ、10 月まで St. 3 の成長がよかったが 10 月以降に St. 1 の成長量が大きくなった。神明地区においては 9 月頃まで両群の差は殆んどなかったが、それ以降に St. 7 の成長量が多くなり両群間に差を生じた。St. 8 と St. 10 の両群間の成長度には、かなり大きな相違があり、St. 8 群の成長が良好であった。越賀地区の湾奥部 St. 13 群の成長も同様に、St. 11 より常に大きな値を示し、良好であった。

## 考 察

前報<sup>1)</sup>においてアコヤガイの挿核手術前後の技術過程における貝の生理状態の変化を、血清中の蛋白質量、非蛋白性窒素量および乳酸量などを指標として推定することが試みられたが、本実験のようにいずれも成長しつつあって生理的な状態の差が少ない群間の生理活動の違いを、これらの指標をもって推定し得るか否かを検討することがこの実験の目的であった。実験結果では、St. 8 と 10 の両群ならびに St. 11 と 13 の両群間にみられるように、両群の比較において実験期間中の殆んどの時点で血清蛋白質量や糖質量が多く、また杆晶体重量が重かった群 (St. 8 および 13 の群) は、日間成長が良好であり、指標と成長との関連づけが可能のように思われる。しかし、一方において、他の 2 組の群のように、指標とした諸元が比較した 2 群間で、たとえ 1 時点における差が大きく開く場合があっても、相互に入り乱れた推移をとった場合には、両者間の成長量の差があらわれず、指標の動向と成長との関係が不明確になった。従って、これらの指標は生理的にかかなりの相違が起ると予想される場合にのみ用いられると云えようが、本来これらの指標は成長量のように積算された形で表現されず、ある短い時点における状態を頭わしているに過ぎないから、比較すべき群間に関係する諸条件が接近する程に、より多くの頻度で試料を採取しなければ、比較が困難になると考えられる。

次に、得られた数値について、全群間の比較を行なうと表 1 のようになる。成長量 (水中重量) を継続的に測定した群と、血液および杆晶体を採取した群とは異なる貝であるので、その順位に出入りはあるが、成長が良かった群と指標の数値とがほぼ対応すると考えられる。

また、前報<sup>1)</sup>においては蛋白質量と非蛋白性窒素量との間、さらに乳酸量と杆晶体重量と

表1 指標と成長量の全群間の比較

順位	蛋白質質量		非蛋白性窒素量 蛋白質質量		糖質量		乳酸量 糖質量		杆晶体重量		成長量	
	St.	mg/dl	St.		St.	mg/dl	St.		St.	mg	St.	g.
1	8	36.4	8	0.1056	8	19.7	8	0.0548	8	41.2	13	7.849
2	13	35.8	1	1086	13	18.9	13	553	1	38.0	8	7.715
3	1	33.4	13	1266	1	17.3	1	605	3	37.8	1	6.966
4	3	31.3	3	1284	3	17.3	3	626	13	36.4	7	6.788
5	6	30.1	6	1336	10	16.3	7	636	10	34.8	3	6.636
6	10	29.8	10	1350	11	16.1	11	642	7	34.6	6	5.896
7	11	28.4	7	1468	6	15.8	10	656	11	32.7	11	5.392
8	7	28.3	11	1620	7	14.9	6	661	6	32.6	10	4.601

指標の数値は6~11月の平均値。成長量は実験期間中の増重量(水中重量)。

の間にも負の相関関係があったにもかかわらず、本実験の結果ではこのような関係がみられなかった。その理由として考えられることは、前報の実験期間が50日間で、季節的变化も少なく、たとえば水温も約23°Cから28°Cの範囲であったのにくらべ、本実験の期間が約6カ月、水温の範囲も約16°Cから30°Cと大きく変化しているために、両者の相互関係よりも貝自体の生理的要因も含めた季節的な代謝のレベルの変動が大きく影響を与えたためであろうということである。

以上のことから、これらの生理的指標について今の段階では、長期に亘ってある数値を限界としてその上下の可否を云うことができない。これらの指標を長期の実験に用いようとするならば、今後貝自体の季節的変動あるいは水温その他の環境諸要因との関係について基礎的な実験を必要とする。あるいは群間の比較という形で用いることができる。

本実験におけるこれらの指標の変動と環境の諸要因との関係については、環境諸要因相互の関係についての解析がなされた上で改めて検討する予定である。

## 要 約

1) アコヤガイの成長と環境諸要因との関係を解明するためには、貝の成長と生理活動との関係、生理活動と環境条件との関係を追求する必要がある。そこで貝の生理状態を把握することができ、かつ、貝の成長に結びつけることが可能な2, 3の生理的指標について検討した。

2) 英虞湾とその枝湾に8定点をもうけてアコヤガイを養殖し、5月から11月まで毎月貝を採取し、血清成分および杆晶体など生理的指標に関して測定を行ない、その結果と、別に継続して測定された貝の成長量(水中重量)とを対比させた。血清成分としては蛋白質、非蛋白性窒素、糖質(全ヘキソース)、乳酸などの定量を行なった。

3) 血清蛋白質量はアルブミンとして22ないし42mg/dl、非蛋白性窒素は2.7ないし5.9mg/dl、糖質量はヘキソースとして11ないし27mg/dl、乳酸は100ないし225γ/dlの範囲で血清中に含まれた。

4) 実験期間中の血清蛋白質量および糖質量が多く、かつ、非蛋白性窒素量 / 蛋白質量あるいは乳酸量 / 糖質量の値が低く推移した群は日間成長量が多く、良好な成長を示した。

5) 貝自体の生理的要因も含めた季節的な代謝のレベルの変動があるため、これらの生理的指標は現段階では群間の比較を行なう場合にのみ用いられる。

## 文 献

- 1) 植本東彦 1967 仕立て作業および挿核手術がアコヤガイの生理状態に及ぼす影響。日水誌 33(8) 705—712.
- 2) 金井 泉 1955 臨床検査法提要 20版 金原出版 東京.
- 3) E. J. CONWAY 1952 微量拡散分析及び誤差論 南江堂 東京.
- 4) 藤井暢三 1964 生化学実験法(定量篇) 南山堂 東京.
- 5) 阿武喜美子・瀬野信子 1968 一般定量法, 蛋白質核酸酵素別冊 生物化学実験法XI糖質実験法 p. 15.
- 6) 西飯 保・桑谷幸正・植本東彦・和田克彦・山村 豊・前田弘也 1970 真珠養殖漁場の海洋観測(1967—1969) 三重県・英虞湾。国立真珠研究所資料 1: 1—38.

# アコヤガイの生理機能におよぼすアンモニアの影響について\*†

桑谷幸正・西飯保・和田克彦  
国立真珠研究所

魚貝類を池あるいは水槽中で飼育した場合にそれらの排泄物あるいは細菌による分解生産物としてアンモニア態窒素が著しく増加することが知られており、飼育水の汚れの程度を知る指標として測定されている<sup>1-3)</sup>。また一方、水中のアンモニアは極く微量であっても動物の血液中で酸素と結合し、炭酸を放出する作用を阻害すると考えられている<sup>1,2,50)</sup>。しかしながらこれまで単要因としてのアンモニアの影響について、しかも無脊椎動物を対象とする研究は極めて少なく、大久保ら<sup>9)</sup>が水質汚濁の生物試験としてマガキ、ムラサキガイ、ムラサキウニ、バフンウニの卵および幼生について、またシロフジツボの幼生および成体について、その与える影響を検討しているに過ぎない。

筆者らはアコヤガイの成体を対象として、単要因としての水中のアンモニアがその生理機能にどのような影響を与えるかを塩化アンモニウムを用いて検討したので、その結果を報告する。

報告を行なうに当たり、本研究の機会を与えられた国立真珠研究所長 池末 弥博士および御協力、討議をいただいた同所員各位に深謝する。

## 材料および方法

供試貝：外見的に成長が良好であり、水中重量が6～9gの範囲内にある生後1年数か月のアコヤガイを用いた。

塩化アンモニウム添加海水：分析用試薬の塩化アンモニウムを110°Cで乾燥し、デシケーターで放冷後5.35gを精秤し、これを純水に溶解して200mlとした。この溶液の塩素量は17.73%となりアゴ湾の平均値に近似する。この溶液を自然海水で希釈して10ℓとすると、この海水のアンモニア-Nの濃度は海水のもつ濃度プラス10000μg-at/ℓとなる。この海水をそのままあるいは自然海水で希釈して用いた。

供試貝の飼育方法：酸素消費量、滲過水量、足糸分泌量、杆晶体重量、粘液放出量およ

\* Yukimasa Kuwatani, Tamotsu Nishii and Katsuhiko Wada. Effect of ammonia concentration on physiological conditions of Japanese pearl oyster. With English summary, p. 1896. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 15:1874-1899.

† 国立真珠研究所業績 No. 187. (国立真珠研究所報告 15:1874-1899. 昭和45年5月)

びコハク酸脱水素酵素反応の実験においては添加した塩化アンモニウム濃度が0, 32, 100, 316, 1000, 3163そして10000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ となるように調製した海水をそれぞれ各水槽に16 $\ell$ ずつ充し、供試目をランダムに5個ずつ化繊網袋に入れて垂下した。また致死濃度の実験においては塩化アンモニウムの濃度が0, 1000, 2000, ……9000, 10000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ になるように調製した海水をそれぞれ各水槽に5 $\ell$ ずつ充し、供試目を1個ずつ収容した。これは数個の目を同一の水槽に収容した場合にそのうちの1個が斃死することにより水質が悪化し、他の目の斃死を促すことを避けるためである。なお、いずれの実験においても期間中飼育水に通気を行ない、また飼育水は24時間ごとに新しく調製した塩化アンモニウム添加海水をもって交換した。さらに自然海水はいずれも揚水後24時間以上大型タンクに貯え、通気を行ない、懸濁物を自浄、沈澱させたものを用いた。

なお、実験方法の細部についてはそれぞれの実験項目において述べる。

### 飼育水の水質変化について

水量16 $\ell$ の水槽に各濃度の塩化アンモニウム添加海水を充し、供試目5個を収容し、通気のみを行なった場合の水質変化を知る目的で、供試目を収容してから24時間後に分析を行なった。分析の方法はつぎの項目、方法に従った。

塩素量は日本海洋学会編海洋観測指針にもとづいた。pHはC.R.を指示薬として標準緩衝液による分光光度計波長575 $\mu\text{m}$ の吸光度曲線を描き、供試海水の吸光度からpH値を求め塩誤差を補正した。アルカリ度はルビン法でチオ硫酸ナトリウムにより滴定した。C.O.D.は強アルカリ性下における過マンガン酸カリの酸素消費量を沃度法により滴定した。アンモニア-N、亜硝酸-N、硝酸-NはStrickland and Parsonsの方法に従った。磷酸-Pは海洋観測指針にもとづき、呈色を700 $\mu\text{m}$ の吸光度で測定した。カルシウムは2-Hydroxy-1-(2-hydroxy-4-sulfo-1-naphthylazo)-3-naphthoic acidを指示薬として0.01M EDTA-2Naにより滴定した。

9月16日(水温26 $^{\circ}\text{C}$ )および11月25日(水温21 $^{\circ}\text{C}$ )の分析結果をそれぞれTable 1のAおよびBに示す。

アンモニア-Nの濃度は水温が26 $^{\circ}\text{C}$ の場合、自然海水が0.55 $\mu\text{g-at}/\ell$ に対して塩化アンモニウムを添加しなかった飼育水は38.29 $\mu\text{g-at}/\ell$ と高く、また各塩化アンモニウム添加飼育水は10000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 添加の場合を除き無添加飼育水の濃度と添加濃度との和に近似する値を得た。さらに亜硝酸-Nおよび硝酸-Nの値はいずれも添加量3163および10000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ においてむしろ低くなる傾向がみられ、アンモニアが水中細菌の作用により硝酸化されているとは考えられない。10000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 添加の場合の実測値の著しい増加は、おそらく後述するように不適条件においても異常分泌された貝粘液の腐敗分解に起因するものと考えられる。

pH値はFig. 1に示すように水温26 $^{\circ}\text{C}$ の場合には自然海水の8.18に対し飼育水のそれは7.99~7.72の範囲にあり、添加量の増加するに従って著しく低くなっている。また水温21 $^{\circ}\text{C}$ の場合には自然海水の8.13に対し飼育水のそれは7.98~8.13の範囲にあり、水温26 $^{\circ}\text{C}$

の場合に比較すると全般に高い値を示す。また塩化アンモニウムを添加し供試貝を収容しなかつた水槽水の値は8.02~8.19の範囲にある。水温 21°C の目を収容した飼育水と収容しなかつた水槽水とを比較すると後者が全般的に約0.05高く、添加量に対する pH の変化の傾向は全く相似している。両者は添加量 100 あるいは 316  $\mu\text{g-atN}/\ell$  を境として、より

Table 1. Data on the qualities of culture water 24 hours after being exchanged with fresh seawater.

A. Sep. 16 5 animals/16  $\ell$ /vessel

NH <sub>4</sub> Cl added $\mu\text{g-atN}/\ell$	Water temperature °C	Chlorinity ‰	pH value (20°C)	Alkalinity mN	C.O.D. O <sub>2</sub> mg/ $\ell$	Ammonia-N $\mu\text{g-at}/\ell$	Nitrite-N $\mu\text{g-at}/\ell$	Nitrate-N $\mu\text{g-at}/\ell$	Phosphate-P $\mu\text{g-at}/\ell$	Calcium mg/ $\ell$
0	26.0	19.32	7.97	1.83	1.58	38.29	0.69	4.89	5.99	404
32	26.0	19.32	7.99	1.76	1.75	55.69	0.86	5.71	6.75	411
100	26.0	19.04	7.81	1.82	1.65	145.99	0.78	5.10	5.35	411
316	26.0	19.24	7.80	1.78	1.75	363.49	0.77	4.46	5.86	400
1000	26.0	19.32	7.79	1.75	2.04	1040.99	0.64	5.56	8.15	386
3163	26.0	19.17	7.74	1.92	2.76	3240.49	0.72	4.11	3.95	356
10000	26.0	19.06	7.72	1.82	3.47	11350.49	0.64	3.25	3.57	406
Natural seawater	26.3	18.44	8.18	2.09	1.68	0.55	0.03	0.34	0.38	391

B. Nov. 25 5 and no animals/16ℓ/vessel

NH <sub>4</sub> Cl added μg-atN/ℓ	Water temperature °C	5 animals			No animal	
		pH value (20°C)	Alkalinity mN	C.O.D. O <sub>2</sub> mg/ℓ	pH value (20°C)	Alkalinity mN
0	21.0	8.10	2.19	0.63	8.13	2.20
32	21.0	8.13	2.19	0.66	8.19	2.20
100	21.0	8.12	2.12	0.63	8.14	2.20
316	21.0	8.10	2.16	0.93	8.16	2.19
1000	21.0	8.08	2.15	1.34	8.14	2.13
3163	21.0	8.03	1.92	1.69	8.08	2.03
10000	21.0	7.98	1.70	2.73	8.02	1.84
Natural Seawater	20.4	8.13	2.20	1.03	—	—

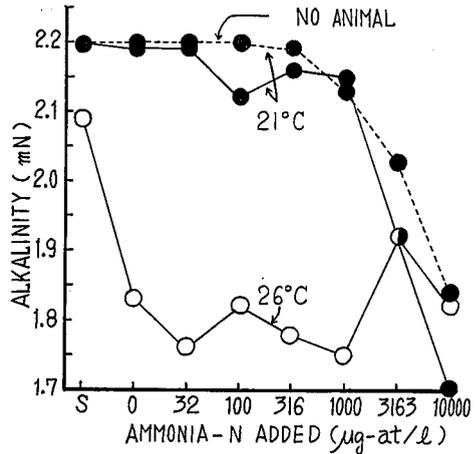
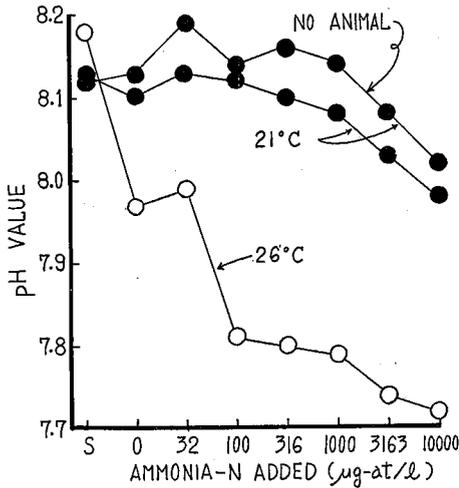


Fig. 1. Changes in pH value of the culture water added with ammonium chloride. S: Natural seawater.

Fig. 2. Changes in alkalinity of the culture water added with ammonium chloride. S: Natural seawater.

少ない添加量の範囲では pH 値にほとんど差がなく、より多い添加量の範囲では添加量が増加するに従って pH 値が低くなっている。

一方、pH 値に関連するところのアルカリ度についてみると、Fig.2 に示すように 26°C の場合には全般的に低く、pH 値と何らの関係もみられないが 21°C の場合には、貝の有無にかかわらず添加量 3163 および 10000 μg-atN/ℓ においてアルカリ度の著しい低下がみられる。

これら pH 値低下の原因としては、1)塩化アンモニウムが水中で解離し、遊離アンモニアが揮散し残りの塩化水素により飼育水が酸性を呈すること、2)貝の呼吸代謝あるいはバ

クテリアの繁殖による遊離炭酸の増加が飼育水を酸性にすること、が考えられる。各供試水の炭酸分圧を pH およびアルカリ度から計算すると Fig.3 に示すようになり、水温 21°C の場合にはアンモニア-N の増加に対して炭酸分圧の増加はほとんどみられず、主として

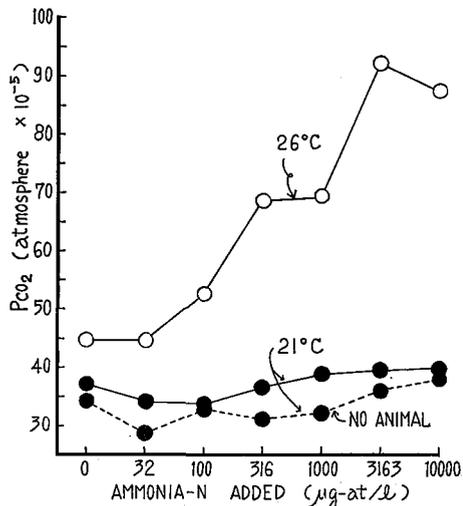


Fig. 3. Changes in partial pressure of carbon dioxide of the culture water added with ammonium chloride.

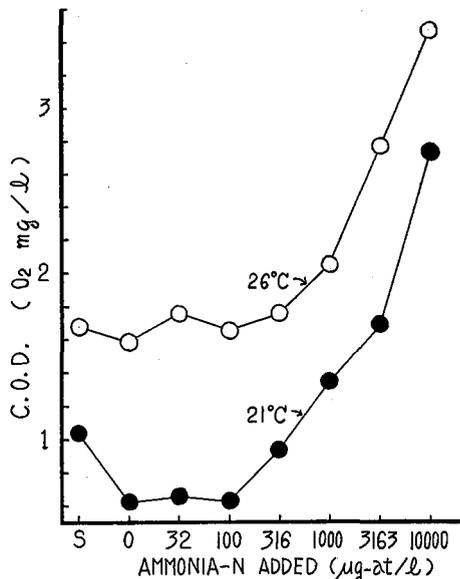


Fig. 4. Changes in chemical oxygen demand of the culture water added with ammonium chloride. S: Natural seawater.

1) の原因によるものであり、水温 26°C の場合は高水温のため 1) の影響も大きい、炭酸分圧はアンモニア-N の濃度に比例して増加しており、さらに 2) の原因が加えられたものと推察される。

なお筆者らは前報<sup>7)</sup>において水槽飼育アコヤガイの成長を主として支配する要因として pH とアルカリ度を挙げ、この種の水槽を用いた実験においてそれらはずぎの関係をもつことを明らかにした。

$$W = 27.5969\text{pH} + 28.2171A \ell - 256.4581$$

W: 平均成長量 (mg/day), pH: pH 値, A ℓ: アルカリ度 (mN)。

この式に今回の実験において最も条件の悪いと考えられる 26°C の場合の添加量 10000 μg-atN/ℓ の飼育水の pH 値とアルカリ度とを代入すると W=7.945mg/day となり、アンモニア濃度を除く一般的な水質条件は貝が成長し得る範囲にあるといえる。

両回の C.O.D. の値は Fig. 4 に示すように塩化アンモニウム添加量 100 μg-atN/ℓ までは自然海水とほぼ等しい値を示すが、添加量 316 μg-atN/ℓ 以上の水槽では添加量の増加に従って高くなっている。今回の実験においては飼料は全く投与されていないので、おそらくこの様な有機物量の増加は不適当な水質条件における体粘液の異常な放出によるもの

と判断され、また前述のようにバクテリアの繁殖を促し、遊離炭酸を増加させ、pHを低下させる原因になっていると思われる。

酸素消費量について

水量 11.7~11.8ℓ の着色瓶 (Fig.5) を用い、その中に新らしく調製した塩化アンモニウム添加海水をみだし、同海水に浸漬してから48時間経過した供試貝 (各群 5 個) をビニ

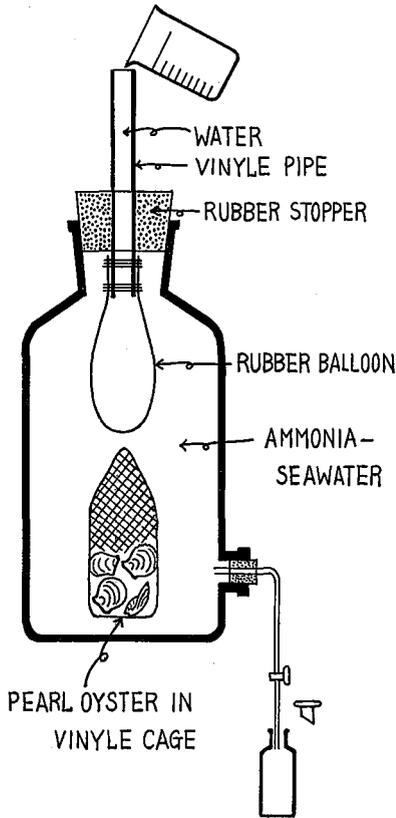


Fig. 5. Apparatus employed for measuring oxygen consumption of test animals.

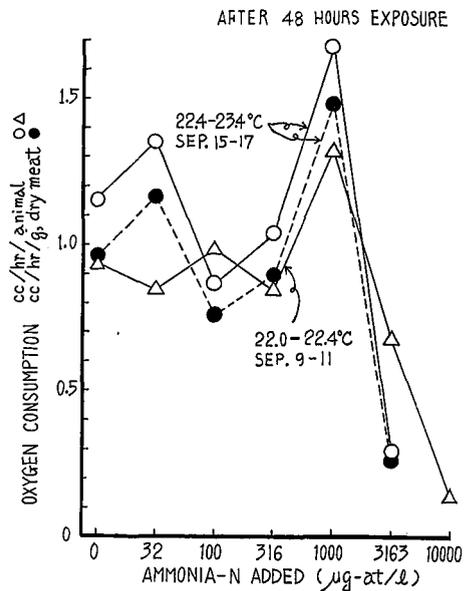


Fig. 6. Effect of the concentration of ammonia added to culture water on the oxygen consumption of test animals.

ール網籠に入れたまま空中に露出しないようにして移し、その後3時間にわたり開始時と各時間ごとに溶存酸素量を測定した。実験は9月11日と17日の2回実施し、17日分の供試貝については肉質乾燥重量を測定した。

アンモニア-Nの濃度に対する貝1個当りおよび乾燥肉質1g当りの平均酸素消費量の変化をFig. 6に示した。なお実測値は開始時 4.12~4.63cc/ℓ, 3時間後 2.11~4.28cc/ℓであった。

両回の結果を比較すると、水温のちがいでによる消費量の差がみられるが、アンモニア-Nの濃度に対する消費量の変化は全く同一の傾向を示している。そこで両回の結果を総合してみると、第2回実験の添加量  $32\mu\text{g-atN}/\ell$  の貝群の消費量が例外となるが全般的には添加量  $316\mu\text{g-atN}/\ell$  までの貝群相互間にはほとんど差がみられない。また添加量  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  の貝群の消費量は両回ともに著しく大きく、さらに添加量  $3163\mu\text{g-atN}/\ell$  以上の貝群では塩化アンモニウムの濃度が高くなるに従って著しく減少している。

このように添加量  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  の場合の消費量の著しい増大は、おそらくその添加量が生理的刺戟となり得る量であって、その刺戟に対する反応が酸素消費量の増大という形で現われたものと理解される。添加量  $3163\mu\text{g-atN}/\ell$  以上の濃度では明らかに貝の生理機能が阻害されているとみられる。

### 濾過水量について

各水槽の飼育水を新しく調製した塩化アンモニウム添加海水をもって交換した後、供試貝を移し、クロレラの一定量を投与し、投与30分後およびその後1時間ごとに採水してクロレラの懸濁量を測定した。クロレラはあらかじめミキサーでその塊を破碎し、さらに約2時間静置沈澱させてその上澄みを用いた。懸濁量は分光光度計の波長  $480\text{m}\mu$ ,  $5\text{cm}$  セルを用い、その吸光度から算出した。なお、クロレラの細胞数と  $480\text{m}\mu$  における吸光度との関係は、この濃度の範囲内では回帰直線をもって示される (Fig.7)。平均濾過水量は Jørgensen<sup>10)</sup>, Chipman and Hopkins<sup>11)</sup> および辻井・大西<sup>12)</sup> が用いたところのつぎの式

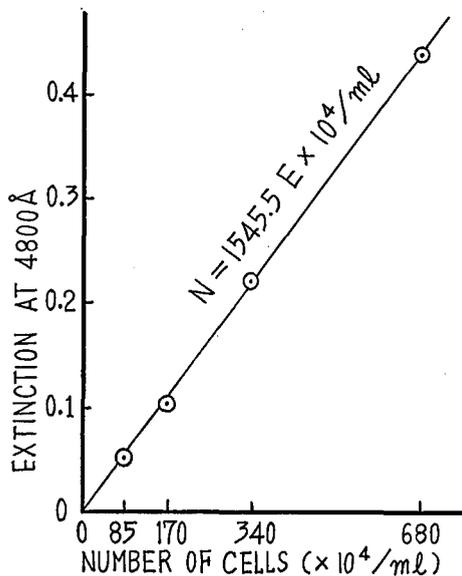


Fig. 7. Relation between number of cells of *Chlorella* sp. suspended and extinction at  $4800\text{ Å}$  of spectrophotometer.

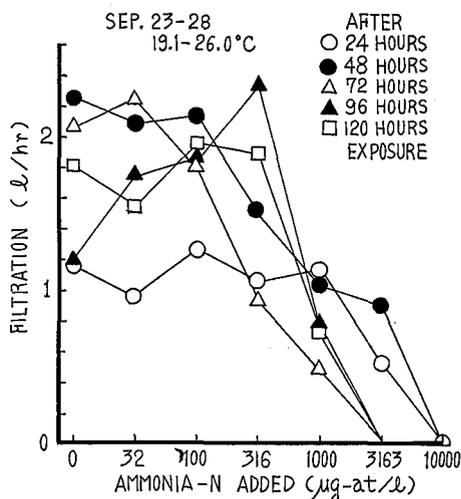


Fig. 8. Effect of the concentration of ammonia added to culture water on the filtration of test animals.

に従い、クロレラ数の減少率から算出した。

$$C_t = C_0 e^{-rt} \quad -r = \frac{m}{M}$$

ここで  $C_t$  は  $t$  時間後の海水  $1\text{m}\ell$  中のクロレラ数 (または吸光値, 以下同じ),  $C_0$  は最初の海水  $1\text{m}\ell$  中のクロレラ数,  $e$  は常数,  $t$  は経過時間,  $r$  は最小自乗法によって求めたクロレラ数の単位時間当りの減少率,  $M$  は容器の貝 1 個当りの水量,  $m$  は貝 1 個当りの濾過水量である。

供試貝の飼育は 9 月 23 日より開始し, 毎日各濃度の塩化アンモニウム添加海水を充し貝を収容した水槽を 1 系列ずつ増加し, 同月 28 日にクロレラを投与した。すなわち, 各系列の貝群は塩化アンモニウム添加海水に浸されてから 24, 48, 72, 96 および 120 時間後に実験に供されたことになる。クロレラを投与後 4 時間にわたり各時間ごとに採水し, 吸光度を測定し, 濾過水量を算定した。なお, 9 月 23 日より同月 28 日までの水温は  $19.1\sim 26.0^\circ\text{C}$  の範囲にあった。

アンモニア  $-\text{N}$  の濃度と浸漬時間および濾過水量との関係を Fig. 8 に示す。

まず, 浸漬時間別の平均濾過水量を求めると 24 時間浸漬群から順に 1.02, 1.65, 1.26, 1.32 および 1.31  $\ell/\text{hr}$  となり, また濾過水量の著しい減退が認められるところの添加量  $1000\ \mu\text{g-atN}/\ell$  およびそれ以上の濃度の海水に浸された貝群を除いた場合にも 1.11, 2.00, 1.76, 1.79 および 1.79  $\ell/\text{hr}$  となり, いずれの計算においても 48 時間浸漬の場合が最も高く, 24 時間浸漬の場合が最も低く, 76, 96 および 120 時間浸漬群相互間にはほとんど差がみられない。この傾向は試薬無添加群相互間にもみられることから, おそらく海中から水槽に移したことによる影響が 24 時間後の濾過水量に最も強くあらわれ, またその補償作用として 48 時間後の濾過水量が増大したものと推測される。

つぎに, アンモニア  $-\text{N}$  の濃度別に平均濾過水量を求めると, 無添加水槽群より順に 1.69, 1.72, 1.80, 1.47, 0.83 および 0.42  $\ell/\text{hr}$  となり, 添加量  $1000\ \mu\text{g-atN}/\ell$  以上で明らかな減退がみられる。

### 足糸分泌量について

$10\text{cm}\times 10\text{cm}$  の塩化ビニール板の上に径  $1.2\text{cm}$ , 高さ  $0.5\text{cm}$  のゴム栓を固定し, その上に供試貝を右殻を下にして接着した。この場合, 足糸窩と板の間隔は足糸分泌数に著しく関係するのでできる限り均一となるように注意した。貝をゴム栓に接着後 24 時間, 流水水槽で蓄養し, その間の分泌本数を計数して, 全く分泌していないものおよび本数の著しく少ないものを除き, 各群の足糸本数ができるだけ等しくなるように分けた。つぎに再び足糸を切断し塩ビ板から付着痕を除いて実験水槽内に移し, 24, 48 時間浸漬の場合の 24 時間ごとの分泌本数を計数した。

11 月 7~9 日および同月 24~26 日の 2 回の実験結果を Fig. 9 に示す。

1 回目の実験では 48 時間浸漬の試薬無添加水槽の貝群の足糸分泌数が著しく少なかったが全般的にはアンモニア  $-\text{N}$  の濃度に比例して分泌数が減少する傾向がみられた。しかし

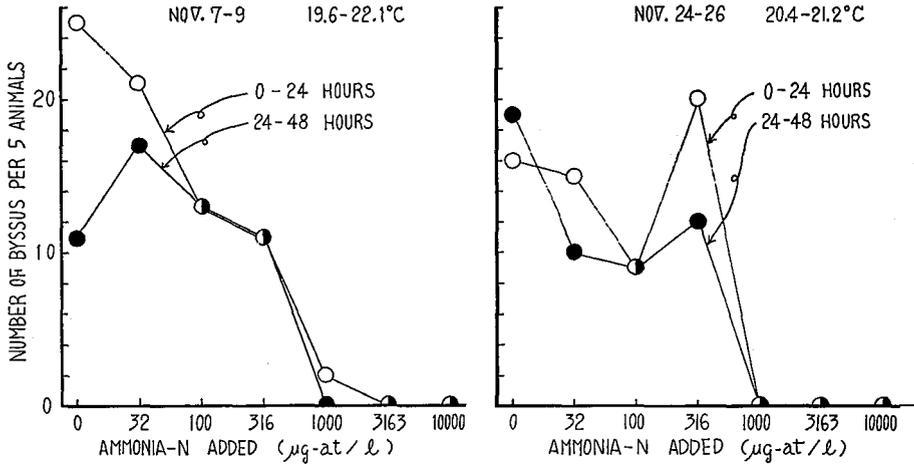


Fig. 9. Effect of the concentration of ammonia added to culture water on the number of byssus secreted for 24 hours.

ながら2回目の実験では24および48時間浸漬のいずれの場合においても添加量 316µg-at N/l の水槽の貝群の分泌量が著しく多い。両回の結果のこのようなちがいは足糸分泌力の個体差によるものと考えられ、添加量 316µg-atN/l までの分泌量の変化をこれらの資料から推察することはできない。

一方、両回の添加量 1000µg-atN/l 以上の水槽の貝群はいずれも浸漬24時間後の調査においてすでに足糸の分泌はほとんどあるいは全くなく、高濃度のアンモニアが貝体の活力を低め、結果として足糸の分泌が行なわれなくなるものと推察される。

杆晶体重量について

11月7～9日、同月24～26日の2回にわたりそれぞれ塩化アンモニウム添加海水に浸漬後48時間を経過した材料について杆晶体をとり出し、外部に付着した粘液を濾紙で除去し、5個分をまとめて秤量した。

結果は Fig. 10 に示すように添加量 316µg-atN/l までの貝群相互間には差がみられないが、添加量 1000µg-atN/l 以上の貝群では杆晶体は全く消失しており、高濃度のアンモニアが杆晶体の分泌能を阻害したものと推

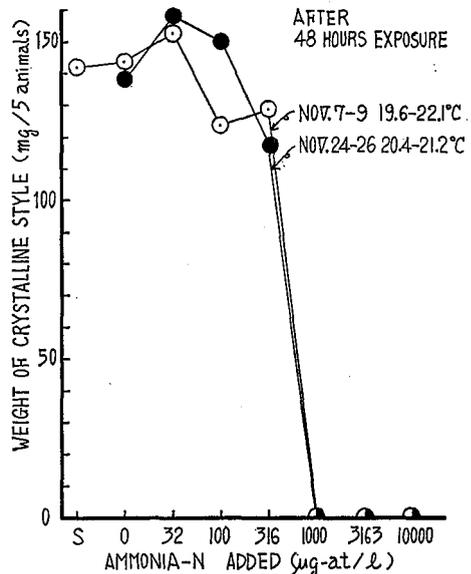


Fig. 10. Effect of the concentration of ammonia added to culture water on the weight of crystalline style. S: Specimens from sea-farm.

察される。

### 粘液放出量について

筆者らはこれまで多くの飼育実験において水質が悪化すると C.O.D. の値が著しく高くなることを経験している<sup>3,8)</sup>。今回の実験においては飼料は全く投与していないので、前述のアンモニア-Nの濃度と C.O.D. との関係は、おそらく貝が不適環境条件下におかれた場合、粘液を異常に放出するものであり、粘液そのもの、あるいはそれを培地とするバクテリアの繁殖が C.O.D. の値を高めるものと推察した。そこで各濃度の塩化アンモニウム添加海水に貝を浸漬し、無換水48時間後の飼育水を採取し、粘液性蛋白 (mucoprotein) 量を測定した。

分析は Winzler, R. et al.<sup>17)</sup> の方法に従った。この方法によれば最初に添加する過塩素酸 (HClO<sub>4</sub>) で飼育水中のムコ蛋白以外の蛋白を沈澱させ、その上澄みに P-W-酸 HCl 液を

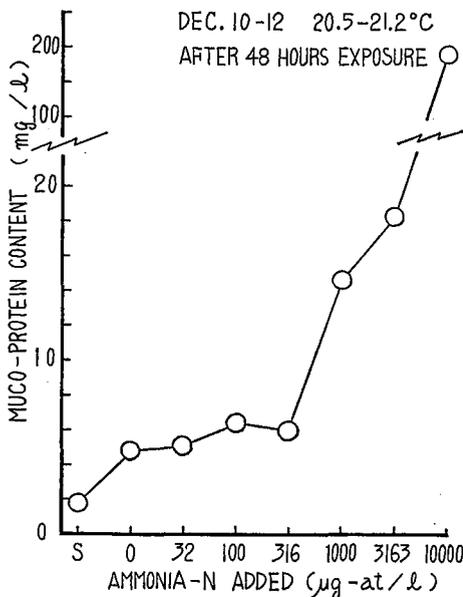


Fig. 11. Effect of the concentration of ammonia added to culture water on the content of muco-protein released from test animals. S: Natural sea water.

加えてムコ蛋白のみをとり出すことができる。

12月10-12日、水温 20.5~21.2°C における分析結果を Fig. 11 に示す。このとき同時に C.O.D. その他の水質分析を行なわなかったため、C.O.D. とムコ蛋白量との関係を直接導くことができなかつたが、前掲の Fig. 4 と対比するとき、C.O.D. とムコ蛋白量との間には明らかに相関性が認められる。

アンモニア-Nの濃度と粘液量との関係は添加量 316μg-atN/l までの各水槽、1000および 3163μg-atN/l の両水槽、10000μg-atN/l の水槽の3群に区分され、316μg-atN/l までは全体的に添加量の増加とともに粘液量も増加する傾向にあるが顕著ではなく、1000および 3163μg-atN/l の両水槽では粘液量が急に増加して 316μg-atN/l 以下の水槽の2~3倍となり、また 10000μg-atN/l の水槽ではさらに 3163μg-atN/l 水槽の10倍に近い粘液量となっている。但し、10000μg-atN/l の水槽の貝群は、肉質部こそ溶出していながつたが筋肉が弛緩し、接触反応もみ

られなかつたので斃死していたものと認定された。

### コハク酸脱水素酵素反応について

塩化アンモニウム添加海水に浸漬後48時間経過した供試貝の鰓のコハク酸脱水素酵素反

応を測定した。今回の実験においてとくに鰓を材料として用いた理由は、鰓は貝体のなかで細胞呼吸がとくに活発であり<sup>19-22)</sup>、またこの組織は扁平な糸状構造の集合体であるため、切片あるいはホモジネートにする必要がなく、比較的無きずにかも材料の処理条件を均一にして実験に供することができるからである。各貝の殻を開き左側の鰓をきずつけないように取り出し、鰓中央部を巾約5mm大に鰓糸にそって切り取り、水分、粘液などを濾紙をもって除き、その後それぞれの生重量をトーションバランスで秤量した。なお、鰓のコハク酸脱水素酵素反応は左側、右側および部分によって異なるため(未発表)、材料の採取部位はできるだけ正確を期した。この鰓片を管瓶に入れて、つぎの基質液<sup>23)</sup>を材料の約5倍量加え、37°Cの恒温槽内で反応させた。

0.2% Tri-phenyl tetrazolium chloriide 溶液	1部
0.2M コハク酸ナトリウム溶液	1部
pH7.6 磷酸緩衝液	1部
蒸溜水	1部

正確に2時間経過後、恒温槽から管瓶をとり出し、基質液と等量の氷醋酸を添加した。つぎに管瓶から鰓片をとり出し、遠沈管に入れアセトン・エタノール混液(3:1)を加えて正確に10mlとし、充分に振とうして色素を抽出した。遠心分離の後、その上澄み液を採取して、呈色の濃度を分光光度計の波長485m $\mu$ の吸光度により測定した。

実験は11月7~9日および同月24~26日の2回行なった。結果をFig. 12に示す。

各貝の反応値は同じ添加塩化アンモニウムの濃度においても著しく分散し、隣接した濃

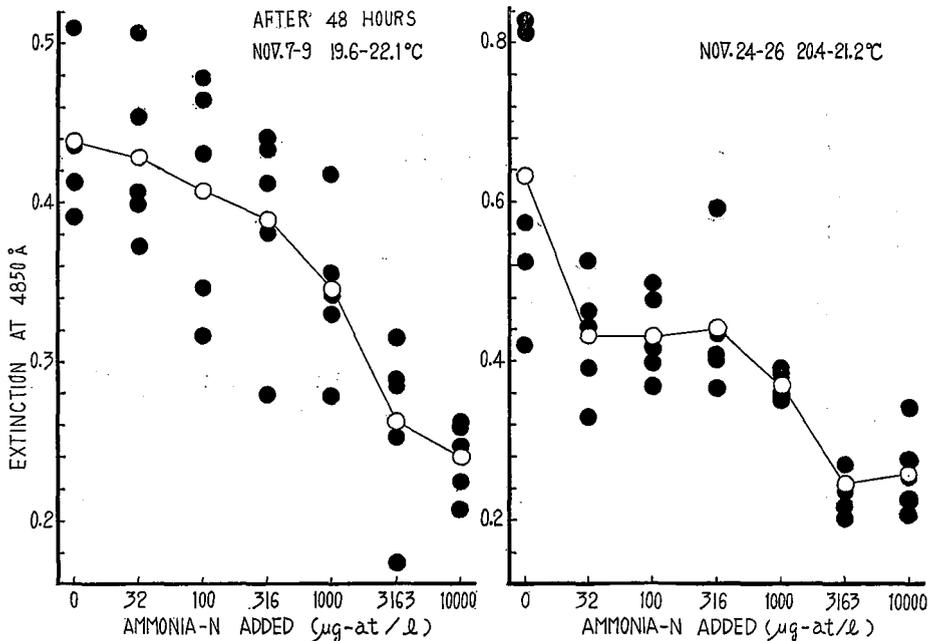


Fig. 12. Effect of the concentration of ammonia added to culture water on the succinic dehydrogenase reaction of gill tissues.

度の水槽の貝群間では大部分が有意差を認めることができない。この原因については貝の個体差によるものと考えられ、より詳細な資料を得るためには供試個体数を増加する必要がある。第1回の実験においては添加塩化アンモニウムの濃度が増加するに従って反応値が低下する傾向を示すが、第2回の実験においては、無添加水槽の値が著しく高く、また添加量32から316 $\mu\text{g-atN}/\ell$ の貝群相互間に差が認められない。しかしながら、両回の条件は全く同一であるとみて両回の値を平均すると無添加水槽から順に0.537, 0.428, 0.419, 0.415, 0.358, 0.255, 0.249となり、無添加の場合を除き添加量316 $\mu\text{g-atN}/\ell$ までは反応値にほとんど差がみられないが、1000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 以上では添加塩化アンモニウムの濃度が高くなるに従って反応値の低下がみられている。

なお、前述の足糸分泌量の調査および上述のコハク酸脱水素酵素反応の測定は同じ材料を用いて行なったものであるが、両実験の結果 (Fig. 9 および12) を比較すると、添加塩化アンモニウムの濃度に対する測定値の変化が全く同一傾向を示しているのが注目される。このことは測定値の分散は測定法の誤差に起因するものでなく、個体差によるものであることを示している。

#### 浸漬後の成長量について

貝が塩化アンモニウム添加海水に浸漬されることによってその後の成長にどのような影響を受けるかを知るためにつぎの実験を行なった。

一定時間塩化アンモニウム添加海水に浸漬した供試貝を化繊網袋のまま養殖筏に移し、当日あるいは翌日およびその後約10日間隔に貝の水中重量を測定し、期間内の1日1個当たり増重量を求めた。

第1回実験は9月11日に酸素消費量を測定した貝(48時間浸漬)を材料として同月12日から10月23日までの41日間、第2回実験は9月17日に酸素消費量を測定した貝(72時間浸漬)を材料として同月19日から10月23日までの34日間、第3回実験は9月28日に濾過水量を測定した貝(24~120時間浸漬)を材料として同月29日から10月23日までの24日間の成長量を測定した。

実験結果は Fig. 13, 14 および15に示すとおりである。

第1回の実験では48時間浸漬後の酸素消費量を測定したが塩化アンモニウム添加量1000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ の場合の消費量が著しく高く、この現象を刺戟に対する生理的反応によるものと推察した。また添加量3163 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 以上では酸素消費が著しく阻害されるのがみられた。海に移した後のそれらの貝の成長量は Fig. 13 に示すように添加量316 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 以下の各群ではほとんど差がみられず、1000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ の貝群ではやや減退がみられ、3163 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 以上の各群では24時間以内にすべての個体が斃死した。添加量1000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ の貝群は養殖筏に移した後、31日を経過してもなお日間成長量が小さく、塩化アンモニウム添加海水浸漬による影響が残っているものと推察される。なお、各群の成長は海に移した後の最初の10日間が最も大きく、つぎの9日間がこれにつぎ、その後の2回の測定期間が最も小さく相互にはほとんど差がみられない。このような変化はおそらく浸漬用水

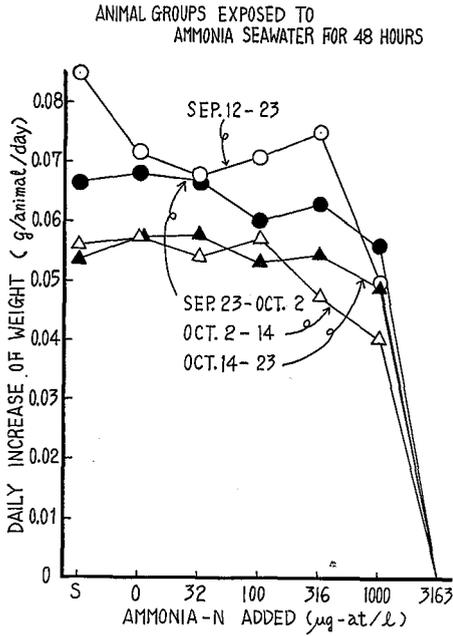


Fig. 13. Effect of the concentration of ammonia added to culture water on the growth of the test animals after transplanted to sea-farm. S: Specimens in sea-farm.

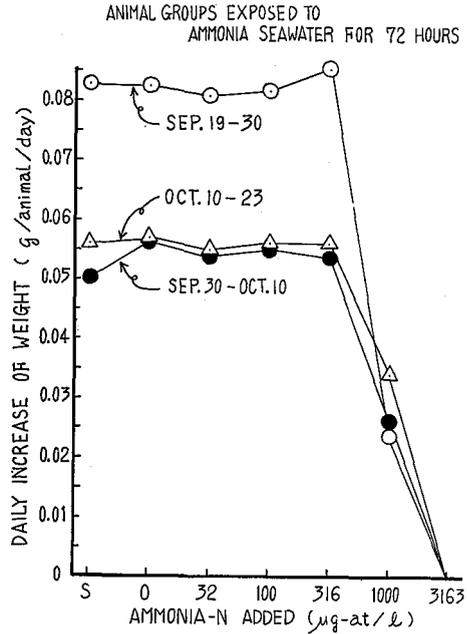


Fig. 14. Effect of the concentration of ammonia added to culture water on the growth of the test animals after transplanted to sea-farm. S: Specimens in sea-farm.

槽での収容密度，換水率などの飼育条件が適当でなかったため，それに対する生理的補償作用のあらわれであると推察される。

第2回の実験群も酸素消費量において第1回の貝群とほぼ同様の变化を示した。それらの貝を海中に移した後の成長量は Fig. 14 に示すように添加量 316 $\mu\text{g-atN/l}$  以下の貝群相互間には全く差がみられず，添加量 1000 $\mu\text{g-atN/l}$  の貝群は海中に移してから11日目の調査において5個中4個が斃死し，残りの1個の成長量はそれ以下の添加量の各群の約50%であった。なお，その1個の成長量はその後21日目および34日目と時間の経過とともに次第に回復する傾向がみられている。

第3回の実験群については濾過水量の測定を行なったが，添加量 316 $\mu\text{g-atN/l}$  以下では浸漬時間のちがいによる濾過水量の変化はほとんどみられず，それ以上の添加量では添加量が増加するに伴って濾過水量が減少する傾向がみられた。それらの貝を海中に移した後の成長量については Fig. 15 に示すように，添加量 1000 $\mu\text{g-atN/l}$  24時間浸漬の場合を除きいずれの添加量の場合も，浸漬時間による成長の差は認められない。また添加量 316 $\mu\text{g-atN/l}$  以下の各群相互間およびそれらと 1000 $\mu\text{g-atN/l}$  24時間浸漬群との間には添加量のちがいによる成長差はみられない。添加量 1000 $\mu\text{g-atN/l}$  の各群の成長量は24時間浸漬の場合を除き，はじめの10日間では 316 $\mu\text{g-atN/l}$  以下の各群の約50%を示したが，

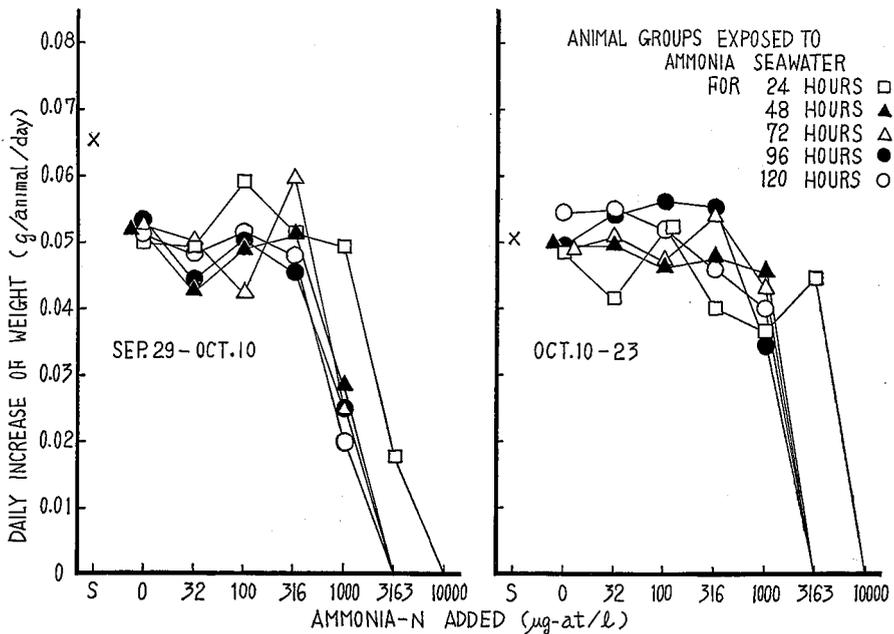


Fig. 15. Effect of the concentration of ammonia added to culture water on the growth of the test animals after transplanted to sea-farm. S: Specimens in sea-farm.

つぎの13日間では約80%にまで回復した。

なお、添加量  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  に浸漬された貝群では最初の11日間において72および96時間の浸漬の両群から5個中2個、120時間浸漬群が5個中3個斃死し、また  $3163\mu\text{g-atN}/\ell$  に浸漬された貝群は11日以内にすべての個体が斃死した。

以上3回の結果をまとめると、海中に移した後の貝の成長は浸漬時間にはほとんど関係なく、添加量  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  およびそれ以上で阻害され、その影響は海中に移して後43日経過してもなお残っていた。ただし、添加量  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  浸漬群の成長量は日時の経過とともに次第に回復する傾向がみられる。

#### 致死濃度について

アコヤガイに対する添加塩化アンモニウムの致死濃度を知るため、つぎの調査と実験を行なった。

1) 塩化アンモニウム添加海水に浸漬したのち海中に移してその後の成長量を測定した実験群について、貝が水槽中にある間および海中に移して後、水中重量を測定するたびに接触あるいは衝撃刺戟に対する反応の強さおよび斃死貝数を調査した。調査結果を Table 2 に示した。

2) 調査方法の項で述べたように水量  $5\ell$  の水槽に貝を1個ずつ収容し、塩化アンモニ

Table 2. Irritability and mortality of the test animals exposed to ammonia seawater (5 specimens/16ℓ/a vessel, Culture water was exchanged once a day). ○: Normal reaction, ▲: Faint reaction, ×: Death. \*: Hours or days in sea-farm after exposure to ammonia seawater.

Date and WT	Ammonia-N added μg-at/ℓ	Hours in ammonia - seawater				
		24	48	72	96	120
Sep.9-11 21.8-22.4°C	1000	○○○○○	○○○○○	—	—	—
	3163	○○○○○	▲▲▲▲▲ (×××××) 24hrs*	—	—	—
	10000	○○○○○	▲▲▲▲▲ (×××××) 24hrs*	—	—	—
Sep.15-18 26.0-27.4°C	1000	○○○○○	○○○○○	▲▲▲▲▲ (○××××) 11days*	—	—
	3163	○○○○○	▲▲▲▲▲	▲▲▲▲▲ (×××××) 24hrs*	—	—
	10000	○○○○○	×××××	—	—	—
Sep.23-28 19.1-25.6°C	1000	○○○○○	○○○○○	○○○○○ (○○○××) 11days*	○○○○○ (○○○××) 11days*	○○○○○ (○○○××) 11days*
	3163	○○○○○	××▲▲▲ (—×××) 11days*	—	—	—
	10000	○○○○○	×××××	—	—	—

Table 3. Irritability and mortality of the test animals exposed to ammonia seawater (Oct. 8-14, WT: 21.0±1.0°C, A specimen/5 ℓ/a vessel, Culture water was exchanged once a day). ○: Normal reaction, ▲: Faint reaction, ×: Death. \*: Test animals were transplanted to running natural seawater after exposure to ammonia seawater.

Ammonia-N added μg-at/ℓ	Hours in ammonia - seawater			Within 3 days in running seawater
	24	48	72	
0	○○○○○	○○○○○	○○○○○	○○○○○
1000	○○○○○	○○○○○	○○○○○	○○○○○
2000	○○○○○	○○○○○	○○▲▲▲	○○×××
3000	○○○○○	○○▲▲▲	▲▲×××	×× —
4000	○○○○○	○○▲▲▲	○○×××	×× —
5000	○○○○○	○○▲▲▲	○▲×××	×× —
6000	○○○○○	○○▲▲▲	○▲×××	×× —
7000	○○○○○	○○▲▲▲	○▲×××	×× —
8000	○○○○○	○○▲▲▲	▲▲×××	×× —
9000	○○○○○	○○▲▲▲	▲▲×××	×× —
10000	○○○○○	○○▲▲▲	▲▲×××	×× —

ウムの濃度を 0, 1000, 2000……9000, 10000μg-atN/ℓ として, 浸漬後24, 48, 72時間およびその後流水水槽に移してから3日目に刺戟に対する反応の強さと斃死個体数を調査した。調査結果を Table 3 に示した。

添加塩化アンモニウム濃度について, 水槽中において弱反応または斃死個体が全くみられなかったのは添加量 316μg-atN/ℓ およびそれ以下の各群であって, 1000~2000μg-atN/ℓ では72時間以上で弱反応個体のみられ, 3000~3163μg-atN/ℓ では48時間で弱反応あるいは斃死個体のみられた。

浸漬時間について, 24時間浸漬の場合は全く弱反応および斃死個体はみられないが, 48時間では 3000~3163μg-atN/ℓ で弱反応および斃死個体のみられ, 72時間では 1000μg-atN/ℓ で弱反応個体のみられている。

飼育水温について, 水温 26.0~27.4°C (9月15—18日) と 20~22°C (9月9—11日および10月8—9日) の場合を比較すると, 高温の場合は48時間浸漬で 10000μg-atN/ℓ のすべての個体が斃死し, 3163μg-atN/ℓ で弱反応個体のみられ, 72時間浸漬では 1000μg-atN/ℓ で弱反応個体のみられている。これに対して低温の場合は48時間浸漬で斃死個体はなく, 3000~3163μg-atN/ℓ で弱反応個体のみられ, 72時間浸漬では 2000μg-atN/ℓ で弱反応個体のみられている。

以上の結果から, 貝に対する添加塩化アンモニウムの致死濃度は水温および浸漬時間によって異なると思われる。弱反応個体はその後海中あるいは流水中に移してもその大部分が斃死しているので, 今回はそれらを斃死個体としてとりあつかい, また 16ℓ 水槽に5個収容した場合と 5ℓ 水槽に1個収容した場合の条件的差異を無視すると, 貝の斃死をもたらすところの添加塩化アンモニウムの最低濃度は水温 20~22°C の場合に48時間浸漬で 3000μg-atN/ℓ, 72時間で 2000μg-atN/ℓ となり, 水温 26~27°C の場合には48時

間で  $3163\mu\text{g-atN}/\ell$ , 72時間で  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  になる。ただしここで高水温48時間の致死濃度は  $3163\mu\text{g-atN}/\ell$ , 低水温で  $3000\mu\text{g-atN}/\ell$  となっているが, これは前述のようにそれぞれの実験によって設定された添加塩化アンモニウム濃度の段階が異なるためであって, 高水温の場合にはより低い濃度で貝に影響を与えるものと考えられ, 濃度の段階を 1000, 2000,  $3000\mu\text{g-atN}/\ell$  と設けた場合, 高水温48時間浸漬の致死濃度は  $2000\mu\text{g-atN}/\ell$  になるものと推定される。

### 総合的考察

以上, 添加塩化アンモニウムの濃度に対する各種生理実験と致死濃度に関する実験の結果について述べたが, それらを相互に比較して総合的に検討するため, 各結果を Fig. 16 にまとめた。ただし致死濃度に関しては除外した。また, 各生理実験の添加塩化アンモニウムの濃度に対する測定値はいずれも水温あるいは浸漬時間に対応するような傾向的变化を示さなかったことおよび1回当りの実験員数が比較的少なかったためかなりの分散を示したことなどの理由により, 一応すべての値を添加塩化アンモニウム濃度別に平均して示した。なお, 浸漬後の成長量に関しては調査例が多く, いずれも同様の傾向を示したので9月12日に海中に移した48時間浸漬群について約10日間隔で4回測定した値を平均して代表させた。

各生理実験の結果を比較すると, 酸素消費量については塩化アンモニウム添加量  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  に亢進がみられ, 足糸分泌量と杆晶体重量については同濃度において全く消失している。その他の生理機能についてはすべて添加量  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  で減衰(粘液量については増加)がみられている。

つまり, 総合的にみると, それぞれの実験条件としてはかなり大きい温度差があるにもかかわらず, 比較的定常的な傾向がみられており, 塩化アンモニウム添加量  $316\mu\text{g-atN}/\ell$  までは貝に対する影響はほとんどみられ

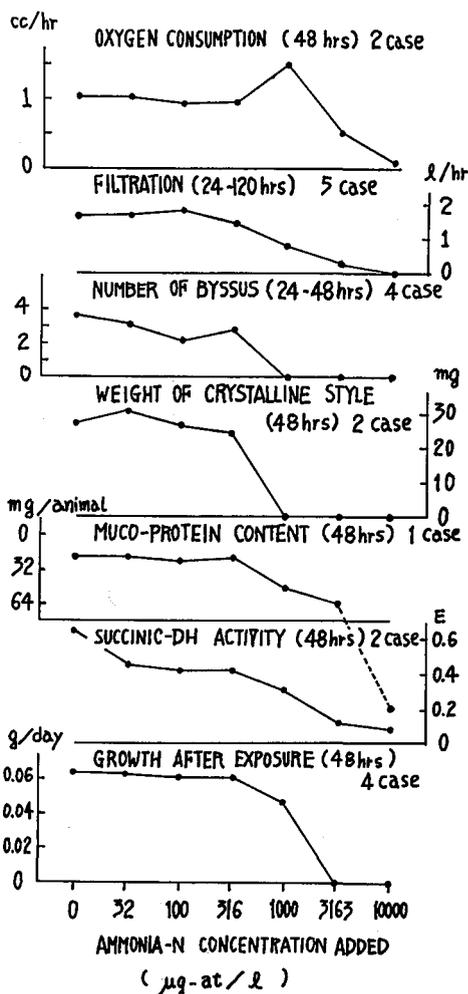


Fig. 16. Relations between concentration of ammonia added to culture water and physiological activity of test animals. Each values represent the average of some cases.

Table 4. Comparable limit of ammonia-N concentrations for Japanese pearl oyster.

Temperature of culture water °C	Exposure time hrs	Ammonia-N concentration $\mu\text{g-at}/\ell$		
		Unaffected	Affected	Lethal
20~22	48	316	1000	3000
	72	316	1000	2000
26~27	48	316	1000	2000
	72	316	1000	1000

ないが、 $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  では明らかに認められ、両濃度の中間に影響の有無の臨界点があるものと推定される。

一方、致死濃度に関しては前述のとおり、水温および浸漬時間によって異なり、 $1000\sim 3000\mu\text{g-atN}/\ell$  の範囲にあるものと推定される。

以上、一般の生理実験および致死濃度に関する実験の結果をまとめると Table 4 に示すとおりになる。

## 論 議

### 生理実験についての検討

水中の添加塩化アンモニウム濃度に関する生理的実験と致死濃度の実験を行なったが、生理実験に関してはその大部分が未開の分野であり、多くの問題点を残している。

酸素消費量を二枚貝の生理的指標として用いる試みは、アサリを材料として各種薬物の濃度と浸漬時間を変えて、それらの酸素消費量を測定した赤築<sup>24)</sup> の系統的な実験がある。その報告によればこれらの薬物のうち明らかにその濃度に比例して消費量が減少しているもの、および実験濃度の範囲内では対照より増加しているものがある。またそれらの薬物の多くのものが浸漬時間(24:48時間)による消費量の差を認めることができない。また森<sup>25)</sup> は低圧酸素下におけるアコヤガイの酸素消費量について実験しているが、その結果から貝はある範囲までは水中の酸素量の低下にもなって消費量を減少させて順応するが、さらに酸素量が低下し、生体が代謝の平衡を維持できなくなる限界に達すると外囲条件に對抗しかえって消費量が増加するようになるかと推定される。この傾向は植本<sup>26)</sup> による低圧酸素下の実験においてもみることができる。これらの結果から酸素消費量を生理的指標として用いる場合には、正常な外囲条件に対する消費量より増減いずれでも生体に対して何らかの影響が生じていることが推測される。今回の実験の場合に添加量  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  における消費量の著しい増大は他の生理実験の結果と対比し、明らかに外部刺激に対する生理的対抗現象であるとみなされる。ただし、このことは一面、酸素消費量のみをもって生理的活性の度合いを測定することが不適當であることを示している。

濾過水量に関する研究は極めて多い。しかしながら濾過水量と摂餌量、酸素消費量、鰓繊維運動などの関係、および体内生理的活力による増減と外囲環境による変化との区分

あるいは関連など、多くの疑問が残されている。古川、小林<sup>27)</sup>はカキ、アコヤガイに対する塩分濃度の影響について、また宮内<sup>45)</sup>はアコヤガイに対する水温、比重の影響について濾過水量を生理的指標として用いている。しかしながらそれらの変化が外環境の刺激による一時的な状態かあるいは生理的活力の衰弱によるものか不明である。この点について今回の実験では各種の濃度の塩化アンモニウム添加海水に所定の時間浸漬した貝に同一濃度の塩化アンモニウム添加海水中の懸濁物質を濾別させたため、得られた結果は生理的活力の強弱を示すものと考えてよいと思われる。

また懸濁物質の濃度について Jørgensen<sup>10)</sup>, Chipman and Hopkins<sup>11)</sup> Fox et al.<sup>46)</sup> は濃度の高低は濾過水量に関係しないと述べ、千葉・大島<sup>31)</sup>も実験濃度の範囲内では差がみられなかったと述べている。一方、Loosanoff and Engle<sup>47)</sup>は餌料の種類によりある濃度以上では濾過水量が減少すると述べ、辻井・大西<sup>12)</sup>はクラミドモナス $34 \times 10^4$  cells/mℓの場合と $10 \times 10^4$  cells/mℓの場合を比較し、前者の場合の濾過率が後者より低かったと述べている。今回の実験ではクロレラを用い当初の濃度が約 $340 \times 10^4$  cells/mℓであった。結果として濾過水量は塩化アンモニウム無添加水槽の貝でも平均 $1.2 \sim 2.3$  ℓ/hr であって養殖場の場合<sup>48,49)</sup>と比較して著しく少なく、今後他の阻害要因と影響の程度を比較するためにも懸濁物質の種類および濃度について検討が必要である。

今回の実験において添加塩化アンモニウムの濃度と濾過水量との関係は浸漬時間別に比較すると添加量 $316 \mu\text{g-atN}/\ell$ の範囲内でもかなり著しい変化を示したが、それらを添加塩化アンモニウム濃度別に平均すると期待されるような曲線が得られている。これは他の実験においても同様のことがいえるが、各群の供試貝が5個体、添加塩化アンモニウム濃度別にまとめたものは25個体の平均によって示されたもので、より精密な実験を必要とする場合は個体数を増加する必要があると考えられる。

足糸分泌量を貝の生理的指標とする試みは小林<sup>13)</sup>が海と池とでアコヤガイを養殖した場合の足糸分泌力(24時間附着個体数)を比較して、池が悪条件であったために附着個体数が少なかったものと推察し、足糸分泌力を biological indicator として使用できるのではないかと述べている。一方、関・水谷<sup>35)</sup>は鳥羽、浜島の両湾で養殖されている貝の24時間附着個体数を調査し、浜島湾のものは成長その他すべての結果が良好であるにもかかわらず、附着個体数のみは鳥羽湾のものが多く、附着個体数のちがいは化学的環境条件あるいは貝の生理的活力のちがいによるものでなく、流れの強さによるものであると論じている。これらの両結果から推察すると、足糸分泌量は波浪、流れその他物理的条件によって著しく変化するものと考えられ、それらの条件を一定にした場においてのみ指標となり得るものと判断される。今回の実験においては塩化アンモニウム添加量 $1000 \mu\text{g-atN}/\ell$ で足糸分泌は全く行なわれなくなり、死に到らなくてもその値が0となることから貝体への影響の程度を示す指標となり得るかどうか、またかなり個体差が大ききことなどが問題となるが、影響の有無に対する判定材料として好適であるように思われる。

杆晶体の形成あるいは消失に関する生理学的な追究は古くから行なわれており、Yonge<sup>45)</sup>は貝の生活力あるいは新陳代謝能力が低下すると、杆晶体囊の分泌力が低下し杆晶体を消失せしめると論じている。和田<sup>16,36)</sup>はアコヤガイを低比重、空中露出、低圧酸素、飢餓、

低 pH および高温にさらした後、杆晶体をとり出し一定の緩衝液に浸してその溶解速度を測定し、低比重の場合が最も速く、空中露出、低圧酸素がこれにつき、飢餓、低 pH は比較的遅く、高温に対しては対照とほとんど変りがなかったと述べている。また太田<sup>37)</sup>、和田<sup>16)</sup>はアコヤガイの杆晶体の長さおよび重量の季節的消長を調査しているが、いずれも貝の生理的活力<sup>13)</sup> および成長<sup>38)</sup> の季節的消長と全く一致している。今回の実験においては足糸分泌量の変化と全く同様に、添加量  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  -48時間浸漬で全く消失し、 $316\mu\text{g-atN}/\ell$  までは対照とほとんど差がみられないことから、生理的影響の程度を判定する指標としては問題があるが、影響の有無を判定する材料として用いることができると考えられる。

粘液放出(量)についての生理学的な知見は全く見当らない。貝が不適環境にさらされた場合に、多量の粘液を放出することは経験的に知られているが、放出機構については1)体表から粘液が遊離するため粘液の分泌量が増加するためでないとする考えと、2) 粘液の分泌量が増加するためであるとする考えがある。今回の実験においては24時間ごとに飼育水を交換したが添加塩化アンモニウムの濃度の高い水槽では飼育水は常に多量の有機物の溶存を示すように泡立ち、白濁していた。また、これまでの飼育実験においても貝に悪影響があるとみられる水質の場合のC.O.D.は長期間常に高い値を示しており、貝体の衰弱にともなう機能的な限界まではおそらく溶出と分泌が同時に行なわれているのではないかと推察される。この点については今後追試が必要である。今回の実験においては無換水で48時間経過した飼育水の粘液蛋白量を測定した。結果として塩化アンモニウム添加量  $10000\mu\text{g-atN}/\ell$  の水槽では異常に高い値を示したがこれはおそらく、一部の貝が既に斃死あるいは斃死直前にあり、体表から粘液が多量に遊離したためとみられる。一方、添加量  $1000, 3163\mu\text{g-atN}/\ell$  では添加塩化アンモニウム濃度に比例して粘液量が増加しており、貝に対する不適環境を示す指標として用いることができると考えられる。

コハク酸脱水素酵素反応については藤谷<sup>18)</sup> が水質汚濁のマガキに及ぼす影響の生理的指標として用いている。市川・小倉<sup>38)</sup> はコハク酸以外の Krebs 環およびそれに合流する物質代謝中間産物を基質とする約19種の Tetrazolium 還元反応の存在を指摘し、さらにアミノ酸、脂肪酸を加えて計34種の基質を脱水素する事実を明らかにした。また市川<sup>39)</sup> は32日間飢餓に陥らせ体重を40%減少した山羊について基質35種を用いて調べ、脱水素酵素の活性度はいずれの基質においても低下するがそれらのうち、比較的低下の少なかったものと著しく低下をみたものとに区分されるとしている。また、同氏は日本脳炎感染後4日の雑系マウスについて調べ、コハク酸脱水素酵素にはほとんど変化がないが、他の酵素におとろえているものがあつたと述べている。つまり、ある病症を生理学的にとらえようとする場合には、単にコハク酸のみでなくその他の基質を用いて総合的に検討する必要がある。しかしながら、外囲環境に対する生物の生理的指標として用いる場合、それら基質のすべてを多数の個体に対して同時に実施することは極めて困難であるため、今回はとくにこれまで多くの研究に使用されてきたところのコハク酸を基質として試みた。結果は他の指標と同様に塩化アンモニウム添加量  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  で反応の減衰がはじまり、 $3163\mu\text{g-atN}/\ell$  でほとんど反応がみられなくなっており、ある種の実験においては本酵素反応は

貝体の生理的指標として用いることができるかも知れない。なお、この実験の範囲では、活性の低下が細胞呼吸阻害によるものか、別の機能阻害による体全体の衰弱に起因するものかは明らかでない。

浸漬後の成長量についてはこれまでに片田<sup>40,41)</sup>が低比重海水がアコヤガイにおよぼす影響を示す指標として用いた実験例がある。生物が生理的に抑圧され、その後抑圧から解放された場合における生理的負債に対する補償作用については植本<sup>20)</sup>が挿核手術に伴なう仕立ておよび養生の生理的経過のなかで論じており、ある限度までの抑圧はその後の成長量にはほとんど影響をもたらされないか、あるいは逆により良好な結果として示される場合があり得る。また、浸漬後、閉殻反応が衰弱している貝を海中に移した場合には、他の生物の侵襲によってしばしば斃死させられることがあり、衰弱と斃死との区別が不明確になるおそれがある。今回の実験においては、24時間浸漬を除き塩化アンモニウム添加量 $3163\mu\text{g-atN}/\ell$ 以上の浸漬群はすべて海中に移してのち斃死したため、 $1000\mu\text{g-atN}/\ell$ 以下の浸漬群が調査の対象となり、そのうち $1000\mu\text{g-atN}/\ell$ の浸漬群のみに成長量の減衰が認められた。厳密な意味での生理的指標としては問題点が多いが、海中で悪い水質にさらされた場合の実際的な被害状況を知る上での適当な方法であると考えられる。

#### 溶存アンモニア量に対する2つの考え方

魚貝類の分泌排泄する窒素化合物はそのうち25~50%がアンモニアで、残りが尿素、クレアチン、アミノ酸などであり、それらの組成は生物の種類および生理、外部環境の状態で大差があることが知られている。また佐伯<sup>2)</sup>は魚貝類のアンモニア分泌量を測定し、魚では体重100gにつき1日に平均25mg(20~25°C)、またアサリでは殻付重量100gにつき1日に9mg(15°C)であったと報告している。

魚貝類の排泄物の種類、量およびそれらが生物に与える影響についてはほとんど知られていないので、量も比較的多く、かつ分析が容易であるところのアンモニアが排泄物の量的指標としてとりあつかわれてきた。一般に水族館などにおいて魚貝類が健全に飼育されるアンモニア-N量は $0.1\sim 0.2\text{mg}/\ell$ ( $7\sim 14\mu\text{g-at}/\ell$ )とされており<sup>2)</sup>、また佐野・馬庭<sup>3)</sup>はアワビについて実験し、アンモニア-N $3\mu\text{g-at}/\ell$ において1時間当り酸素消費量が $2.8\text{cc}/\ell$ であったものが $10\mu\text{g-at}/\ell$ では $1.4\text{cc}/\ell$ に減少したと述べている。このような傾向は筆者らのこれまでの実験<sup>4-5)</sup>においてもみられており、水槽飼育アコヤガイの健全な発育を示したときのアンモニア量は平均 $10\mu\text{g-atN}/\ell$ 以下で、その量が減少するに従って良好な成長を示している。

一方、Brockway<sup>50)</sup>によれば水中窒素が魚類に影響を与えるのは窒素が血液中に入り、血液の酸素摂取力を弱めるためであるとし、また川本<sup>1)</sup>はアンモニアを添加した水槽で金魚を飼育し、アンモニア-N $0.2\sim 1.2\text{ppm}$ ( $300\sim 1200\mu\text{g-at}/\ell$ )で成長阻害があったと報告している。

海産二枚貝については大谷・薄井・木俣・石川<sup>42)</sup>がハマグリを用いて、新田・中井<sup>43)</sup>がアサリを用いて、また大久保・大久保<sup>4)</sup>はムラサキイガイ、マガキの卵およびD型幼生を用いてアンモニアの致死濃度あるいは影響濃度を調査している(Table 5)。これらの

Table 5. Ammonia-N concentrations affective or unaffactive on various animals and reagents from previous reports

Investigator	Test animal	Reagent	Ammonia-N concentration ( $\mu\text{g-at}/\ell$ )		
			Unaffected	Affected~imlethal	Lethal
Ōya, Usui, Kimata, and Ishikawa <sup>42)</sup>	<i>Meretrix lusoria</i>	NH <sub>3</sub>	Response* - 30.26, $\pm$ 60.52, ( 1776)	+ 94.18, $\pm$ 182.92, ( 5529)	ppm
		(NH <sub>4</sub> )HCO <sub>3</sub>	- 160.62, $\pm$ 321.25, ( 2032)	+ 642.50, $\pm$ 2570.00, ( 8122) ( 32489)	ppm
		NH <sub>4</sub> Cl	-1250.00, $\pm$ 2500.00, (23363) (46725)	+5000.00, $\pm$ 20000.00, (93450) ( 37380)	ppm
		NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	-1250.00, $\pm$ — (15613) ( - )	+2500.00, $\pm$ 10000.00, (31225) (124900)	ppm
* — Keep the valves opening, $\pm$ Opening or colse the valves, + Close the valves, $\ddagger$ Close the valves and then remove with the foot, $\#\#$ Close the valves tightly.					
Nitta and Nakai <sup>43)</sup>	<i>Tapes (Amygdala) philippinarum</i>	NH <sub>4</sub> OH	After 86hrs exposure	$4 \times 10^{-5}$ (2773)	$1 \times 10^{-4}$ (6933)
Okubo and Okubo <sup>9)</sup>	Embryonic development of <i>Mytilus edulis</i>	NH <sub>4</sub> Cl	10 ( 554)	32 NH <sub>4</sub> ppm (1774)	
		CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	10 ( 554)	32 NH <sub>4</sub> ppm (1774)	
	Embryonic development of <i>Crassostrea gigas</i>	NH <sub>4</sub> Cl	10 ( 554)	32 NH <sub>4</sub> ppm (1774)	
		CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	1.0 (55.4)	3.2 NH <sub>4</sub> ppm (177.4)	
D stage Larvae of <i>Crassostrea gigas</i>	NH <sub>4</sub> Cl	3.2 ( 177)	10 NH <sub>4</sub> ppm ( 554)		

考え方はアンモニア自体の害作用の検討であって上述のように水質の指標として用いるのとは全く異なっている。

以上のアンモニアに対する2つの考え方による貝への影響の濃度を比較すると、指標とする場合のアンモニア量は著しく少なく、実際に阻害および斃死をもたらすと認められるところの添加アンモニアの濃度は著しく高いことが注目される。この点に関しては、動物の排泄物あるいは有機物の分解生産物中の何か別の成分が、動物の生理機能および成長をより大きく支配していることを暗示する。この点については今後、より詳細な研究が必要である。

#### 漁場および汙過循環水槽中のアンモニア-N量

1968年度のアゴ湾内13地点水質分析において<sup>4)</sup> アンモニア量が最も多かったのは4月30日、鵜方浦地点の  $72.1\mu\text{g-atN}/\ell$  であり、月別平均では5月20日～6月17日の  $3.6\mu\text{g-atN}/\ell$  であった。また、汙過循環水槽中のアンモニア量の最高は水量  $39\ell$ 、汙過砂  $14.5\text{kg}$ 、収容貝数21個の場合の  $60\mu\text{g-atN}/\ell$  であった<sup>3)</sup>。

今回の実験において貝に影響が全く認められない濃度の範囲は  $316\mu\text{g-atN}/\ell$  以下であり、養殖漁場あるいは水槽中のアンモニア自体が貝に影響を与えるとは考えられない。

### 要 約

1. アコヤガイの生理機能におよぼす添加塩化アンモニウムの影響を調査するためにつきの7項目の生理実験および致死濃度に関する実験を行なった。

酸素消費量、汙過水量、足糸分泌量、杆晶体重量、粘液放出量、コハク酸脱水素酵素反応、浸漬後の成長量。

2. 生理実験については水温および浸漬時間による差はみられなかった。酸素消費量では塩化アンモニウム添加量  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  で亢進がみられ、足糸分泌量と杆晶体重量では同濃度で0となったが、その他の項目では  $316\mu\text{g-atN}/\ell$  までは対照群と差がみられず、 $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  およびそれ以上では濃度の増加にともなって減衰(粘液放出量では増加)が認められた。

3. 致死濃度については水温および浸漬時間による差がみられた。水温  $20\sim 22^\circ\text{C}$  の場合は48時間浸漬で添加量  $3000\mu\text{g-atN}/\ell$ 、72時間浸漬で  $2000\mu\text{g-atN}/\ell$ 、水温  $26\sim 27^\circ\text{C}$  の場合は48時間浸漬で  $2000\mu\text{g-atN}/\ell$ 、72時間浸漬で  $1000\mu\text{g-atN}/\ell$  およびそれ以上の濃度で斃死個体が生ずるものと判断された。

### Summary

1. The present study has been done to make clear the effect of ammonium chloride concentration added to seawater on the following physiological functions of the Japanese pearl oyster and the lethal concentration of ammonia-N for them.

Oxygen consumption, Filtration, Secretion of byssus, Weight of crystalline style,

Release of mucus, Succinic dehydrogenase activity and Growth after exposure.

2. No significant differences in activity of physiological function was observed between the experimental animals exposed to seawater added with ammonium chloride which contained 316  $\mu\text{g-atN/l}$  or less and the untreated control animals. While excepting for a few physiological function, it was recognized a general tendency that as the concentration of ammonia-N increased the activity decreased (the release of mucus increased) in 1000  $\mu\text{g-atN/l}$  and over. The oxygen consumption accelerated, and the byssus and crystalline style were not observed in 1000  $\mu\text{g-atN/l}$  and over.

No effect was recognized, however, on the activity of the temperature and the duration of exposure to seawater added with ammonium chloride in range of 20-28°C and 24-120 hours, respectively.

3. The lethal concentration of ammonia-N for the animals varied depending upon the temperature and the duration of exposure.

Some of the animals were found dead or faint in the reaction to a stimulus by exposing to seawater added with ammonium chloride which contained 3000  $\mu\text{g-atN/l}$  for 48 hours and to 2000  $\mu\text{g-atN/l}$  for 72 hours in range of 20-22°C, and by exposing to 2000  $\mu\text{g-at N/l}$  for 48 hours and to 1000  $\mu\text{g-atN/l}$  for 72 hours in range of 26-28°C.

Most of the animals observed the faint reaction were found dead few days after transplanting to the sea-farm or a tank with inflowing the natural seawater.

4. From the results mentioned above, the comparable limit of ammonia-N concentration for Japanese pearl oyster may be determined as presented in Table 4.

## 文 献

1. 川本信之 1958. 魚類生理学からみた淡水養殖Ⅰ. 養魚池に於ける魚類排泄窒素の魚類成長に及ぼす影響について. Rep. Fac. Fish. Mie Univ. 3 (1): 104-121.
2. 佐伯有常 1958. 魚介類の循環濾過式飼育法の研究. 基礎理論と装置設計基準. 日水誌23 (2): 648-695.
3. 佐野 孝・馬庭玲子 1962. エゾアワビの生育におよぼす環境条件について. 東北区水研報21: 79-86.
4. 桑谷幸正・西飯 保 1966. アコヤガイの水槽飼育にともなう水質変化と貝の成長について. 国立真珠研報11: 1308-1333.
5. 桑谷幸正・西飯 保 1968. 水槽飼育アコヤガイの成長におよぼす各種緩衝試薬の影響について. 国立真珠研報13: 1597-1616.
6. 桑谷幸正・西飯 保 1969. アコヤガイの成長におよぼす飼育水の pH の影響について. 日水誌 35(4): 342-350.
7. 桑谷幸正・西飯 保・磯貝文男 1969. アコヤガイの成長におよぼす飼育水中の nitrate の影響について. 国立真珠研報14: 1735-1747.
8. 桑谷幸正・西飯 保 1969. 水槽飼育アコヤガイの成長におよぼす収容密度と換水率の影響について. 国立真珠研報14: 1748-1764.
9. 大久保勝夫・大久保孝子 1962. 水質汚濁の生物学的判定法の研究. ウニ類および斧足類の卵発生期を利用する生物試験法について. 東海区水研報32: 131-140.

10. Jørgensen, C. B. 1949. The rate of feeding by *Mytilus* in different kinds of suspension. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 28 : 333-344.
11. Chipman, W. A. and Hopkins, J. G. 1954. Water filtration by the bay scallop, *Pecten irradians*, as observed with the use of radioactive plankton. Biol. Bull. 107 : 80-91.
12. 辻井 禎・大西侯彦 1957. アコヤガイの濾過水量及び捕食の実験的研究Ⅰ. 濾過水量について. 国立真珠研報 3 : 194-201.
13. 小林新二郎 1951. アコヤ貝における足糸分泌力の年変化. 生活力の簡易測定法. 真珠の研究 2 (1, 2) : 7-11.
14. 結城了伍 1952. アコヤガイの足糸分泌にみられる日周期活動Ⅰ. 容器内止水及び流水条件下並びに自然状態における観察. 真珠の研究 2(4) : 5-16.
15. Yonge, C. M. 1926. Structure and physiology of the organ of feeding and digestion in *Ostrea edulis*. Mar. Biol. Ass. N. S. 14 : 295-386.
16. Wada, K. T. 1967. Studies on the formation and dissolution of the crystalline style in Japanese pearl oyster. *Pinctada martensii* (Dunker). Pamphlet Dept. Fish. Fac. Agr. Kyoto Univ. : 1-73.
17. Winzler, R. et al. 1948. J. Clin. Inv. 27 : 609 (藤井暢三 1964. 生化学実験法. 南山堂. 東京より引用)
18. 藤谷 超 1962. パルプ工場廃水の水産生物に及ぼす生理的影響に関する研究. 内海区水研報 17 : 1-87.
19. 河合清三 1954. アコヤガイの物質代謝に関する研究Ⅰ. Carbonic anhydrase について. 日水誌19(9) : 925-928.
20. 河合清三 1957. アコヤガイの物質代謝に関する研究Ⅲ. 組織呼吸について. 日水誌 22(10) : 626-630.
21. 河合清三 1956. 海産二枚貝鰓のチトクローム系について. 生化学 28 (6) : 379-383.
22. 河合清三 1958. 海産二枚貝組織の末端酸化系について. 日水誌 23 (11) : 738-742.
23. Seligman, A. M. and Rutenberg A. M. 1951. The histochemical demonstration of succinic dehydrogenase. Science 111 : 317-320.
24. 赤築敬一郎 1964. 工場廃水の魚介類に対する毒性に関する研究. 水産大学校研報 13 (3) : 157-211.
25. 森 主一 1948. 低圧酸素海中のアコヤガイの呼吸. 貝類学雑誌15(1-4) : 52-54.
26. 植本東彦 1967. 真珠養殖技術における仕立て作業の意義とその効果に関する研究. 真珠技術研究会報6(2)1-99.
27. 古川・小林 未発表(古川 厚ほか 1961. 内海区水研報14 : 1-151より引用).
28. 太田 繁・福島洋太郎 1961. アコヤガイの食性に関する研究Ⅳ. 低比重海水がアコヤガイの糞量に及ぼす影響. 国立真珠研報 6 : 567-572.
29. 結城了伍 1951. アコヤガイ鰓の繊毛運動. 真珠の研究 2(1-2) : 44-55.
30. 小林 博・松井淳平 1953. アコヤガイの環境変化に対する抵抗性の研究Ⅰ. 鰓の繊毛運動について. 水産講習所研報 3(2) : 123-131.
31. 千葉健治・大島泰雄 1957. アサリを主とする海産二枚貝の濾水, 摂餌に及ぼす濁りの影響. 日水誌23(7, 8) : 348-353.
32. Nomura, S. and Tomita, G. 1933. A simple method of measuring the mechanical activity of cilia. Jour. Shanghai Sci. Inst., Sec. VI, 1 (1) : 29-39.
33. Tomita, G. 1934. The physiology of ciliary movement. I. The effect of osmotic pressure. Jour. Shanghai Sci. Inst., Sec. VI, 1 (5) : 69-76.
34. Tomita, G. 1934. The physiology of ciliary movement. II. The effect of hydrogen ions. Jour. Shanghai Sci. Inst., Sec. VI, 1 (6) : 77-84.
35. 関 政夫・水谷篤臣 1969. 鳥羽周辺の養殖真珠貝のへい死環境についてⅡ. 昭和42年度試験養殖結果. 昭和42年度三重県浜島水試報 : 275-337.
36. Wada, K. T. 1969. Studies on the crystalline style of Japanese pearl oyster I. Effect of diluted sea water on the crystalline style. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 35 (2) : 133-139.
37. 太田 繁 1958. アコヤガイの食性に関する研究Ⅰ. 杆晶体の長さの季節的消長. 国立真珠研報 4 : 315-317.

38. Itikawa, O. and Ogura, Y. 1953. On the meeting of the Japanese Bacteriological Society, Kanto Branch. (市川 収 1954. 細胞化学シンポジウム 4: 113—156より引用).
39. 市川 収 1954. 生体内脱水素反応の解析. 細胞化学シンポジウム 4: 113—156.
40. 片田清次 1953. 低比重海水のアコヤガイに及ぼす影響. 国立真珠研報 4: 308—314.
41. 片田清次 1954. 低比重海水がアコヤガイの斃死, 成長並びに真珠の品質に及ぼす影響. 国立真珠研報 5: 489—493.
42. 大谷武夫・薄井与兵衛・木俣正夫・石川亀好 1939. 水中に溶存する化学物質の魚介類に及ぼす影響 I. 日水誌 7 (5): 281—287.
43. 新田忠雄・中井俊介 1953. 貝・海藻・プランクトンの致死量について. 内海区水研報 3: 19—22.
44. 西飯 保・桑谷幸正・植本東彦・山村 豊・和田克彦・前田弘也 1970. 真珠養殖漁場の海洋観測 (1967年~1969年)—三重県・英虞湾一. 国立真珠研資料 1: 1—38.
45. 宮内徹夫 1962. アコヤガイの沪過水量 II. 沪過水量におよぼす水温と比重の影響. 水産増殖 10 (3): 7—14.
46. Fox, D. L., Sverdrup, H. N. and Cunningham, J. P. 1937. The rate of water propulsion by the California mussel. Biol. Bull. 72: 412—438.
47. Loosanoff, V. L. and Engle, J. B. 1947. Feeding of oyster in relation to density of microorganisms. Science 105.
48. 上野福三・井上啓晴 1961. 真珠漁場における餌料基礎生産と漁場の海洋構造について I. 密殖と食物連鎖の関係. 国立真珠研報 7: 829—864.
49. 佐藤忠勇・松本三郎・堀口吉重・辻井 禎 1964. 粗珪酸を指標とするアコヤガイの沪過水量と摂餌量の測定法について. 日水誌 30 (9): 717—722.
50. Brockway, D. R. 1950. Metabolic products and their effects. Prog. Fish-culturist 12 (3): 127—129.

# 挿核手術に付随した諸作業に関する研究

## I. 貝立てに関する生理学的研究\*†

蓮尾真澄・山口一登・船越将二

国立真珠研究所

挿核手術に際して、開殻するために無理に強い力を加えると、閉殻筋を切断したり、貝殻を破損することがあり、また、足部筋肉、収足筋の収縮などのために手術に困難をきたすことが多い。そこで、手術直前に開殻しやすい状態にするために貝立てと称する作業が行なわれている。この作業は木箱の中に貝を全く開殻できないように密に立て並べ、数時間海中に放置することを云い、その後箱を取り上げて貝相互の間隔をゆるめると容易に開殻するから、直ちに木のくさびをかませて閉殻を妨げ、挿核に供するのである。このことは栓差し作業と呼び、前者の貝立てとは区別しているが、一連の作業過程である。しかしながら、この貝立て作業によって一時的にしる貝の生理的な面に対して影響があらわれることは考えられることであって、当業者間においても真珠の品質への影響を顧慮して、貝立てを行なわないものもある。

植本<sup>1)</sup>は、挿核時の貝の生理的状态と真珠品質との関連を論じ、母貝仕立ての必要性を述べている。しかしながら、たとえ母貝仕立てを完全に行なったとしても、挿核手術に付随した諸種の作業によって生理状態に変動をもたらすことがあるのではないかと考え、まず「貝立て」をとりあげ、貝立てを行なう時間の長短が、挿核後における貝の生理状態の推移あるいは真珠の品質にどのような影響を与えるかを検討することとし、現在一般に行なわれている程度の貝立て時間の範囲内での実験を行なったので、その結果を報告する。報告にさきだち、実験に協力いただいた当所村上悦男、出口安隆両技官に深謝する。

### 実験方法

実験に供した貝は1964年採苗の大村湾産アコヤガイである。実験は1966年8月、9月、1967年5月、7月の4回実施した(以後、実験を行なった順に実験I、II、IIIおよびIVと称する)。貝立てによる開殻率は、主として、貝立ての時間とその時の水温に影響されると考えら

\*Masumi Hasuo, Kazuto Yamaguchi and Shoji Funakoshi. Studies on the various works followed to the nuclear insertion operation. I. Physiological studies on so-called "Kaitate". Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 15:1900-1912. 1970.

†国立真珠研究所業績 No. 188. (国立真珠研究所報告15:1900-1912. 昭和45年5月)

れるので、各実験に際しての貝立ての時間は、予備実験を行なって設定した。すなわち、貝立ての終了後、貝相互の間隔をゆるめてから10分以内に、それらの90ないし100%の貝が自らあるいは開口器で容易に開殻するという条件を定め、そうなるために必要な貝立ての時間を予備実験で求めた。この貝立ての時間を、その実験において最も長い貝立て時間と決め、一方、貝立てを全く行なわない場合との間に1ないし2時間の間隔で2つの貝立て時間を決め、合計4つの時間を1回の実験ごとに設定した。貝立てを終えた貝は「検査し」を行ない30分以内に挿核した。

挿核手術の概要を各実験ごとに示すと第1表のとおりとなる。

第1表 挿核手術の概要

実験	貝立て時間	手術時期	手術時の水温	核のサイズ*	浜揚げ時期
I	0	1966年 8月5日	°C 30.2~32.6	4.70~4.80mm 2個入れ	1967年 1月10日
	1	8.4	29.6~32.2		
	2	8.3	30.8~31.8		
	3	8.2	30.1~32.2		
II	0	1966 9.29	21.6~24.0	5.60~5.70 2個入れ	1967 12.19
	2	9.28	21.1~23.5		
	3	9.26	21.3~24.0		
	4	9.27	20.3~23.6		
III	0	1967 5.23~24	20.3~23.9	4.60~4.70 2個入れ	1968 1.9
	1	5.25~26	21.4~24.5		
	3	5.25~26	21.4~24.5		
	5	5.23~24	20.3~23.9		
IV	0	1967 7.4~5	24.2~27.8	4.60~4.70 2個入れ	1968 1.9
	1	7.6~7	23.6~26.8		
	2	7.6~7	23.6~26.8		
	4	7.4~5	24.2~27.8		

\* 真珠袋の観察に供する貝には、直径約5mmの  
パラフィン核を1個入れした。

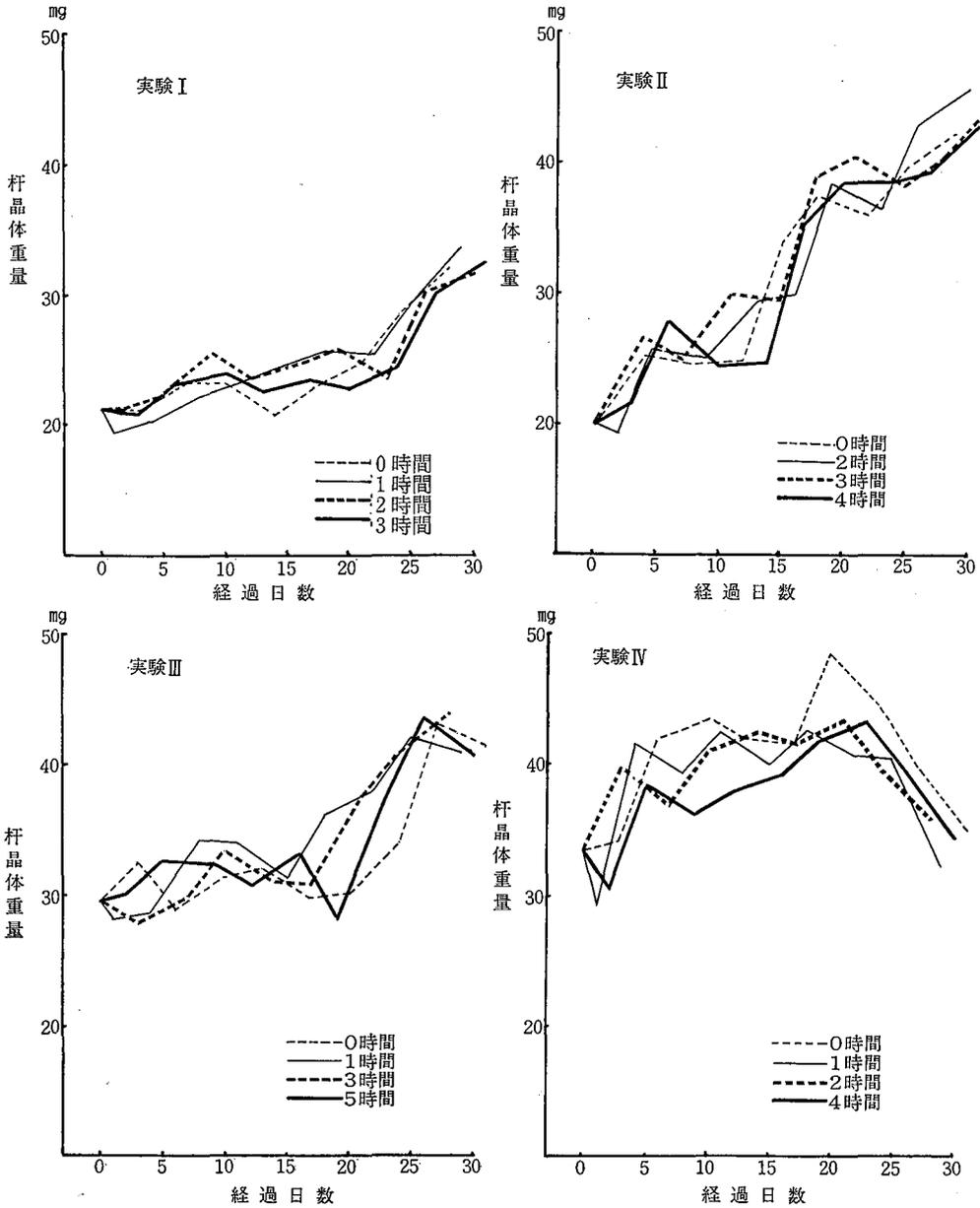
挿核手術後の貝の生理状態の変化を調べるために、約1か月にわたり杆晶体の重量を測定し、また、真珠袋上皮細胞の形態の変化については組織標本をつくり観察した。測定および観察は次の要領で行なった。

杆晶体重量：開殻してすみやかに杆晶体を取り出し、濾紙で粘液、付着物を取り除いて、トーションバランスで秤量した。週2回行ない、1回の測定には30貝を供した。

組織の観察：ホルマリン10%溶液で固定し、常法に従いパラフィン切片をつくり、アザン染色およびハイデンハイン鉄ヘマトキシリン—ライトグリーン二重染色、またはマイヤーのヘマトキシリン—エオジン染色を行なった。試料は週に3回採取し、1回に7貝を

供した。

真珠の品質については、「きずだま」の出現分布について比較検討した。



第1図 杆晶体重量の変化

## 実験結果

### 1. 杆晶体重量の変化

挿核後約1か月間における貝立て時間の異なる各群の杆晶体重量の推移を、各実験ごとに示すと第1図、付表I~IVのとおりとなる。

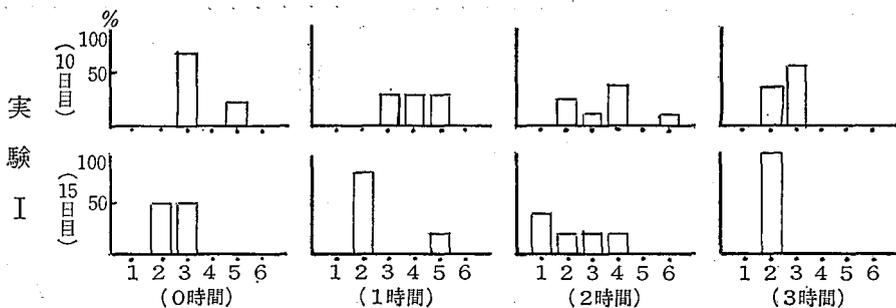
杆晶体重量の変化していく状態は、貝立て時間は同じ場合でも、挿核の時期によって異なっている。これを各実験ごとにみると、実験I, II, IIIにおいては、挿核後しばらくの間は、0時間群と最長時間群とは、それらの中間にある2群に比べて杆晶体重量の増加がいくらかおけているようである。一方、実験IVにおいては、0時間群は他の3群に比べて重量の増加がはやく、最長時間群では逆におそくなっているようである。なお、各群ともに20日目頃から重量減少の傾向がみられるが、これは、7月下旬から8月上旬にかけての高水温による影響のためと思われる。それぞれに以上のような異なった経過をたどっているが、各実験における各群の杆晶体は、挿核より約1か月後には、それぞれ再び同程度の重量を示している。

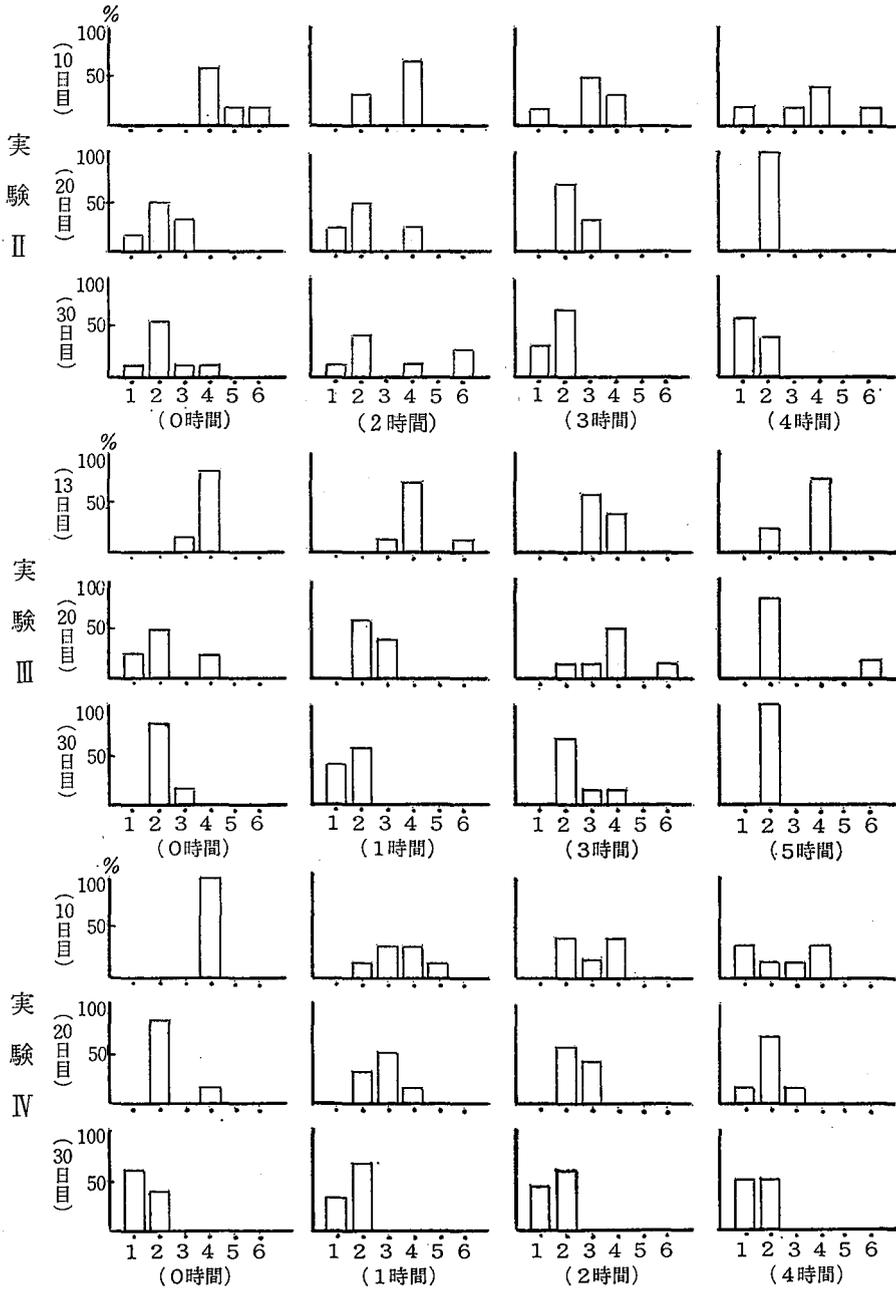
### 2. 真珠袋上皮細胞の形態的变化

挿核手術後に核をとりまいて形成された真珠袋の上皮細胞は、その形成初期において、一般的に細胞の形態的な変化が認められ、これはまた、上皮細胞の機能にも関連がある<sup>2)</sup>。上皮細胞の形態は円柱上皮、立方上皮、扁平上皮と変化移行するようであるが、その中間的なものとして、それら上皮細胞が混在しているものも認められる。本実験においては、形成初期の真珠袋上皮の形態的な変化をみるために、上皮の形態を植本<sup>1)</sup>の方法に従い次の6種に分類した。

1. 扁平上皮
2. 扁平・立方上皮混在
3. 立方上皮
4. 立方・円柱上皮混在
5. 円柱上皮
6. 扁平・立方・円柱上皮混在

真珠袋が形成された後、日時の経過にともなう上皮細胞の形態的な移行変化を、各実験ごとに貝立て時間別にあらわすと第2図のようになる。本実験ではパラフィン核を使用したので、上皮の形態、初期分泌物などに貝殻核と異なった影響を与える可能性があるが、そのことを考慮に入れてもなお全体的に概観すると、真珠袋が形成されて日時が経過するに従い、上皮細胞の形態は円柱上皮→立方・円柱上皮混在→立方上皮→扁平・立方上皮混在→扁平上皮とその出現頻度が高くなっていく傾向がみられる。これを各実験別に検討すると、実験Iの貝立て1時間および0時間群では挿核後10日目において、真珠袋上皮の形





第2図 真珠袋上皮形態の変化

- 1. 扁平上皮    2. 扁平・立方上皮混在    3. 立方上皮
- 4. 立方・円柱上皮混在    5. 円柱上皮    6. 扁平・立方・円柱上皮混在

態は立方上皮, 円柱上皮が大部分であるが, 3, 2時間群ではすでに30~40%の扁平・立方上皮混在の真珠袋上皮をもつ個体が認められた。挿核後15日目では, 0時間群にも扁平・立方上皮混在からなる真珠袋上皮の個体が認められるようになり, 2時間群では扁平上皮のみからなる真珠袋の個体が観察された。

実験Ⅱについては, 挿核後10日目において, 貝立て3および4時間群ではすでに扁平上皮のみからなる真珠袋をもつ個体が約20%観察されたが, 0時間群では, 立方・円柱上皮混在または円柱上皮のみからなる真珠袋の個体が大部分を占めている。挿核後30日目においては, 4群とも扁平上皮のみからなる真珠袋をもつ個体がみられるが, 貝立て時間が長くなる程その出現頻度が高くなる傾向がうかがわれる。

実験Ⅲでは, 真珠袋の形成が実験Ⅰ, Ⅱ, Ⅳよりもややおそい傾向にあったため, 挿核後13日目の真珠袋上皮の形態を観察した。13日目においては, 貝立て5, 1時間および0時間群では円柱・立方上皮混在の真珠袋をもつ個体が多く観察された。20日目においては, 各群とも立方上皮, 扁平・立方上皮混在, 扁平上皮への移行が認められ, 30日目になると, 0時間群でも扁平・立方上皮混在の真珠袋の個体が約80%と高い比率を示し, 1時間群では扁平上皮のみからなる真珠袋の個体が約40%観察された。しかしながら, 貝立て時間の長短によつての真珠袋上皮の形態的移行状態に差異は認めにくいようである。

第2表 (1) キズだまの出現率  
(ふくろ)

実験	貝立て時間	A	B	C	D	E
I	0	18.2%	0	43.9	30.3	7.6
	1	19.5	4.9	28.0	36.6	11.0
	2	10.6	5.3	38.3	39.4	6.4
	3	9.8	2.4	31.7	47.6	8.5
II	0	4.4	13.1	30.4	21.7	30.4
	2	15.0	0	20.0	35.0	30.0
	3	12.5	0	25.0	45.8	16.7
	4	7.4	0	48.2	29.6	14.8
III	0	10.3	10.3	19.5	46.0	13.9
	1	12.2	10.8	25.7	36.5	14.8
	3	7.9	17.1	25.0	34.2	15.8
	5	5.4	10.8	20.3	41.9	21.6
IV	0	12.9	12.9	28.6	32.9	12.7
	1	16.4	5.5	28.8	32.9	16.4
	2	7.3	2.9	39.1	37.7	13.0
	4	8.8	11.8	35.3	35.3	8.8

A: 小キズの少ないたま

B: 大キズの少ないたま

C: 小キズの多いたま

D: 大キズの多いたま

E: 大キズ・シミだま

第2表 (2) キズだまの出現率  
(うかし)

実験	貝立て時間	A	B	C	D	E
I	0	6.9%	3.4	22.4	51.7	15.6
	1	5.4	5.4	23.2	57.1	8.9
	2	3.2	8.1	17.7	53.2	17.8
	3	1.9	3.8	11.5	65.4	17.4
II	0	0	0	0	81.8	18.2
	2	0	5.9	0	58.8	35.3
	3	0	0	5.6	72.2	22.2
	4	0	0	0	64.3	35.7
III	0	5.2	3.5	10.3	58.6	22.4
	1	2.4	8.5	11.0	57.3	20.8
	3	5.7	5.7	5.7	60.0	22.9
	5	2.7	5.4	2.7	58.1	31.1
IV	0	4.7	6.3	14.1	54.7	20.2
	1	8.7	4.4	7.3	52.2	27.4
	2	3.9	1.9	9.6	53.9	30.7
	4	0	11.1	14.8	50.0	24.1

実験IVについては、挿核後10日目には、0時間群では立方・円柱上皮混在の真珠袋をもつ個体が100%観察され、また、貝立てが長時間になる程、扁平上皮および扁平・立方上皮混在の真珠袋をもつ個体が多く出現する傾向がみうけられ、4時間群では、すでに扁平上皮のみからなる真珠袋の個体が約30%観察された。20日目では、0時間群においても扁平・立方上皮混在の真珠袋をもつ個体が約80%観察された。30日目になると、各群とも扁平上皮および扁平・立方上皮混在の真珠袋をもつ個体のみが観察され、群相互間において顕著な差は認められなくなった。

### 3. 真珠品質の比較

採取した真珠を拡大鏡(×16)によって観察し、キズおよびシミの程度によって、小キズの少ないたま、大キズの少ないたま、小キズの多いたま、大キズの多いたま、および大キズ・シミだまの5種類に分類した。ただし、キズの大、小は1mm以上、1mm未満により、また、キズの多、少は4点以上、3点以下をもってそれぞれ判定の基準とした。第2表(1)、(2)にキズだまの種類別出現率を示した。各実験ごとに貝立て時間の違いによる5種類のたまの出現率の差を検定した結果、いずれも有意の差は認められなかった。つまり、貝立ての時間が異なることによって、生産される真珠の品質とくにキズだまの出現率に差をもたらすようなことはなく、貝立て時間と真珠品質との間に関連性を認めることはできないようである。

## 考 察

実験結果をみると、挿核後しばらくの期間は、貝立て時間の異なる各群において杆晶体重量の変化に異なった推移を示しているところから推察して、貝立ては貝の生理状態に対して影響をおよぼすものと考えられる。しかしながら、挿核より1か月後においては、ほとんど差が認められなくなっているため、影響があらわれるにしても、比較的短い期間に過ぎないものようである。

次に、真珠袋上皮細胞の形態的变化については、各実験を総合的にみて、真珠袋が形成された当初、すなわち、挿核後10～13日目においては、概して、0時間群では円柱上皮、立方上皮または立方・円柱上皮混在の真珠袋をもつ個体が大部分を占めているが、貝立ての時間が長くなるにつれて、扁平上皮または扁平・立方上皮混在の真珠袋をもつ個体が観察され、とくに各実験とも最長時間の群ではその出現が多い傾向がみられた。このことは、真珠袋上皮細胞の形態的な変化が挿核後の貝の生理活動と密接な関係がある<sup>1)</sup>と考えられていることから、貝立て時間の長短は挿核後の貝の生理状態に差異をもたらすものと推察される。しかるに、挿核後15～20日目になれば、0時間群においても、各実験とも扁平上皮、または扁平・立方上皮混在の真珠袋をもつ個体が観察されるようになり、挿核後30日目に至っては、各実験とも群相互間で、真珠袋上皮形態の出現頻度に差異はほとんどみられなくなる。すなわち、真珠袋上皮の形態的变化の推移からみた場合、貝立てが貝の生理状態に影響をおよぼすのは、挿核後10～15日間程度のわずかな期間であって、挿核後20日も経過すれば、その影響はほとんどみられなくなるようである。

真珠の形質は、挿核手術前後の貝の生理活動のあり方に支配される<sup>2)</sup>ようであるが、もし、貝立てによる影響が真珠の品質にあらわれてくるとするならば、キズだまの出現状態の差について一応の可能性が考えられる。しかしながら、各実験の結果では、貝立て時間の違いによって、キズだまの出現分布の状態に差がみられず、本実験の貝立て時間の範囲内では真珠の品質を支配する程の大きな要因とはならないものと考えられる。

以上、各実験項目の結果について考察を加えたが、これを総括的にみれば、貝立て時間の長短によって挿核後の貝に生理的な影響がみられるが、その影響は短い期間内であって、挿核後1か月も経過すれば、それはほとんど認められなくなり、また、真珠の品質についても、貝立てに帰結させ得ると考えられるような差異が認められなかった。すなわち、生理状態への影響が挿核後の初期にあらわれるという点については、重要な意義を含んでいるかもしれないが、一面、影響の期間が短いということは、影響の程度が小さいことを意味しているものと考えられ、それは、真珠の品質を支配するような他の要因、たとえば、母貝仕立て、養成中の管理条件、漁場条件などの影響力に比較すれば極めて弱いものと思われる。

## 要 約

1) 挿核手術の準備作業である「貝立て」の時間の長さ(0～5時間)が挿核後の貝の生理状態の動向、真珠袋上皮の形態的推移および真珠の品質におよぼす影響を検討するた

め、時期別に4回の実験を行なった。

2) 杆晶体重量の推移をみると、貝立ての時間の長短によって挿核後の貝の生理状態に影響があらわれることを示しているが、それは比較的短い期間であり、約1か月後の生理水準に相違はみられなかった。

3) 真珠袋上皮細胞の形態の変化は、形成初期において0時間群はおくれているようであるが、挿核後約1か月もすれば、群相互間で真珠袋上皮形態の出現頻度に差異は認められなくなった。

4) キズだまの出現率と貝立ての時間の長短との間には関連性を認めることができなかった。

## 文 献

- 1) 植本東彦 1961. アコヤガイのそう核手術に関する生理学的研究I—III. 国立真珠研報 6:619—635.
- 2) 中原 皓・町井 昭 1956. 真珠袋の組織学的研究 I. 異常真珠と正常真珠の真珠袋の比較. 国立真珠研報 1:10—13.

付表I 杆晶体重量の変化

貝立て時間 経過日数	0	1	2	3
挿核時		21.2mg(48.1mm)		
1		19.5(48.8)		
2			21.3(47.5)	
3	21.1(49.0)			21.0(47.9)
4		20.3(48.6)		
5			22.3(47.8)	
6				23.1(49.4)
7	23.4(48.8)			
8		22.3(49.3)		
9			25.5(48.8)	
10	23.3(48.3)			24.1(48.4)
11		23.2(48.6)		
12			23.6(48.8)	
13				22.6(47.1)
14	20.8(48.4)			
15		24.6(49.7)		
16			24.4(48.8)	
17	22.8(48.5)			23.5(49.1)
18		25.6(49.8)		
19			25.7(49.6)	
20				22.8(49.1)
21	24.7(48.5)			
22		25.5(48.5)		
23			23.5(48.7)	
24	28.4(48.1)			24.6(47.7)
25		29.4(48.6)		
26			29.9(49.5)	
27				30.0(49.4)
28	32.1(49.9)			
29		33.6(48.7)		
30			31.5(48.7)	
31				32.5(48.9)

( ) は数長を示す

附表Ⅱ 杆晶体重量の変化

貝立て時間 経過日数	0	2	3	4
挿核時	20.0mg(50.5mm)			
1	21.0(50.6)			
2		19.3(49.4)		
3				21.6(49.4)
4	25.3(50.3)		26.7(50.7)	
5		25.7(48.9)		
6				27.8(50.7)
7			25.1(49.9)	
8	24.6(50.2)			
9		25.1(49.8)		
10				24.4(49.9)
11			29.9(50.3)	
12	25.0(50.4)			
13		29.4(50.2)		
14				24.7(49.9)
15	33.8(50.4)		29.5(50.4)	
16		29.9(49.7)		
17				35.3(49.3)
18	37.5(51.5)		39.1(51.3)	
19		38.5(51.5)		
20				38.5(49.2)
21			40.5(50.8)	
22	36.0(50.7)			
23		36.7(49.7)		
24				38.6(51.0)
25	39.6(51.3)		38.3(50.6)	
26		42.9(52.2)		
27				39.4(49.3)
28			40.0(51.4)	
29	42.3(51.0)			
30		45.8(51.4)		
31				43.0(51.2)
32			44.2(50.4)	

( ) は殻長を示す

付表Ⅲ 杆晶体重量の変化

経過日数	0	1	3	5
挿核時		29.5mg(52.1mm)		
1		28.1(52.6)		
2				29.9(52.8)
3	32.5(52.8)		27.8(53.3)	
4		28.6(52.4)		
5				32.6(51.6)
6	28.8(52.5)			
7			28.2(52.8)	
8		34.2(52.6)		
9				32.3(53.9)
10	31.4(52.6)		33.3(53.2)	
11		34.0(52.6)		
12				30.7(51.2)
13	32.0(52.5)			
14			30.9(52.9)	
15		31.1(52.5)		
16				33.1(51.9)
17	29.8(52.6)		30.7(52.0)	
18		36.0(52.0)		
19				28.1(51.3)
20	29.9(51.5)			
21			37.4(52.1)	
22		38.0(52.9)		
23				37.4(51.7)
24	34.0(51.1)		40.7(52.4)	
25		41.9(53.4)		
26				43.5(53.2)
27	43.0(53.3)			
28			43.7(53.3)	
29		40.9(52.1)		
30				40.6(50.9)
31	41.4(52.4)			

( ) は殻長を示す

付表IV 杆晶体重量の変化

貝立て時間 経過日数	0	1	2	4
挿核時		33.3mg(53.6mm)		
1		29.2(53.4)		
2				30.4(52.1)
3	34.2(54.3)		39.7(52.8)	
4		41.6(52.6)		
5				38.4(53.7)
6	42.0(53.6)			
7			36.8(54.3)	
8		39.4(54.1)		
9				36.2(52.7)
10	43.5(54.2)		41.2(55.1)	
11		42.5(54.1)		
12				37.8(53.3)
13	42.0(53.9)			
14			42.6(54.2)	
15		40.0(52.8)		
16				39.3(53.1)
17	41.6(52.9)		41.6(53.3)	
18		42.6(53.1)		
19				41.9(54.2)
20	48.4(54.3)			
21			43.4(55.1)	
22		40.7(54.5)		
23				43.3(55.8)
24	44.5(54.6)		39.5(54.0)	
25		40.6(55.6)		
26				39.7(54.9)
27	39.9(55.4)			
28			35.9(54.6)	
29		32.3(54.4)		
30				34.4(55.5)
31	35.1(55.1)			

( ) は殻長を示す

# 挿核手術に付随した諸作業に関する研究

## II. 栓差しに関する生理学的研究\*†

蓮尾真澄・山口一登・船越将二

国立真珠研究所

前報<sup>1)</sup>において挿核手術に付随する作業のなかで、開殻を容易にするために行なう「貝立て」をとりあげ、この作業が挿核後の生理状態の推移や真珠品質におよぼす影響を検討し、現行の一般的な貝立て時間の範囲内では影響があらわれないことを述べた。

今回は、貝立てを終了してから挿核手術を施すまでの間の処理としての「栓差し」について検討を加えた。この栓差しとは貝立てを行なって開殻させた貝を、開口器で口が閉じないように保持し、貝殻の間にくさび形の木栓をはさみ、挿核時まで閉殻しないようにし、挿核手術の能率を高める作業である。

栓差しでは、貝は栓を差したまま開殻の状態では露出されているから、その時間の程度いかんによっては貝の生理的な面に変動がもたらされるのではないかと考えられる。実際面でも作業の都合などによっては、かなり長い時間、空中露出の状態におかれることがしばしばであるから、業者のなかには空中露出の影響を懸念して、栓差しを行なわないものもある。この場合は、技術員各自が手術直前に開口器で開殻して挿核を行なっている。

そこで、この栓差しがなされている時間の長短が、挿核手術後の貝の生理状態および真珠の品質に、いかなる影響をおよぼすかを追及する実験を試みたので、その結果を報告する。報告にあたり、実験に協力いただいた当所村上悦男、出口安隆両技官に深謝する。

### 実験方法

実験は1967、'68年の2か年にわたって3回実施した。

実験 I ——1967年8月に実施した。供試貝は愛媛県産満2年生アコヤガイを使用した。6月12日に母貝仕立てを開始し、8月8～11日に挿核（直径4.60～4.70mmの核を2個入れ、また、真珠袋組織の観察を行なうものは直径約5mmのパラフィン核を1個入れ）を行なった。挿核にあたっては、貝立てしておいた貝を開口器で開殻してくさび形の木製の栓を左右の貝殻の間に差しこみ、貝殻を開いた状態のままにしておいて、挿核をするまで

\* Masumi Hasuo, Kazuto Yamaguchi and Shoji Funakoshi. Studies on the various works followed to the nuclear insertion operation. II. Physiological studies on so-called "Sensashi". Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 15: 1913-1921. 1970.

† 国立真珠研究所業績 No.189. (国立真珠研究所報告15: 1913-1921. 昭和45年5月)

の間は室内に置いて、その空中露出の時間に次のような4段階を設けた。

- i) 開殻して直ちに挿核する(空中露出0時間)
- ii) 栓を差したまま空中に0.5時間露出する
- iii) 栓を差したまま空中に1時間露出する
- iv) 栓を差したまま空中に2時間露出する

以上のような処理を施して挿核をした貝は、養生籠に収容して8月25日まで真珠研究所大村支所地先のいかだから底層附近に垂下し、その後は丸籠(化繊網籠)に収容し養成した。

空中に露出する時間の違いによる貝の生理状態の変化を調べるために、手術後約1か月にわたり杆晶体重量を測定し、また、真珠袋の形態の変化をみるため、核周辺組織のパラフィン切片をつくり観察した。測定および観察は次の要領で行なつた。

杆晶体重量：開殻してすみやかに杆晶体を取り出し、濾紙で粘液、付着物を取り除いて、トーションバランスで秤量した。1回の測定には処理別に各30貝を供し、挿核後3, 6, 10, 13, 17, 20, 24, 27および31日目にそれぞれ秤量した。

組織の観察：挿核後10, 20および30日目に処理別に各10貝を取り上げて核周囲の組織をホルマリン10%液で固定し、パラフィン切片をつくり、マイヤーのヘマトキシリン-エオジン染色を施し観察した。

一方、真珠品質の比較を行うために養成したものは、9月21日に貝掃除を実施し、1968年1月9日に真珠を採取した。

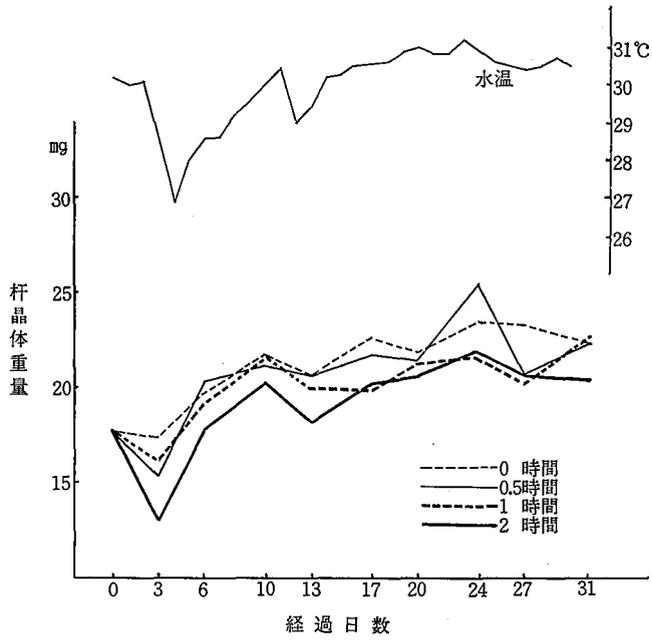
実験Ⅱ —1967年10月に実施した。愛媛県産満2年生アコヤガイを使用して、9月18日に母貝仕立てを開始し、10月17~20日に挿核(直径5.40~5.50mmの核を2個入れ、また、真珠袋の観察を行なうものは直径約5mmのパラフィン核を1個入れ)を行った。栓を差したまま空中に露出する時間および測定・観察の項目、要領は実験Ⅰと同様である。挿核後の貝は養生籠に収容し11月6日まで大村支所地先のいかだから底層附近に垂下して養生を行ない、その後は丸籠に移し換え養成した。真珠品質の比較を行なうためのものは、11月21日から1968年4月22日まで長崎県北松浦郡江迎町地先に避寒を行ない、1968年5月と9月の2回貝掃除を実施し、12月9日に真珠の採取を行なった。

実験Ⅲ —1968年7月に実施した。供試用母貝は愛媛県産の満2年生アコヤガイである。5月10日に母貝仕立てを開始して、7月17~22日に挿核(直径4.60~4.70mmの核を2個入れ、真珠袋の観察を行なうものは直径約5mmのパラフィン核を1個入れ)を行なった。栓を差したまま空中に露出する時間および測定・観察の項目、要領は実験Ⅰと同じである。挿核後の貝は8月1日まで養生を行ない、その後丸籠に収容して2m層に垂下養成した。真珠品質の比較を行なうためのものは9月17日、11月19日の2回貝掃除を実施し、1969年1月9日に真珠を採取した。

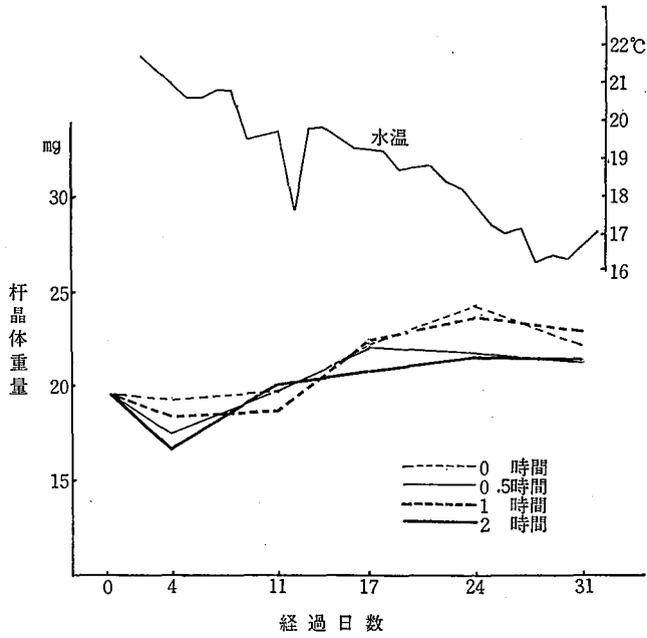
## 実験結果

### 1. 杆晶体重量の変化

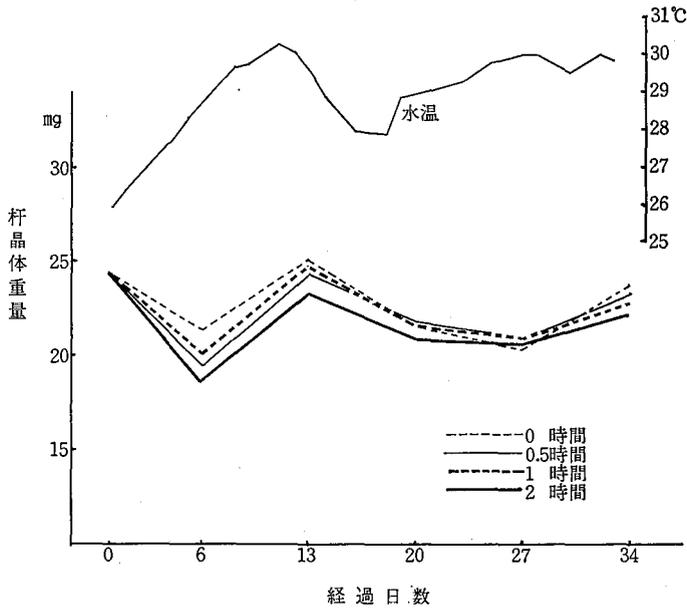
実験Ⅰ —挿核後の杆晶体重量の変化を示したのが付表Ⅰ、第1図である。



第1図 杆晶体重量の変化



第2図 杆晶体重量の変化



第3図 杆晶体重量の変化

栓を差したまま空中に露出した2時間群は0時間群よりも常に低い値を示しながら推移していて、挿核後31日目においても依然として両者の間には差がみられる。0, 0.5および1時間群は、挿核後13日目まではほぼ同じ様な傾向がみられるが、その後0.5, 1時間群はやや不安定な経過をたどっている。31日目になると2時間群を除いた他の3群は同じ程度の重量を示した。

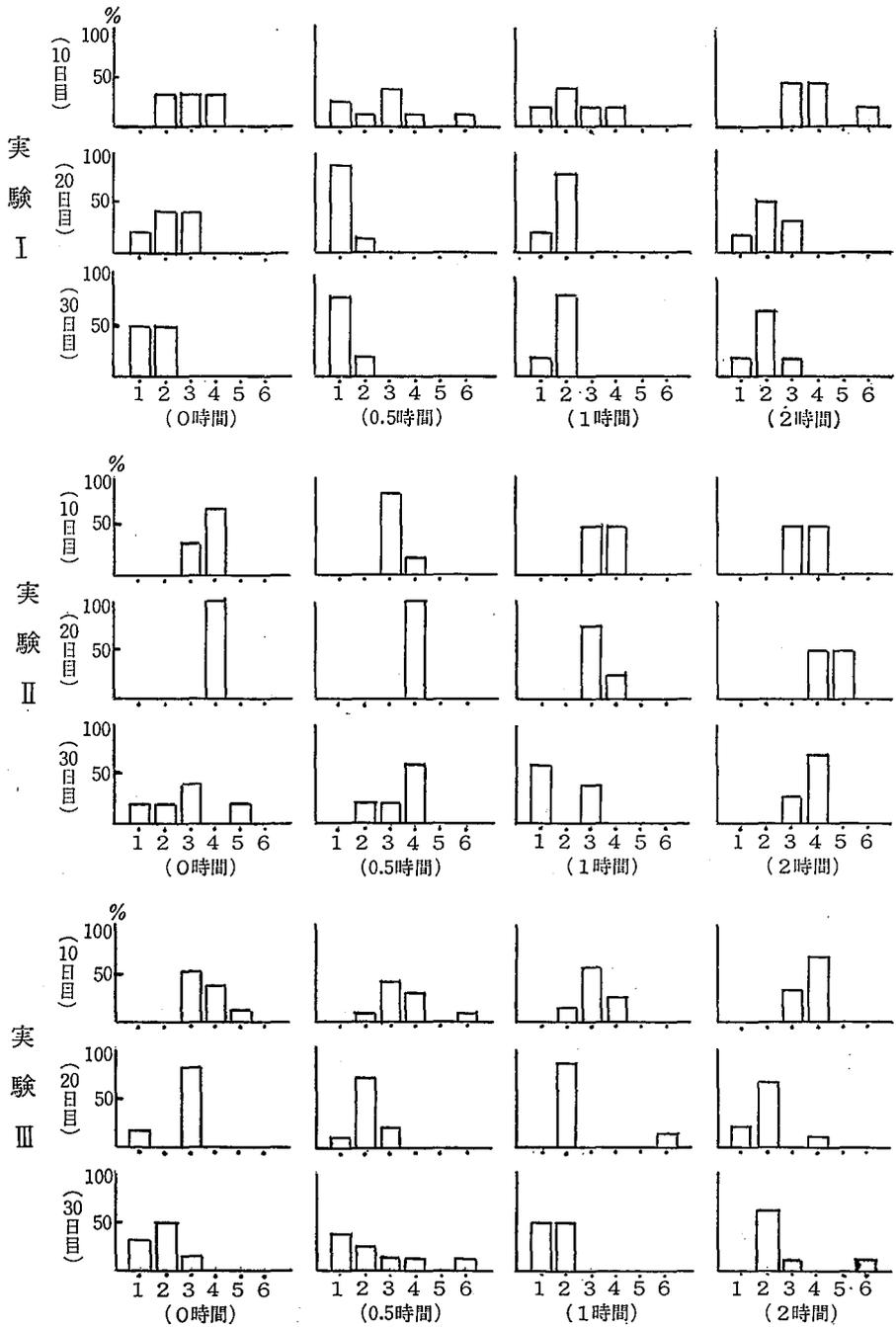
実験Ⅱ — 付表Ⅱ, 第2図に杆晶体重量の変化を示した。0時間群は挿核後の杆晶体重量の減少がほとんどみられないが、他の3群は4日目に減少の傾向を示している。その後は4群とも増加の傾向を示しながら推移している。

実験Ⅲ — 付表Ⅲ, 第3図に杆晶体重量の変化を示した。杆晶体重量は挿核後6日目に各群とも挿核時よりも低下しているが、0時間群は最も低下の傾斜がゆるやかで、2時間群が最も急激に低下している。0.5, 1時間群はそれらの中間に位している。6日目以降、4群とも同じような傾向で変化しているが、2時間群は他の3群に比べて常に低い値を示しながら推移している。27日目には、4群ともほぼ同じ程度の値を示すようになった。

## 2. 真珠袋の上皮の形態的变化

真珠袋の上皮細胞は、その形成初期において、一般的に細胞の形態が変化することが認められている。これはまた、上皮細胞の分泌機能にも関連がある<sup>2)</sup>。上皮細胞は形態的に変化し、円柱上皮、立方上皮、扁平上皮と移行するようであるが、移行の中間的なものとして、これらの上皮細胞が混在しているものも認められる。

本実験においては、形成初期の真珠袋上皮の形態的な変化をみるために、植本<sup>3)</sup>の方法にしたがって上皮の形態を次のような6種に分類した。



第4図 真珠袋上皮形態の変化

- 1. 扁平上皮 2. 扁平・立方上皮混在 3. 立方上皮 4. 立方・円柱上皮混在
- 5. 円柱上皮 6. 扁平・立方・円柱上皮混在

1. 扁平上皮    2. 扁平・立方上皮混在    3. 立方上皮    4. 立方・円柱上皮混在
5. 円柱上皮    6. 扁平・立方・円柱上皮混在

真珠袋が形成された後、日時の経過にともなう上皮細胞の形態的な移行変化を第4図に示した。

実験Ⅰ ——挿核後10日目では0, 0.5, 1時間の各群は大体類似した分布を示しているが、2時間群では立方、立方・円柱混在の上皮の個体がほとんどであり、形態の変化にかなりのおくれがみられるようである。30日目になると0, 0.5時間群では、扁平上皮のみからなる真珠袋の個体が50%以上観察されたが、1, 2時間群では、扁平・立方上皮混在の真珠袋の個体が50%以上とかなり多いようであり、扁平上皮のみからなる真珠袋への移行がおくれているようである。

実験Ⅱ ——実験の行なわれた時期が水温の下降期であったために、各群とも真珠袋上皮の形態の移行変化がおそいようである。挿核後20日目においても、各群ともに扁平上皮および扁平・立方上皮混在の真珠袋の個体は全く観察されない。30日目において0, 0.5, 1時間群では、扁平、扁平・立方上皮混在の真珠袋をもつ個体が観察されるようになる。しかし、2時間群では、そのような個体は全く認めることができなかった。

実験Ⅲ ——挿核後10日目では、2時間群は立方・円柱上皮混在の真珠袋の個体が約70%であって他の3群に比べて非常に多い。30日目において0, 0.5, 1時間の各群には、扁平上皮のみからなる真珠袋の個体が観察されるが、2時間群では観察されず、移行変化がおくれている傾向がみうけられる。

### 3. 真珠の品質

栓を差したままで空中に露出した場合、その時間の長短が真珠品質に影響を及ぼすとすれば、とくにキズ・シミ珠の出現頻度に差異をもたらすものと考えられる。採取した真珠を拡大鏡(×16)によって観察し、キズおよびシミの程度によって、小キズの少ないたま、大キズの少ないたま、小キズの多いたま、大キズの多いたま、大キズ・シミだまの5種に分類した。キズの大小は1mm以上、1mm未満によって、また、キズの多少は4点以上、3点以下をもって、それぞれ判定の基準とした。実験区分別、空中露出時間別にキズだまの出現率を第1表に示した。

実験Ⅰ ——「ふくろ」における「小キズの少ないたま」については、空中露出時間が長くなる程、出現率が低くなる傾向がみられる。また、「小キズの多いたま」では、逆に露出時間が長いもの程、出現率が高くなる傾向がみられ、検定の結果では0, 0.5時間の各群と2時間群との間にそれぞれ有意の差があり、後者における出現率が高い。つまり、キズの大小、多少からみた場合の真珠品質は、栓を差したまま空中に露出する時間の長短と関連があり、それが長時間にわたる程、品質の悪いものの出現率が高くなっている。また、「うかし」でも、2時間群は0.5, 1時間の各群よりも「小キズの多いたま」の出現率が高い。

実験Ⅱ ——「ふくろ」において、2時間群の「小キズの多いたま」の出現率が高い傾向がうかがわれるが、検定の結果では有意の差が認められない。「うかし」においても、各群相互間に有意の差は認められない。

実験Ⅲ —「ふくろ」において、2時間群は他の3群に比較して「小キズの多いたま」の出現率が高い傾向がうかがわれ、検定の結果、0時間群との間に有意の差が認められた。また、「うかし」においては、空中露出時間が長くなるにつれて「大キズの多いたま」の出現率が高い傾向を示し、検定の結果2時間群と0時間群との間に有意の差が認められた。つまり、2時間群においては、品質の悪いものの出現頻度が高い。

第1表 キズだまの出現率

実験	挿核部位	栓差し時間	A	B	C	D	E
I	ふくろ	0	24.4%	5.8	32.6	24.4	12.8
		0.5	21.3	5.0	32.5	27.5	13.7
		1	16.1	4.3	45.2	25.8	8.6
		2	15.0	3.8	51.3	20.0	9.9
	うかし	0	4.9	9.8	9.8	46.3	29.2
		0.5	0	11.4	8.6	60.0	20.0
1		0	2.1	8.3	58.3	31.3	
2		0	3.9	19.2	50.0	26.9	
II	ふくろ	0	16.7	5.6	24.1	35.2	18.4
		0.5	21.6	10.8	24.3	27.0	16.3
		1	20.0	7.5	22.5	32.5	17.5
		2	14.0	0	39.5	28.0	18.5
	うかし	0	0	0	11.0	55.6	33.4
		0.5	0	0	0	76.5	23.5
1		0	0	5.6	66.7	27.7	
2		0	0	5.9	64.7	29.4	
III	ふくろ	0	7.9	13.8	34.9	32.9	10.5
		0.5	10.2	13.3	33.1	31.9	11.5
		1	6.4	7.0	38.9	35.0	12.7
		2	6.7	7.9	46.1	31.5	7.8
	うかし	0	7.4	6.6	30.3	27.9	27.8
		0.5	3.9	7.7	28.5	34.6	25.3
1		3.2	6.5	30.7	35.5	24.1	
2		2.1	3.5	28.5	41.0	24.9	

A : 小キズの少ないたま      B : 大キズの少ないたま      C : 小キズの多いたま  
D : 大キズの多いたま      E : 大キズ・シミだま

## 考 察

杆晶体の重量を指標として貝の生理状態の動向をみると、夏季に行なった実験Ⅰ、Ⅲ(挿核時の室内気温は、実験Ⅰでは28~33°C、実験Ⅲでは26~32°Cの範囲にあった)では、栓差し時間の長短と挿核後の貝の生理状態との間には関連性がみられ、0時間群と2時間群との間に挿核後約20日目までは顕著な差がみられるようであり、2時間群では挿核後の回復が0時間群に比べておけている。また、秋季に行なった実験Ⅱ(挿核時の室内気温は18~24°Cの範囲であった)では、挿核後4日目までは0時間群の杆晶体重量の減少がほとんどみられないが、他の3群では減少しており、空中露出の時間が30分以上の場合、影響があらわれるようである。その後の生理状態の動向には空中露出の時間との間に関連を示すような傾向はみられないので、挿核後短期間には影響があらわれても、その影響の程度は非常に小さいものと推察される。

次に、形成初期の真珠袋の上皮細胞は、一般的に細胞の形態が変化するとともに、その機能にも変化がみられ、挿入された核の面に分泌形成される層の種類が異なってくるが、この細胞の形態の変化は貝の生理状態の動向と関連性があり、挿核後の貝の生理活動の回復がおくれた場合、形態の移行変化もおくれるようである<sup>9)</sup>。そこで、実験の結果から真珠袋の上皮細胞の形態変化をみると、貝の生理状態の動向とはほぼ一致した傾向を示しており、栓を差したまま空中に露出する時間の長短によって影響の程度が異なるようである。

また、真珠の品質については、栓を差しておく時間が0時間から2時間の範囲内では、長時間になる程、良質真珠の出現が少なくなる傾向がうかがわれる。とくに夏季の実験では0~0.5時間群よりも1~2時間群の方が小キズの多い珠の出現率が高くなっている。すなわち、栓を差して空中に露出する時間と真珠の品質との間には関連性があると思われ、その時間の短い程、良質の真珠の出現が多くなると考えられる。

栓を差してから挿核手術を施すまでに、空中露出の状態である程度の時間を経過することは、作業の都合などからもやむを得ないことであるが、その時間が長くなり過ぎた場合には、貝の生理的な面に影響を及ぼして挿核後の回復をおくらせ、また、有機質、稜柱層などの異質層の沈着する期間を長くして、真珠層の形成がおそくなる結果となり、真珠品質に対しても悪い影響をもたらすと思われる。とくに挿核時の気温が高い夏季の挿核手術では、栓を差したまま空中に露出する時間は30分を限度とし、また、秋季、気温が低い場合であっても、1時間が限度ではないかと考えられる。

## 要 約

1) 挿核作業の能率を高めるために行なう「栓差し」について、貝に栓を差したまま空中に露出する時間の差異が、挿核後の貝の生理状態の変化および真珠品質におよぼす影響を追究するため、空中露出の時間に0、0.5、1、2時間の4段階を設け、時期別に3回の実験を行った。

2) 夏季に行なった実験では、栓を差している時間と挿核後の貝の生理状態との間に関連性がみられ、挿核後の回復が2時間群では0時間群に比べておけている。また、形成初期の真珠袋の上皮細胞の形態変化をみても、その時間が長い群ほど移行が遅れており、結果的に良質な真珠の出現が少なくなっている。

3) 秋季に行なった実験では、栓を差している時間の長短によって挿核後の短い期間に貝の生理状態の差異があらわれても、そのおよぼす影響の程度は非常に小さいものと推察され、真珠袋上皮細胞の形態の移行変化にも顕著な差異は認められない。真珠の品質についても、各群相互間に有意の差は認められない。

4) 以上のことから挿核時の気温が高い夏季の挿核手術において、栓を差したまま空中に露出する時間は30分を限度とし、秋季、気温が低い場合でも1時間が限度ではないかと考えられる。

## 文 献

- 1) 蓮尾真澄・山口一登・船越将二 1970. 挿核手術に付随した諸作業に関する研究 I. 貝立てに関する生理学的研究. 国立真珠研報 15: 1900—1912.
- 2) 中原 皓・町井 昭 1956. 真珠袋の組織学的研究 I. 異常真珠と正常真珠の真珠袋の比較. 国立真珠研報 1: 10—13.
- 3) 植本東彦 1961. アコヤガイのそう核手術に関する生理学的研究 I—III. 国立真珠研報 6: 619—635.

付表I 杆晶体重量の変化

栓差し時間 経過日数	0	0.5	1	2
挿核時	17.8mg (50.1mm)			
3	17.4 (49.6)	15.3 (48.1)	16.0 (48.9)	13.0 (49.9)
6	19.7 (49.2)	20.3 (49.4)	19.1 (49.2)	17.8 (48.6)
10	21.7 (48.3)	21.2 (48.0)	21.6 (47.7)	20.2 (47.6)
13	20.6 (47.9)	20.6 (48.1)	19.9 (48.3)	18.2 (48.4)
17	22.6 (48.2)	21.7 (48.1)	19.8 (47.8)	20.2 (48.0)
20	21.8 (48.3)	21.4 (47.9)	21.2 (48.7)	20.7 (49.3)
24	23.5 (48.4)	25.5 (48.7)	21.6 (48.4)	21.9 (48.3)
27	23.3 (48.8)	20.7 (49.3)	20.1 (48.4)	20.6 (48.8)
31	22.2 (48.4)	22.3 (48.1)	22.6 (48.9)	20.4 (48.7)

( ) は穀長を示す。

付表II 杆晶体重量の変化

栓差し時間 経過日数	0	0.5	1	2
挿核時	19.5mg (49.5mm)			
4	19.2 (49.6)	17.4 (48.1)	18.3 (49.0)	16.7 (49.4)
11	19.5 (49.2)	19.6 (49.2)	18.6 (48.8)	20.0 (49.7)
17	22.1 (50.0)	22.0 (49.3)	22.3 (49.7)	20.7 (48.2)
24	24.1 (48.9)	21.6 (49.6)	23.5 (49.1)	21.5 (48.7)
31	22.0 (49.3)	21.1 (49.2)	22.7 (48.9)	21.3 (48.9)

( ) は穀長を示す。

付表III 杆晶体重量の変化

栓差し時間 経過日数	0	0.5	1	2
挿核時	24.4mg (49.6mm)			
6	21.3 (50.9)	19.4 (49.7)	20.0 (48.5)	18.7 (51.4)
13	25.0 (50.5)	24.3 (49.6)	24.7 (49.7)	23.2 (50.9)
20	21.5 (50.8)	21.7 (51.0)	21.5 (50.0)	20.9 (51.4)
27	20.2 (50.8)	20.8 (50.5)	20.8 (50.9)	20.6 (51.1)
34	23.6 (50.5)	23.2 (51.2)	22.7 (50.9)	22.1 (51.7)

( ) は穀長を示す。

# 挿核手術に付随した諸作業に関する研究

## Ⅲ. 挿核手術直後の貝の空中露出について\*†

蓮 尾 真 澄・山 口 一 登・船 越 将 二

国立真珠研究所

挿核手術を終えた貝を再び海中に戻すまで作業上の都合などで、かなりの長い時間にわたり空中に露出したままの状態で放置することがある。また、業者によっては挿核後直ちに海中に戻すよりも、ある程度の時間空中に露出した方が、真珠品質の面で良い結果が得るとも言っている。しかしながら、このことについての論議は業者間においてもまちまちであって、まだ明確な結論が出されていないようである。前報<sup>1)</sup>において、挿核手術の前に栓を差したまま空中に露出する時間の程度によって、挿核後の貝の生理状態や真珠の品質に影響をおよぼすことがあると報告した。

そこで今回は、挿核手術を施し海中に戻すまでの空中露出時間が貝の生理状態におよぼす影響を究明し、また、真珠品質との関連性を検討するために実験を行ない、その結果を得たので報告する。

報告に先だち、実験に協力いただいた当所村上悦男、出口安隆両技官に深謝する。

### 実 験 方 法

実験は1968、'69年の2か年にわたって時期別に3回実施した。

実験Ⅰ ——1968年8月から9月にかけて行なった。実験に供した貝は愛媛県産の満2年生アコヤガイである。1968年7月9日に母貝仕立てを開始し、8月27日から9月3日までの間に挿核手術を実施した。挿核は常法に従い、直径4.10~4.20mmの核を「ふくろ」と「うかし」の2個入れとし、また、核面へ真珠袋上皮より分泌形成される層の観察に供する貝には直径約5mmのパラフィン核を1個あて「ふくろ」に挿入した。なお、貝立て時間は2時間30分とし、栓差しをした後、直ちに挿核を行なった。

挿核した貝を再び海中に戻すまでの間、空中露出を行ない、その時間には次のような5段階を設けた。

\* Masumi Hasuo, Kazuto Yamaguchi and Shoji Funakoshi. Studies on the various works followed to the nuclear insertion operation. III. On the influence of exposure to the air. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 15: 1922-1930. 1970.

† 国立真珠研究所業績 No. 190. (国立真珠研究所報告15: 1922-1930. 昭和45年5月)

0.5時間, 1時間, 3時間, 5時間, 8時間。

空中露出を終えた貝は、養生籠に收容して、9月14日まで真珠研究所大村支所地先のいかだから底層附近に垂下し、養生を行ない、その後は丸型化繊網籠に移し換え、同地先で海面下2m層に垂下養成を行なった。

挿核後、露出時間の違いによる貝の生理状態の変化を調べるために、杆晶体の重量を測定した。測定の要領は、挿核時とその後7, 14, 21, 28および35日目にそれぞれ各露出時間別に約30貝を抽出し、開殻してすみやかに杆晶体を取り出し、濾紙で粘液、付着物を取り除き、トーションバランスで秤量した。また、核面に分泌形成された層を観察するために、挿核後10, 20, 30, および40日目にそれぞれ露出時間別に10貝を採取し、核を含んだ周辺の組織を切り出し、ホルマリン10%溶液で固定し、常法によってパラフィン切片をつくり、マイヤーのヘマトキシリン-エオジン染色を施し観察した。

一方、真珠品質の観察を行なうために養成したものは、11月中旬に貝掃除を行ない、1969年1月9日に真珠を採取した。養成期間は約5か月である。

実験Ⅱ——1968年10月に実施した。供試貝は愛媛県産の満2年生アコヤガイである。9月10日に母貝仕立て作業を始め、10月15日から22日にわたって挿核手術を行なった。挿核は常法に従い、直径5.60~5.70mmの核を2個入れとし、また、核面へ分泌形成される層の観察に供する貝には直径約5mmのパラフィン核を1個入れとした。なお、挿核前の貝立ては3時間行ない、栓差し後直ちに挿核手術を実施した。

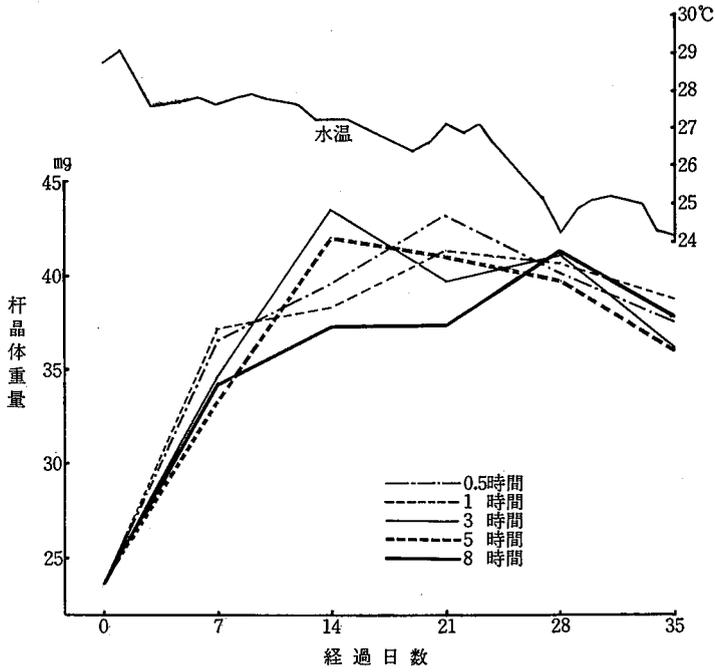
挿核した貝の空中露出の時間および測定・観察の項目、要領は実験Ⅰと同じである。空中露出を終えた貝は養生籠に收容して、11月14日まで支所地先のいかだから底層附近に垂下しておき、その後は丸型化繊網籠に移し換え、同地先で海面下2m層に垂下養成を行なった。

真珠品質の観察を行なうための貝は11月下旬から1969年5月上旬まで、長崎県西彼杵郡大瀬戸町地先に避寒を行なった。1969年5月下旬と10月上旬の2回貝掃除を実施し、真珠の採取は12月11日に行なった。養成期間は約13か月である。

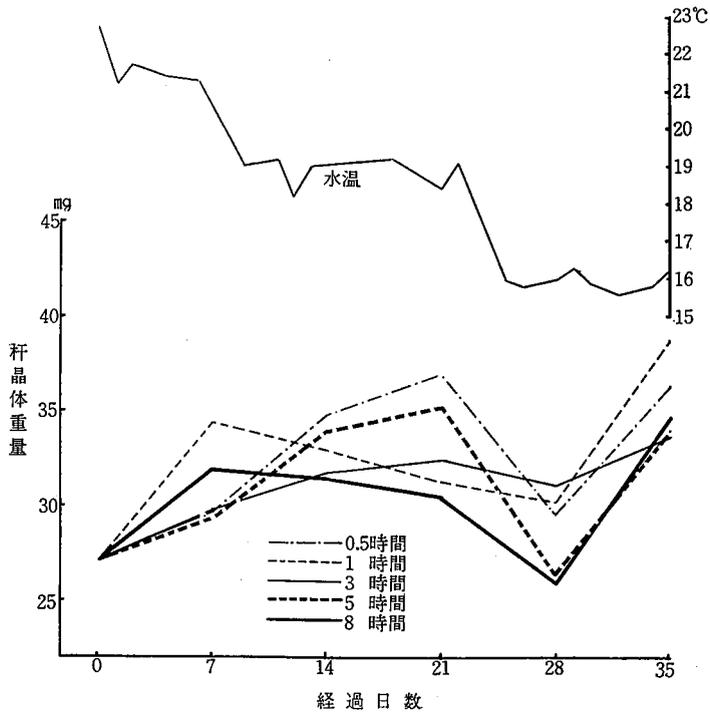
実験Ⅲ——1969年7月に実施した。実験に供した貝は高知県産満2年生アコヤガイである。母貝仕立て作業を1969年5月2日に開始し、7月15日から22日にわたって挿核手術を行なった。挿核は常法に従い、直径4.60~4.70mmの核を2個入れとし、核面へ分泌形成される層の観察に供する貝には直径約5mmのパラフィン核を1個入れとした。なお、挿核前の貝立ては2時間30分行ない、栓差し後直ちに挿核手術を行なった。

挿核後の貝の空中露出時間、および測定・観察の項目、要領は実験Ⅰと同じである。ただし、核面へ分泌形成される層を観察するものの標本抽出は実験Ⅰと異なり、挿核後7, 14, 21, 28, および35日目に行なった。

挿核後空中露出を終えた貝は養生籠に收容して8月18日まで大村支所地先のいかだから底層附近に垂下し養生を行ない、その後は丸型化繊網籠に移し換え、同地先で海面下2m層に垂下した。真珠品質の観察を行なうためのものは、12月16日に真珠の採取を行なった。養成期間は約5か月である。



第1図 杆晶体重量の変化



第2図 杆晶体重量の変化

## 実験結果

### 1. 杆晶体重量の変化

実験Ⅰ — 挿核後の杆晶体の平均重量の変化を第1図、付表Ⅰに示す。

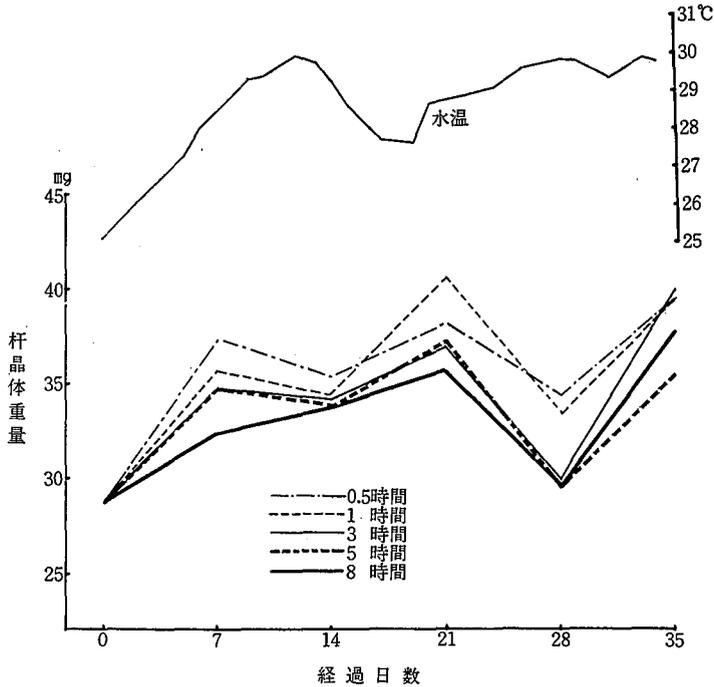
挿核後7日目では、各露出時間群とも挿核時の杆晶体重量に比較して10mg前後増加しているが、0.5、1時間群に比べて、3、5、8時間群は増加の程度が低いようである。その後21日目まで8時間群は、他の4群に比べて常に低い値を示しながら経過している。また、3時間、5時間群は14日目に急激に重量が増加しており、その後は減少の傾向を示しているが、28日目には各群は同程度の重量を示すようになった。

実験Ⅱ — 杆晶体の平均重量の変化を示したのが第2図、付表Ⅱである。

杆晶体重量は各群ともに挿核後7日目までは増加の傾向をたどっているが、その後の各群の動向はまちまちであって、露出時間との間に一定の傾向を見出すことができない。

実験Ⅲ — 第3図、付表Ⅲに杆晶体の平均重量の変化を示した。

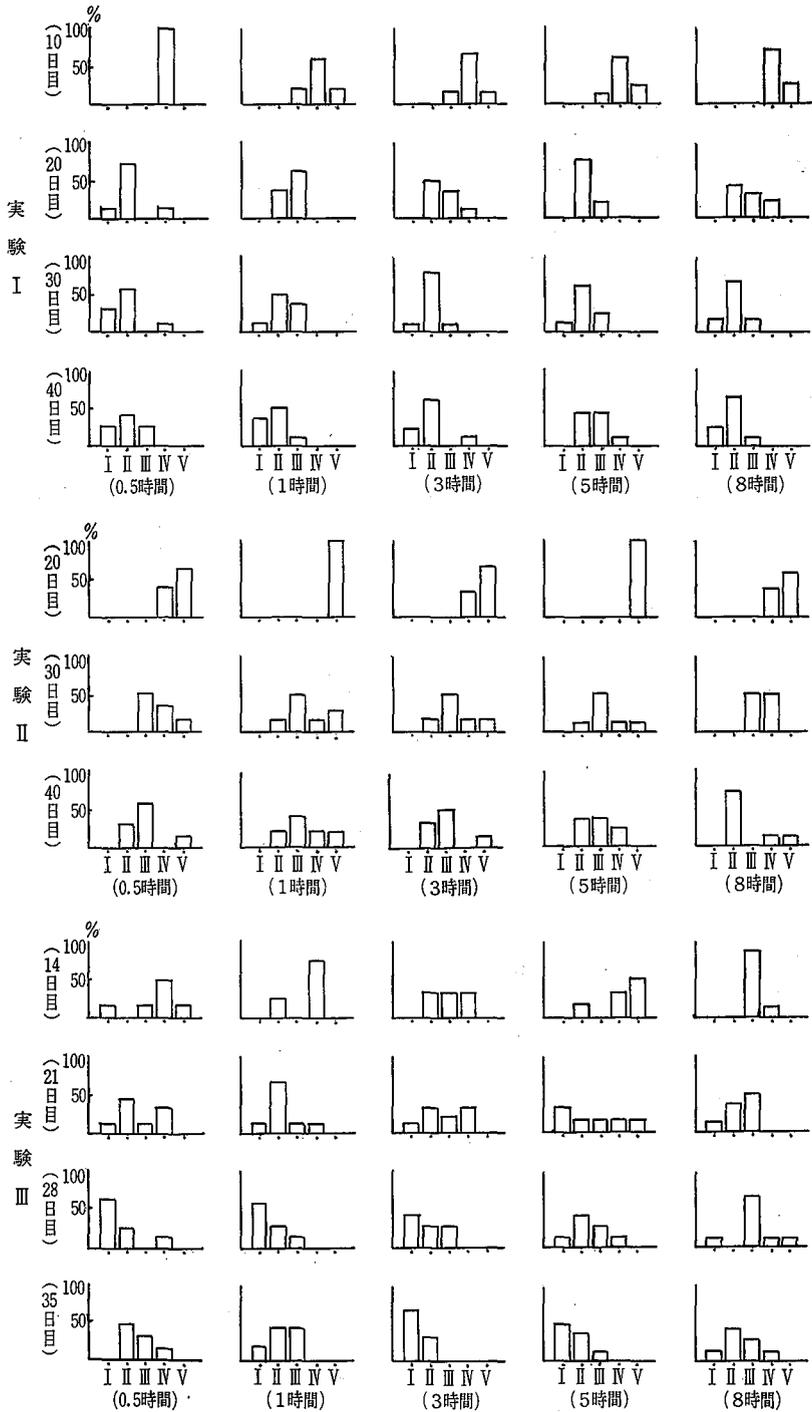
0.5、1時間群の杆晶体重量は挿核後28日目まで、他の3群に比べて高い値を示しながら推移している。また、8時間群は28日目まで終始低い値を示していて、杆晶体重量の動向と露出時間との間にはかなり顕著な関連が存在するようである。



第3図 杆晶体重量の変化

### 2. 核面への分泌物の変化

真珠袋が形成された初期においては、一般的に有機質層の分泌形成が行なわれ、次いで稜柱層が形成され、最後に真珠層の形成が行なわれるようになる。この間の変化の遅速は、



第4図 真珠袋上皮より分泌形成される層の推移

I. 真珠層 II. 真珠層・稜柱層混在 III. 稜柱層 IV. 稜柱層・有機質混在 V. 有機質

その時の貝の生理状態に関連がとめられることから<sup>2)</sup>、核面にその時に分泌形成されている層の種類を観察し、その種類別出現分布の状態を第4図に示した。

実験Ⅰ——挿核後20日目には0.5時間群のみに真珠層が分泌形成されている個体が観察されるが他の4群には認められない。30日目に至って、空中露出が1時間以上の各群は0.5時間群に比べて真珠層が分泌形成されている個体の出現頻度が低い傾向がみられる。しかしながら、40日目になれば、5時間群を除いてほぼ類似した出現傾向を示すようである。

実験Ⅱ——挿核後40日目に至っても、真珠層のみが形成されている個体は全然認められず、真珠袋上皮の変化が非常に遅いようである。また、分泌物の種類別出現状態は、経過日数ごとにみて、各群相互間に顕著な差異が認められない。

実験Ⅲ——挿核後7日目にはまだほとんどの個体に分泌物がみられなかった。14日目では、0.5時間群だけに真珠層のみを形成する個体が観察されるが、他の4群にはみられない。21日目になると、すべての群に真珠層のみを形成する個体がみられるようになる。35

第1表 キズだまの出現率

実験	挿核部位	露出時間	A	B	C	D	E
Ⅰ	ふくろ	0.5	18.2%	11.2	43.4	19.6	7.6
		1	14.3	8.6	40.7	28.6	7.8
		3	13.6	11.4	43.9	25.8	5.3
		5	13.0	10.1	43.2	29.5	4.2
		8	13.0	12.0	37.0	32.6	5.4
	うかし	0.5	10.5	7.6	34.3	28.6	19.0
		1	9.1	6.8	34.1	33.0	17.0
		3	8.2	8.2	33.6	32.7	17.3
		5	8.7	7.7	28.9	40.4	14.3
		8	10.6	9.1	27.3	34.9	18.1
Ⅱ	ふくろ	0.5	5.4	16.2	35.1	27.0	16.3
		1	11.4	14.3	31.4	28.6	14.3
		3	7.4	18.5	33.3	25.9	14.9
		5	12.0	16.0	32.0	28.0	12.0
		8	10.3	12.9	38.5	23.1	15.2
	うかし	0.5	0	0	19.4	45.2	35.4
		1	0	0	12.5	37.5	50.0
		3	0	0	14.3	47.6	38.1
		5	0	0	35.3	47.1	17.6
		8	0	0	31.8	45.5	22.7
Ⅲ	ふくろ	0.5	10.4	14.3	33.8	32.5	9.0
		1	5.4	8.7	40.2	34.8	10.9
		3	6.2	9.3	46.4	28.9	9.2
		5	4.3	6.5	49.5	30.1	9.6
		8	4.6	7.7	50.8	26.2	10.7
	うかし	0.5	6.2	10.8	46.2	24.6	12.2
		1	7.3	8.7	46.4	24.6	13.0
		3	9.5	4.1	47.3	28.4	10.7
		5	2.6	7.9	52.6	26.3	10.6
		8	4.2	6.3	54.2	20.8	14.5

A：小キズの少ないたま

B：大キズの少ないたま

C：小キズの多いたま

D：大キズの多いたま

E：大キズ・シミだま

日目までの推移をみると0.5, 1, 3および5時間群は日時の経過につれて, 分泌物の有機質→稜柱層→真珠層への移行変化が順調に進んでいるようであるが, 8時間群では遅い傾向を示している。

### 3. 真珠品質の比較

採取した真珠をキズの大小および多少, また, シミの程度によって5種類に分類し, 実験区分別, 露出時間別にその出現率を示したのが第1表である。真珠のキズ, シミによる分類はキズの大小は1 mm以上, 未満をもって, また, キズの多少は4点以上, 3点以下をもって判定の基準とし, 小キズの少ないたま, 大キズの少ないたま, 小キズの多いたま, 大キズの多いたま, 大キズ・シミだまの5種類に分類した。

実験Ⅰ——「ふくろ」では大キズの多いたまについて, 8時間群と0.5時間群との間に有意の差が認められ, 8時間群にその出現率が高い。また, 小キズの少ないたまについては, 0.5時間群に比較して, 露出時間が長い群ほどその出現率が低くなる傾向がうかがわれる。しかし「うかし」では各露出時間群相互間に有意差は認められない。これらのことから, 少なくとも「ふくろ」については, 露出時間の長さに比例して質の悪い真珠が増加すると考えられる。

実験Ⅱ——空中露出時間の違いによる各群間のキズだまの出現分布に有意の差は認められない。つまり, 空中露出の時間の長短と真珠品質との間には関連が認められない。

実験Ⅲ——「ふくろ」で小キズの多いたまは, 0.5時間群と5, 8時間群との間に有意差が認められ, 前者は後2者よりもその出現率が低い。すなわち, 露出時間と真珠品質との間に関連が認められ, 時間が長くなるほど質の劣る真珠の出現数が増加する傾向を示している。また, 「うかし」では各群間に有意の差が認められない。

## 考 察

実験の結果から, 挿核手術後の貝の生理状態の推移を杆晶体の重量を指標として, 総括的にみれば, 挿核時の貝の生理状態は母貝仕立てによって正常な状態より低下しているが, 挿核後は一応回復への経過をたどっている。しかしながら, 各実験区分とも露出時間の違いによって, 回復の速さや, その動向が異なっていて, 実験Ⅰおよび実験Ⅲにおいては, 露出時間の長短が挿核後の貝の生理活動と関連があり, 時間が長い場合には回復が遅れがみられるようである。これによっても, 夏季の挿核手術において, 挿核後貝を海に戻すまでたとえ室内であっても, 空中に露出したまま長時間置けば, 貝の生理的な面への影響があらわれることは避けられないものとみられる。実験Ⅰ, Ⅲの場合の空中露出中の室内気温は約27~32°Cの範囲にあった。また, 実験Ⅱについては, 挿核後の杆晶体重量の推移と露出時間の違いとの間には関連性はみられないで, 各群まちまちの推移をたどっている。このことから, 秋季(空中露出中の室内気温は17~25°C)において, ある程度気温が低い場合には, 挿核後の空中露出の直接的な影響はそれ程大きくないものと考えられる。

また, 挿核後の日時の経過に従って, 核面に分泌形成される層の種類別出現頻度をみると, 実験Ⅰおよび実験Ⅲでは空中露出の時間によって, その分布の変化が異なっていて, 時間が長い場合には有機質→稜柱層→真珠層の移行変化が短時間群に比較して遅いよう

ある。つまり、空中に露出する時間の違いによって貝に対する影響の程度が異なり、分泌形成される層の種類別出現率にも違いがでるものと思われる。実験Ⅱでは水温の下降期に当り、挿核時の水温は約23°Cであるが、実験終了時の35日目には15°C 台に低下して、分泌形成される層の移行変化が実験Ⅰ、Ⅲに比べて非常におくれ、挿核後40日目になっても各群とも真珠層のみを分泌形成している個体が全く認められなかった。また、分泌物の種類別出現状態を経過日数ごとに検討しても、各群間に顕著な差異はみられない。すなわち、空中露出の時間の違いによる影響の強弱は認められない。

次に空中露出の時間と真珠品質とくにキズだまの出現率との関係をみると、実験Ⅰ、実験Ⅲでは、露出時間が長い程良質真珠の出現率が低くなり、質の劣る真珠の出現率が高い傾向がある。実験Ⅱでは差を認めることはできなかった。つまり、空中露出の時間と真珠品質との間には気温が高い時期では関連があり、露出の時間が長くなれば真珠の品質にまで影響がおよぶことが推察される。

以上のことから、夏季の気温が高い時期においては、挿核手術後の貝を長時間空中露出すれば、時間によって程度の差はあるが貝の生理状態に影響をおよぼし、挿核後の貝の生理活動の回復をおくらせ、また、不安定にして、それが真珠袋上皮より分泌形成される層の移行変化を遅らせ、有機質、または稜柱層の分泌期間が長くなり、異常形真珠の出現を高める結果となるものと推察される。しかしながら、季節的に挿核時の気温が低い時期では空中露出の影響が顕著にあらわれることは少ないと考えられる。

## 要 約

1) 挿核手術を終えた貝を再び海に戻すまでに空中に露出したまま置かれることがあるが、その時間の程度と挿核後の貝の生理状態の動向、真珠袋から分泌形成される層の推移および生産される真珠品質との関連を検討するため、時期別に3回の実験を実施した。空中露出の時間は0.5, 1, 3, 5, 8時間の5段階を設けた。

2) 夏季の実験においては、空中露出の時間が長くなれば、挿核後の貝の生理状態の回復に影響をおよぼし、核面に分泌形成される層の推移が遅れ、良質真珠の出現率が低くなる傾向がうかがわれる。

3) 秋季の実験では、顕著な影響が認められない。

## 文 献

- 1) 蓮尾真澄・山口一登・船越将二 1970. 挿核手術に付随した諸作業に関する研究 II. 検査しに関する生理学的研究. 国立真珠研報15: 1913—1921.
- 2) 植本東彦 1961. アコヤガイのそう核手術に関する生理学的研究 I—III. 国立真珠研報 6: 619—635.

付表I 杆晶体重量の変化

露出時間 経過日数	0.5	1	3	5	8
挿核時	23.7mg (52.4mm)				
7	36.7 (50.7)	37.3 (51.3)	34.6 (52.4)	33.4 (52.9)	34.2 (53.4)
14	39.7 (50.6)	38.3 (52.2)	43.5 (51.4)	42.0 (52.9)	37.3 (52.9)
21	43.1 (53.3)	41.4 (51.7)	39.8 (52.5)	41.0 (53.1)	37.3 (52.1)
28	40.1 (52.5)	40.8 (52.3)	41.1 (53.1)	39.7 (52.1)	41.2 (52.6)
35	37.5 (53.5)	38.9 (53.5)	36.1 (52.8)	36.0 (53.1)	37.9 (52.6)

( ) は殻長を示す。

付表II 杆晶体重量の変化

露出時間 経過日数	0.5	1	3	5	8
挿核時	27.1mg (53.1mm)				
7	29.6 (53.6)	34.4 (52.4)	29.6 (54.2)	29.3 (51.9)	31.9 (52.3)
14	34.8 (53.1)	32.9 (52.4)	31.7 (53.1)	33.9 (53.1)	31.2 (53.0)
21	37.0 (54.4)	31.3 (53.1)	32.4 (53.4)	35.2 (52.6)	30.3 (53.4)
28	29.6 (52.7)	30.2 (53.4)	31.0 (53.8)	26.1 (52.1)	25.9 (52.0)
35	36.4 (52.7)	38.6 (54.4)	33.7 (53.4)	34.0 (53.0)	34.7 (53.2)

( ) は殻長を示す。

付表III 杆晶体重量の変化

露出時間 経過日数	0.5	1	3	5	8
挿核時	28.8mg (48.3mm)				
7	37.3 (49.1)	35.7 (49.5)	34.8 (48.9)	34.8 (49.1)	32.3 (48.1)
14	35.4 (49.2)	34.5 (49.5)	34.3 (49.0)	33.8 (48.7)	33.8 (49.4)
21	38.3 (51.3)	40.6 (50.8)	37.1 (50.6)	37.3 (50.4)	35.7 (50.4)
28	34.6 (51.6)	33.3 (50.1)	30.0 (51.3)	29.5 (50.7)	29.6 (49.9)
35	39.4 (51.6)	39.3 (51.7)	40.0 (52.1)	35.6 (51.2)	37.7 (52.7)

( ) は殻長を示す。

# アコヤガイに寄生する *Proctoeces* 属 の吸虫に関する研究

I. 虫体の形態と寄生部位および罹病貝の分布\*, †

阪口清次・保科利一・見奈美輝彦  
国立真珠研究所 東京水産大学 和歌山県水産増殖試験場

本種は難波<sup>1)</sup>によってアコヤガイに寄生するメタセルカリアの一種として発見され、保科・松里<sup>2)</sup>により *Proctoeces* の一種としてその形態観察が行なわれた。

1967年7月に三重県英虞湾の真珠養殖場において、四国から搬入したアコヤガイに挿核手術を行なった際に異常に高い斃死率が観察された。この母貝群を検査したところ、かなりの高い率で上記のメタセルカリアが発見された。しかし、本種のアコヤガイにおよぼす病害についてはその事例が少なく明らかではなかったが、虫体の寄生数が少ない貝ではその影響はみられないが寄生数がいちじるしい貝には顕著な衰弱がみられ、本虫による病害の発現の有無は寄生している虫体の多寡に関係すると考えられた。この病害も今後の漁場利用の傾向とともに次第に続発蔓延することも危惧されるので、本研究に着手した。

ここでは、本種のアコヤガイにおける寄生部位と感染状況および虫体の形態について報告する。

## 1. 寄生部位および感染状況

### 1-1. 供試材料ならびに観察方法

供試材料は三重県英虞湾、和歌山県田辺湾など第2表に示した各地から採集した養殖および天然棲息のアコヤガイである。

虫体の寄生数の算定に当っては、供試貝の貝殻を除去し、まず、心臓および腎臓部における虫体の有無を調べた後に貝の軟体部を70%アルコールで固定し、1~2日後に宿主の生殖腺および中腸腺を解体しながら虫体を丹念に計数した。これは、固定後1~2日後に

\* Seiji Sakaguchi, Tosikazu Hosina and Teruhiko Minami. Studies on a trematode genus *Proctoeces* parasitic in pearl oyster, *Pinctada fucata*-I. On the morphology, parasitic status and the distribution of pearl oyster infected with the parasite. With English summary, p. 1937 Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 15 : 1931-1938.

† 国立真珠研究所業績 No. 191. (国立真珠研究所報告 15 : 1931-1938 昭和45年5月)

宿主の軟体部は比較的軟柔で、しかも虫体が灰白色を呈し識別し易かったからである。したがって、心臓および腎臓における寄生数は正確に算定されているが、生殖腺および中腸腺については多少明確でない数値となっていることは免れない。小型の貝については、心臓および腎臓における寄生数を調べた後に固定することなく、生材料のまま適当な細片とし、2枚のスライドガラスではさんでおしつぶし標本として虫体の寄生数を計数した。

### 1-2. 結果

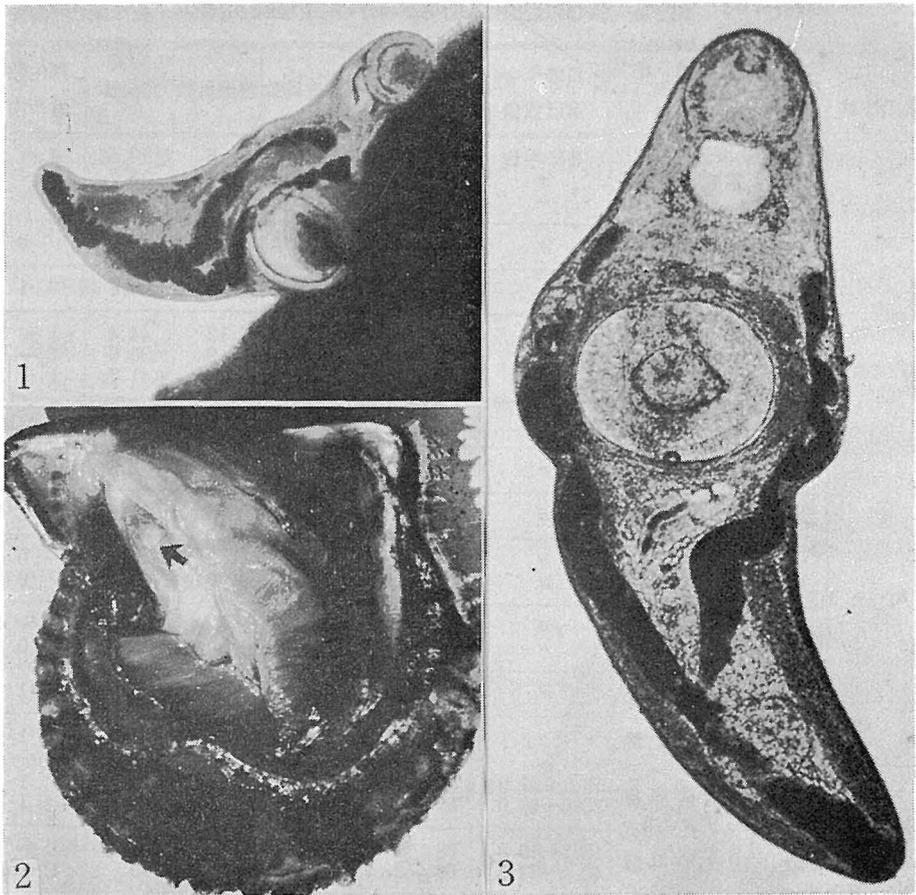
田辺湾奥部の海域で採集した天然棲息貝における本虫の寄生部位および寄生数は第1表のとおりである。虫体は宿主の囲心腔とくに心房外壁、腎臓、生殖腺および中腸腺などに

第1表 アコヤガイにおける吸虫の寄生部位

事項 No.	殻長 cm	重量 g	貝殻重量 g	推定年令	部位別寄生数			
					心臓	腎臓	生殖腺 および 中腸腺	総数
1	44.3	15.8	8.8	3	1	0	0	1
2	37.3	18.5	11.0	3	1	0	1	2
3	47.6	16.3	10.0	3	0	0	2	2
4	44.2	27.5	15.9	4	0	0	2	2
5	51.2	25.7	15.3	4	0	0	1	1
6	52.2	34.7	19.5	4	4	0	2	6
7	56.5	35.2	21.6	4	0	1	3	4
8	54.8	36.6	20.9	5	4	1	2	7
9	52.3	39.6	21.8	5	1	1	1	3
10	57.5	39.3	22.9	5	4	1	1	6
11	56.0	49.3	30.0	6	1	0	1	2
12	62.5	57.7	33.0	6	1	0	0	1
13	66.2	48.6	25.0	6	6	0	0	6
14	55.5	40.6	23.1	6	7	1	13	21
15	60.9	47.2	27.7	6	10	2	11	23
16	57.0	52.5	31.5	6	5	1	35	41
17	60.9	68.5	40.9	7	1	0	1	2
18	53.2	74.5	44.1	7	18	6	495	519

寄生している。虫体の寄生の有無は宿主を解剖しなければ明らかではないが、心房壁に寄生しているばあいには淡い白黄色の虫体が暗褐色の心房壁に腹吸盤をもって吸着寄生しているので虫体は認め易い(第1図-1)。また、虫体が宿主の体表に近い部位に寄生しているばあいには、その周辺組織は米粒大の白い斑点状の病徴を示すので外見上からも識別し得るが(第1図-2)、深部に潜入しているばあいには、宿主組織を丹念に解体するか、おしつぶし標本を作って虫体を確認していく以外に適当な方法は見当らない。

第1表について、寄生部位と寄生数との間には関連はみられないが、貝の大きさと虫体の寄生数との間には、貝が大きくなる程虫体数も多くなる傾向がうかがわれる。異なる海域で採集した養殖母貝および天然棲息貝における感染状況を第2表に示した。本種はほと



第1図 宿主における虫体の寄生状態とその形態

1. 宿主の心房外壁に吸盤をもって吸着寄生している虫体
2. 宿主の体表に近い部位に寄生しているばあいには白い斑点状の病徴を示す (矢印)
3. 宿主からとりだし、軽くカバーグラスでおしつぶした虫体

んどの海域のアコヤガイから多少なりとも発見されるが、特定の海域における高年令の天然棲息貝は感染率および寄生数が多い傾向がみられ、最高例では1個のアコヤガイに519尾の虫体が寄生していたものがある。養殖母貝においては寄生数は一般に少なく、通常1～5尾程度のものが多い。

## 2. 虫体の形態

### 2-1 供試材料および観察方法

虫体を宿主から取り出し、主として生きたままの標本、あるいは Neutral red による生体染色標本について観察した。また、宿主の組織とともに Zenker 液で固定し、パラフィ

第2表 異なる海域におけるアコヤガイの感染状況

貝の性状	事項		貝の年齢 又は重量	調査月日	調査貝数	感染貝数	感染率	寄生数の 分布巾
	県名	採集地点						
養殖母貝	三重	英虞湾奥部	3年生貝	'67. 9- 8	57	6	10.5%	1 ~ 2
			"	'67. 11-15	30	5	16.7	1 ~ 3
			"	'68. 11- 8	105	0	0	0
		引本浦奥部	"	'68. 7-24	65	0	0	0
	奈屋浦奥部	"	'69. 5- 2	35	3	8.6	1	
	和歌山	田辺湾奥部	"	'68. 2- 7	27	12	44.4	1 ~ 3
			"	'68. 4-13	25	9	36.0	1 ~ 5
			"	'68. 11- 8	24	10	41.7	1 ~ 5
	高知	宿毛湾奥部	"	'67. 9-11	40	25	62.5	1 ~ 10
		宿毛湾中央部	"	'69. 4-21	35	1	2.8	1
	愛媛	平城湾中央部	"	'67. 7-26	25	3	12.0	1 ~ 4
		宇和島湾中央部	"	'67. 7-12	80	0	0	0
	"		"	'68. 4-30	29	0	0	0
徳島	橋湾奥部	"	'67. 11- 4	30	3	10.0	1 ~ 4	
"	"	"	'68. 10-18	21	0	0	0	
大分	佐伯湾奥部	"	'69. 4-21	18	1	5.6	1	
鹿児島	奄美大島	"	'68. 7-24	20	1	5.0	1	
天然棲息貝	三重	英虞湾奥部	13.2~37.0g	'68. 11-15	22	1	4.6	1
			35.0~60.0	'69. 10-30	55	1	1.8	1
和歌山	田辺湾奥部	16.3~40.0	'68. 2- 7	12	10	83.3	1 ~ 7	
		40.1~73.5	'68. 2- 7	8	8	100	1 ~ 519	

ン法によって切片を作り、Ehrlich ヘマトキシリン-エオジン染色を行なったものについても観察した。全体標本は宿主から取り出した虫体に直ちに30%アルコールを滴下して麻酔と前固定を行ない、アルコール酢酸液(アルコール95cc, 氷酢酸5cc)で固定して、Ehrlich ヘマトキシリン-エオジンで染色した。虫体の諸器官の大きさは、麻酔、固定した材料の両端に0.2mmの厚さのカバーガラスの細片をおき、その上へカバーガラスを軽くのせ静かに圧したうえで計測した。

## 2-2 観察結果

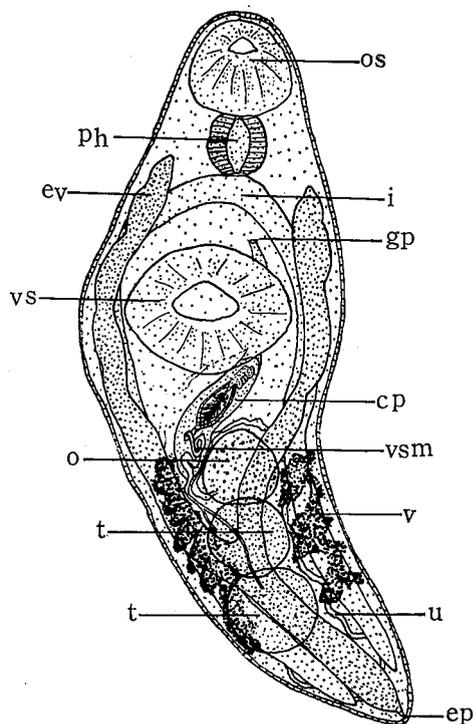
宿主から取り出した虫体はいちじるしく伸縮性に富み、同一虫体を計測した例では、体長および体巾は $3960\mu \times 260\mu$ から $790\mu \times 710\mu$ の範囲で変化した。体の外形は一般的に長楕円形であるが、腹吸盤が位置する部位をもつて最大巾を示し、前後に徐々に細くなっている。体色は淡い白黄色を呈するものが多く、Y型を呈する排泄嚢に蓄積されている排泄顆粒は灰白色を呈して観察される。

宿主の心房壁から取り出して、直ちに麻酔、固定した10個体の虫体は $1470\mu \pm 170\mu$ 、体巾

第3表 処理方法によるメタセルカリアの諸器官の大きさの変化 (n=10)

測定条件 部位	麻醉, 固定後 (未圧扁) の状態 (平均 ± 標準偏差)	左標本を更に 0.2 mm の厚さに軽くおさえた状態 (平均 ± 標準偏差)
体長	1470 μ ± 166 μ	1723 μ ± 180 μ
体巾	443 ± 137	603 ± 120
口吸盤 L.	247 ± 43	248 ± 36
"    W.	266 ± 32	273 ± 37
腹吸盤 L.	326 ± 52	342 ± 50
"    W.	379 ± 60	385 ± 53
卵巢	185 ± 19	188 ± 29
前精巢	223 ± 41	217 ± 26
後精巢	235 ± 34	225 ± 33

は  $440\mu \pm 140\mu$  であった。これらの虫体は、このままでは各器官の観察が容易でないので、虫体が 0.2mm の厚さになるようにカバーガラスで軽く圧した。この処理による虫体の各器官の大きさの変化は第3表に示したとおりであった。すなわち、体は  $1720\mu \pm 180\mu$  体巾は  $600\mu \pm 120\mu$  となり、圧する前にくらべて 1.2~1.4 倍に伸展するが、その他、吸着および生殖器官においてはほとんど変化しないことがわかった。以下、この処理標本によって、本種の形態を述べる (第1図—3, 第2図)。口吸盤は体の前端部の腹面に位置し、長さは  $250\mu \pm 40\mu$ 、巾は  $270\mu \pm 40\mu$  のほぼ円形を算す。これに続いて咽頭があり、きわめて短かい食道をもって2又した腸管に連なる。腸管は体の両側方を末端部近くまで達する。排泄嚢はY字形で、腹吸盤と体の末端の2分の1あたりで分岐し、前方へは腹吸盤より先端部へのび、後方へは体の末端部に達して腹面に開口する。腹吸盤は体の前方、体長のほぼ3分の1の部に位置し、その長さは  $340\mu \pm 50\mu$ 、巾は  $390\mu \pm 50\mu$  のやや横に長い楕円形を呈する。卵巢は腹吸盤の後方背面、正中線上にあり、長径は  $190\mu \pm$



第2図 アコヤガイから得た吸虫の形態  
cp: 陰茎囊, ep: 排泄口, ev: 排泄嚢,  
gp: 生殖口, i: 腸管, o: 卵巢,  
os: 口吸盤, ph: 咽頭, t: 睾丸,  
u: 子宮, v: 卵黄腺, vs: 腹吸盤,  
vsm: 貯精囊

30  $\mu$ 、短径は180  $\mu \pm 30 \mu$  のほぼ円形あるいは円形に近い西洋梨形を呈する。卵巢の後方には少しく傾並する2個の精巢がみられる。前方の精巢は短径は220  $\mu \pm 30 \mu$ 、長径は240  $\mu \pm 40 \mu$ 、後方のものは230  $\mu \pm 30 \mu$  および250  $\mu \pm 40 \mu$  のほぼ円形である。

2個の精巢からは1本ずつの輸精小管が前方へ伸び、卵巢附近で合一し、輸精管となって陰莖囊の基部、すなわち、管状の貯精囊に連なる。陰莖囊の基部は腹吸盤の後方、ほぼ卵巢附近に達しており、その先端は腹吸盤を越えた前方の腹面に開口する。受精囊の存在は認められない。現在までに観察した虫体のうちには、体の後方末端部に子宮が弱々しく識別される数例がみられたが、虫卵が発達している虫体は観察されなかった。

### 考 察

以上の形態的な特徴、すなわち、(1)体が円筒状で伸縮性に富む、(2)腹吸盤は口吸盤より大きい、(3)陰莖囊は腹吸盤の後方に達し、管状の貯精囊を有し、生殖孔は腹吸盤の前方に開口する、(4)受精囊の存在は認められない、(5)2個の精巢は少しく傾並し、卵巢の後方に存在する、(6)排泄囊はY型を呈する、などにより本種は *Felodistomatidae* の *Proctoeces* に属することは明らかである。

本属の種類には、*P. maculatus* (Looss, 1901) Odhner, 1911; *P. subtenuis* (Linton, 1907) Hanson, 1950; *P. neomagnorus* Siddiqui et Cable, 1960; *P. erythraeus* Odhner, 1911; *P. insolitus* (Nicoll, 1915) Dollfus, 1952; *P. major* Yamaguti, 1934; *P. magnorus* Manter, 1940; *P. ostreae* Fujita, 1925 などが報告されている (Freeman & Llewellyn,<sup>3)</sup> 1958)。これらは普通海産のタイ科、バラ科およびスズキ科などの魚類から得られている。ただし、*P. ostreae* はメタセルカリアとしてカキに寄生を発見されたものであるが、Freeman & Llewellyn は舟鰓類の1種 *Scrobicularia plana* に成虫の状態で寄生せる1種を見出し、これを *P. subtenuis* に同定している。また、市原<sup>4)</sup> も同様な例をサザエ *Batillis cornutus* に寄生する1種として見出している。本属の種類はいわゆる“progenesis”を起し易いと見え興味深い。

これらのうち、*P. erythraeus*<sup>5)</sup> は腹吸盤および卵が小形であること、卵黄巢が後方の精巢域まで広がっていないことなどから独立な種として記載されたものであるが、Freeman ら<sup>3)</sup> は同種には変異性のあることから、*P. subtenuis* の異名と考えている。また、同氏<sup>6)</sup> は *Scrobicularia plana* の腎臓に寄生している *P. subtenuis* を瀬魚の *Ctenolabrus rupestris* および *Crenilabrus melops* に人工感染実験を行なって虫体を得ている。その虫体のうちには、陰莖囊の外に貯精囊の1部がある個体、卵巢が三葉形を呈する1個体が認められたことから、*P. insolitus* 並びに *P. major* はそれぞれ *P. subtenuis* に同定されるとした。また、Manter<sup>7)</sup> によって記載された *P. magnorus* は *P. erythraeus* にきわめて類似したものであって、両者を別種とする Manter の論拠は薄弱であるとし、*P. magnorus* も *P. subtenuis* に同定さるべきと提唱している。

以上、*Proctoeces* の既報の種類の間について若干触れてみたが、この属の各種の間には現在なお確立された分類学上の区別点がみられない状態であり、さらに各器官の位置、形および大きさなどにおいて多くの変異性が認められることは一層この種の分類を困難に

している。

アコヤガイから得られたメタセルカリアを上記の各種と比較するには多くの点で難点があるが、貯精囊の形、口吸盤と腹吸盤の割合、生殖口の開口部などから、あえて既報種と比較検討すると、上記のうち、*P. maculatus*, *P. subtenuis* および *P. ostreae* に近縁種と考えられる。*P. subtenuis* には三葉形の卵巢のものも認められているが、本種のそれはすべて円形ないし円形に近い西洋梨型であり、三葉形のもの認められなかったことからすると、本虫は *P. maculatus* に最も近いと考えられる。そうすると、共にメタセルカリアとして発見された *P. ostreae* と本虫がまたきわめて近縁な種と思われる。すでに Fujita<sup>9)</sup> が指摘したとおり、*P. ostreae* はその成体を得て検討することにより、*P. maculatus* に同定し得るか或いは独立な種として認め得るか決定されよう。本虫についても同様で、最終宿主への感染実験を実施し、成熟個体と虫卵を得たうえでさらに詳細に検討した後決定したいと考えている。なお、*Proctoeces* 属の幼虫の1種は山口<sup>9)</sup> により浜名湖産のホトトギス *Branchidontes senhausi* にも発見されている。この幼虫はさらに発達の未熟なものであるが、一般体制はアコヤガイのものによく似ている。

稿を終るにあたり種々御助言をいただいた和歌山水産増殖試験場宮本善雄場長ならびに目黒寄生虫館市原醇郎氏に深謝する。また、試料の採取について一方ならぬ御世話をいただいた田辺湾真珠生産組合中島正吉氏および関係業者の方々に感謝の意を表する。

## 要 約

アコヤガイに寄生する *Proctoeces* 属の吸虫について、宿主における寄生部位、本種によるアコヤガイの感染分布および虫体の形態について観察した。

- 1) 本種はアコヤガイの心臓、腎臓、生殖腺および中腸腺などに寄生している。
- 2) 天然棲息貝は養殖貝より感染率および寄生数において多い傾向がみられた。
- 3) 本種はほとんどの海域から採集されたアコヤガイに多少なりとも発見された。
- 4) アコヤガイから得られたメタセルカリアの形態を観察した結果、*Fellodistomatidae* の *Proctoeces* に属することは明らかであるが、種名については感染実験によって成体を得たうえで決定したい。

## Summary

We made some observations on a larval trematode belonging to the genus *Proctoeces* found in pearl oyster, viz. on its morphology, parasitic status and the distribution of pearl oyster infected with the parasites.

The results obtained are summarized as follows:

- 1) The parasite was found in the heart, gonad, kidney and mid-gut gland of pearl oyster.
- 2) It was proved that the pearl oysters lived under natural condition were infected with the parasite at a higher rate than the pearl oysters cultivated and the

number of the parasites occurring per one host was also greater in the former than in the latter.

3) The parasite was found more or less frequently in the pearl oysters collected at almost all locality.

4) From the morphological characteristics of the parasite, it is clear that it belongs to the genus *Proctoeces* of the family Fellodistomatidae. We would like to determine the species after the adult worms were obtained by experimental infection of suitable fishes with the larval form.

#### 参 考 文 献

- 1) 難波武雄 1966. 真珠貝の寄生虫 (セルカリア) について. 和歌山県水産試験場調査研究報告15: 1-11.
- 2) 保科利一・松里寿彦 1967. アコヤガイに寄生する Metacercaria の1種とイシダイに寄生する *Benedenia* 属吸虫の1種について. 日水学会年会 (口頭)
- 3) Freeman, R.F.H. & Llewellyn, L. 1958. An adult digenetic trematode from an invertebrate host: *Proctoeces subtenuis* (Linton) from the lamellibranch *Scrobicularia plana* (Da Costa), J. Mar. Biol. Ass. U. K. 37: 435-459.
- 4) 市原醇郎 1965. サザエ *Turbo (Batillis) cornutus* Solander より得たる吸虫 (*Proctoeces* 属) について. 寄生虫学雑誌14 (5): 426-436.
- 5) Odhner, T. 1911. Zum naturlichen System der digenen Trematodes. 3, Zool. Anz. 38 (4): 97-117.
- 6) Freeman, R.F.H. 1962. Experimental infection of two species of wrasse with the digenean *Proctoeces subtenuis*. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 43: 112-123.
- 7) Manter, H.W. 1940. Digenetic trematodes of fish from the Galapagos Island and neighboring Pacific, All. Han. Paci. Exp., 2 (14): 329-497.
- 8) Fujita, T. & Dollfus, R. P. 1925. Etudes sur les parasites de l'hutre comestible du Japon *Ostrea gigas*, Ann. Parasit. 3(1): 37-59.
- 9) Yamaguti, S. 1938. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 21. Trematodes of Fishes IV. Published by Author: 102-103.

# アコヤガイに寄生する *Proctoeces* 属 の吸虫に関する研究

## II. メタセルカリアの最終宿主への人工感染\*†

阪 口 清 次・見 奈 美 輝 彦・山 村 豊

国立真珠研究所 和歌山県水産増殖試験場 国立真珠研究所

*Proctoeces* 属のメタセルカリア幼生は真珠養殖が行なわれているわが国の中部以南の海域で採集したアコヤガイには、寄生率および寄生数などの違いはあるとしても殆んどすべての海域において認められている<sup>1)</sup>。

本虫の最終宿主について、真珠養殖場でアコヤガイの軟体部を捕食するウナギ、ギンボなどをその宿主と推定して感染実験を行なったが目的の成虫は得ることができなかった。

*Proctoeces* 属の最終宿主については山口<sup>2)</sup> および Stunkard ら<sup>3)</sup> は鋭い歯、硬い歯をもち、底棲性の軟体動物を捕食するタイ、ベラ類であるとしている。しかしながら、自然海域においては、比較的大形のアコヤガイがこれらの魚類に捕食される機会はきわめて少ない。そこで、著者らはアコヤガイのほかにも第2中間宿主となり得るものがあるのではないかとの考えのもとに、本虫の発生が多くみられる漁場においてこれを探索した結果、ほとんどの底棲二枚貝および巻貝にそれを見出すことができた（未発表）。このことから、自然海域における本虫の第2中間宿主は、これらの多くの貝類のうち比較的小形のものがその主体を占めていると推定し、その最終宿主としてこれらの貝類を捕食する魚類を想定し、クロダイ *mylio macrocephalus*, マダイ *Chrysophrys major* およびインダイ *Oplegnathus fasciatus* について本虫のメタセルカリアを投与して感染実験を実施した。

その結果、クロダイおよびマダイから目的の成虫を得ることができたので、ここに報告する。

\*Seiji Sakaguchi, Teruhiko Minami and Yutaka Yamamura. Studies on a trematode genus *Proctoeces* parasitic in Pearl oyster, *Pinctada fucta* - II. Experimental infection with the metacercaria to the final host. With English summary, p. 1946. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 15: 1939-1947.

†国立真珠研究所業績No.192. (国立真珠研究所報告 15: 1939-1947. 昭和45年5月)

## 材料および方法

クロダイを宿主とする感染実験は2回実施した。宿主は捕獲後、水温20°Cの循環浴過式のコンクリート池で、虫体の侵入のないように、本虫の感染の全くないカタクチイワシおよび凍結保存により虫体が生存していないことを確認した貝肉を与えて約1か月以上飼育したうえで実験に供した。メタセルカリアの投与に当っては、中島ら<sup>4)</sup>がハマチについての感染実験で行なった方法を準用した。あらかじめ一定数のメタルカリアを内径4mmのガラス管製のカテーテルの中へ入れておき、これをウレタンで麻酔した供試魚の胃へ挿入してピストン式に送り込んだ。メタセルカリアはアコヤガイの心房壁に吸着寄生していたものをそのまま心房の一部とともに摘出して使用した。

## 実験1.

宿主としたクロダイは三重県英虞湾立神浦地先で1969年10月6日に捕獲した15尾で、うち2尾は入手直後に、5尾は実験開始前に解剖し、消化管における本虫の感染の有無を観察した。クロダイの大きさは解剖時で体長20.0~21.7cm、重量180~240gであった。

使用したメタセルカリアは和歌山県田辺湾で1969年10月14日に採集し、英虞湾内へ搬入しておいた天然棲息貝(殻長6.2~7.1cm、重量50.6~68.0g)の心房壁から得たものである。1969年11月6日に供試魚にメタセルカリアをそれぞれ7~15尾あて投与した。宿主の心房壁における本虫の寄生率は82%(n=22)、1貝あたりの寄生数は1~6尾であった。各魚体には前以って記号を付けておき、それぞれについて虫体の投与数を記録した。実験魚は投与後3時間~6日の異なる間隔で解剖した。解剖に際しては胃と腸に分割、腸はさらに3等分し、それぞれの部位ごとに虫体を取り出し、直ちに30%アルコールで麻酔と前固定を行ない、さらにアルコール酢酸液(アルコール95cc 氷酢酸5cc)で固定した後に虫体の大きさを測定し、ついで、厚さ0.2mmのカバーガラスの細片を虫体の両端に置き、カバーガラスをもって虫体を静かに圧したうえで諸器官の大きさを計測した。本実験では解剖日はメタセルカリアの投与日から数えて、3時間、1日、3日、5日、7日、11日、15日および21日後にあたる。

## 実験2.

供試のクロダイは1969年11月24日に前回と同地点で捕獲した11尾で、うち4尾は実験開始前に解剖し、本虫による感染の有無を観察した。解剖時におけるクロダイの大きさは体長21.0~22.5cm、体重200~260gであった。使用したメタセルカリアは1969年12月10日に前回と同じ田辺湾で採集し、英虞湾内へ搬入しておいた天然棲息貝(殻長6.0~8.0cm、重量45.0~90.0g)の心房壁から得たものである。宿主の心房壁における本虫の寄生率は76%(n=25)、1貝あたりの虫体の寄生数は1~8尾であった。メタセルカリアの投与は1970年1月7日に前回と同様な方法で20尾あてそれぞれのクロダイの胃の中へ挿入した。

今回は経過日数にとまらぬ虫体の形態変化とくに生殖器官および成熟虫卵の形成過程と実験1で明らかになった経過日数にとまらぬ虫体の生存数の特徴的な減少を確認する目的で、1~2週間以降に重点をおいて解剖した。本実験での解剖日はメタセルカリアの投与日から数えて、7日、12日、14日、16日、19日および21日後にあたる。得られた虫体の処理ならびに観察方法は前回と同様である。

結 果

実験開始前に解剖した供試魚の消化管内には未同定の二生類の寄生がみられたものがあったが、本虫による感染は全く認められなかった。また、麻酔の回復にともなう供試魚の游泳状態などを観察したが、投与した虫体を吐出するものはみられなかった。

実験1では投与後3時間および1~6日間隔で8回、実験2では1週間以降2~5日間隔で6回、宿主を開腹し消化管における虫体を観察した。その結果を第1表に示した。虫体の寄生部位は、投与後間もない3時間後では胃に、1日目では腸の中央域に、3日経過以降では時折に腸の中央域に見出されるものもあるが、殆んどすべては肛門に近い後域に、腸内異物につつまれて腸壁に吸着寄生して発見された。また、宿主に捕食されてから

第1表 幼虫投与後の経過日数と得られた虫体の体長ならびに再捕率

実験 1.

投与日...1969年11月6日

経過日数		0	3時間	1日	3	5	7	11	15	21
事項										
投与した幼虫数		—	7	7	8	15	15	15	20	12
再捕した虫体	尾数	—	7	7	8	12	7	4	5	0
	再捕率%	—	100	100	100	80.0	46.7	26.7	25.0	0
	寄生部位	—	胃	腸中域	腸中域 ~後域	腸中域 ~後域	腸中域 ~後域	腸後域	腸後域	—
	体長 μ	平均 (n=30)	1400	1420	1460	1410	1360	1340	1360	1360
	標準偏差	250	235	260	123	119	119	62	84	—

実験 2.

投与日...1970年1月7日

経過日数		0	7日	12	14	16	19	21
事項								
投与した幼虫数		—	20	20	20	20	20	20
再捕した虫体	尾数	—	14	7	5	3	1	0
	再捕率%	—	70.0	35.0	25.0	15.0	5.0	0
	寄生部位	—	腸中域 ~後域	腸中域 ~後域	腸後域	腸後域	腸後域	—
	体長 μ	平均 (n=20)	1480	1400	1410	1410	1400	1470
	標準偏差	190	179	250	171	87	—	—

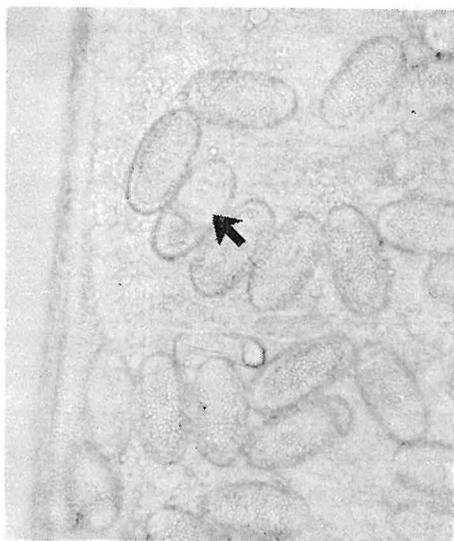
1日経過後までの虫体は排泄嚢に排泄顆粒が蓄積された状態でみられたが、3日後になると排泄顆粒はわずかに消失される傾向を示し、5日経過以降では殆んどみられなくなった。

宿主体内で7日を経過した虫体には、体の後方末端付近に子宮の発達が明らかになり、未熟卵の産出がみられる。14日経過すると盛んに活動するミラキジウムを含む虫卵が急激

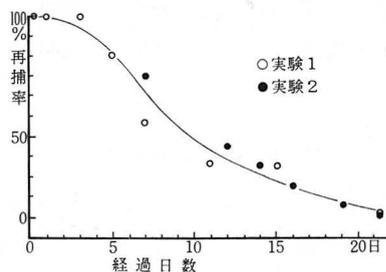
第2表 経過日数にともなう虫体の形態変化

経過日数		貝から得たメ タセルカリア (n=20)	7日目 (n=14)	14日目 (n=5)	19日目 (n=1)
部位	長*	1.47mm	1.40mm	1.41mm	1.47mm
	巾*	0.41	0.42	0.46	0.42
体	長	1.78	1.96	1.90	2.00
体	巾	0.65	0.66	0.65	0.63
口	吸盤 L.	0.26	0.21	0.26	0.26
	〃 W.	0.25	0.22	0.25	0.28
咽	頭 L.	0.13	0.14	0.15	0.15
	〃 W.	0.16	0.12	0.13	0.18
腹	吸盤 L.	0.32	0.29	0.30	0.29
	〃 W.	0.37	0.34	0.35	0.38
陰	茎囊 L.	0.40	0.32	0.47	0.48
	〃 W.	0.12	0.14	0.17	0.15
卵	巢	0.19	0.16	0.20	0.20
前	精巢	0.21	0.20	0.21	0.22
	精巢	0.23	0.23	0.24	0.23
後	L.	—	0.045	0.051	0.061
	〃 W.	—	0.018	0.021	0.030

\*麻醉・固定（未圧扁）の状態での測定



第1図、虫体の子宮内にみられる卵盛んに活動するミラキジウムを含む（矢印）

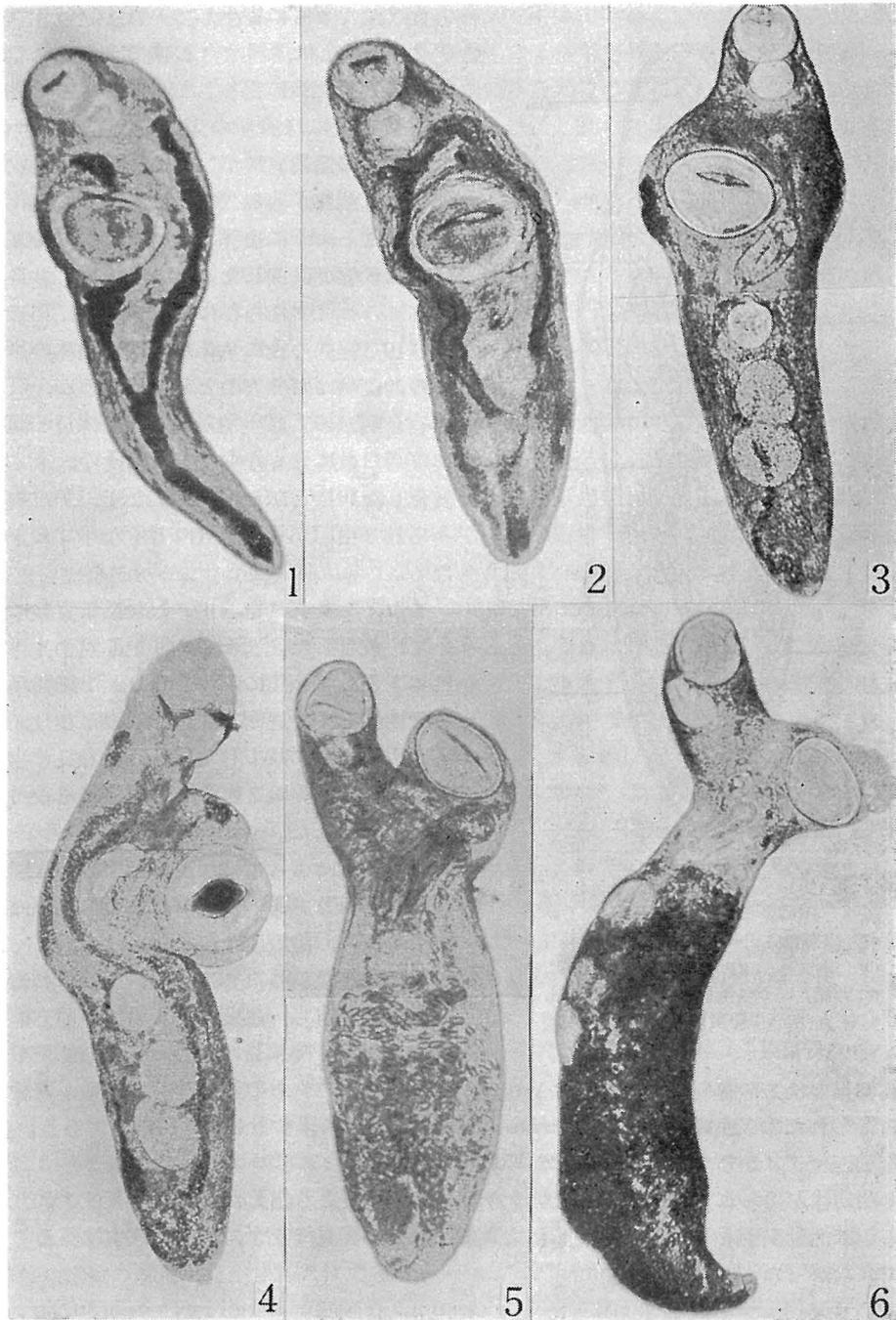


第2図、感染後の経過日数にともない採取された虫体の再捕率

に発達し（第1図），虫体を軽く圧すると生殖孔からそれらが突出するものがある。

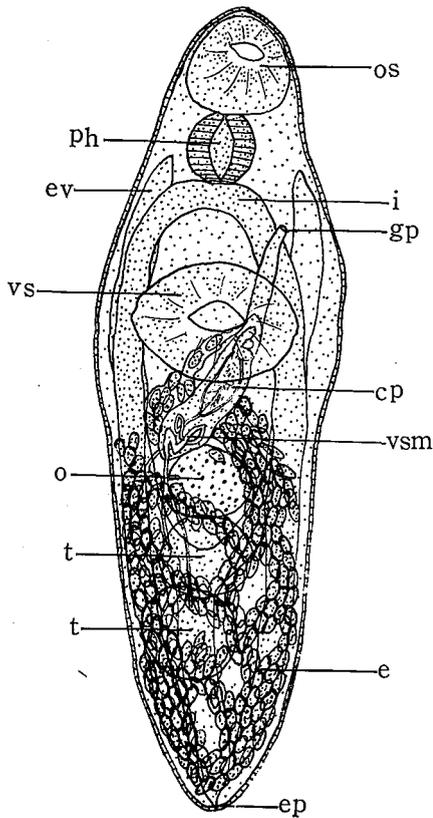
アコヤガイの心房壁に寄生していたメタセルカリアの抽出標本での大きさは実験1においては体長 $1400\mu \pm 250\mu$ ，体巾 $390\mu \pm 50\mu$ （ $n=30$ ），実験2では体長 $1480\mu \pm 190\mu$ ，体巾 $410\mu \pm 66\mu$ （ $n=20$ ）であった。経過日数に

ともない再捕した虫体を麻醉し，固定した後に測定した体長は第1表に示したとおりであ



第3図，感染実験によって得た虫体

1. アコヤガイから得た投与前の虫体    2. 投与後3日目に供試魚から得た虫体  
3. 投与後7日目    4. 投与後11日目    5. 投与後15日目    6. 投与後19日目



第4図、感染実験により供試魚から得た吸虫の形態

cp: 陰莖囊, e: 卵, ep: 排泄口,  
 ev: 排泄囊, gp: 生殖口, j: 腸管,  
 o: 卵巢, os: 前吸盤, ph: 咽頭,  
 t: 睾丸, v: 卵黄腺, vs: 腹吸盤,  
 vsm: 貯精囊

精巢は卵巢の後方に存在し、排泄囊はY型を呈している。これらの形態的特徴から、実験魚から得られた本吸虫は *Fellodistomatidae* の *Proctoeces* に属することは明らかである。

なお、マダイからも7日後の虫体を得られた。インダイについては、投与後2~3日目までは幼体を得られたが、それらはアコヤガイから直接とり出したメタセルカリアよりもはるかに活動が弱々しく、また、それ以降では虫体は発見できず、目的の成虫は得ることができなかった。

## 考 察

供試魚は1か月以上、吸虫の感染のない餌で飼育されているので、その間は虫体の侵入

り、アコヤガイに寄生していたメタセルカリアと宿主としたクロダイの中でそれぞれの期間を経過した後得られた虫体群との体長の平均値の間には有意の差が認められなかった。虫体の諸器官については、麻醉・固定のままでは観察が容易でないので、0.2mmの厚さになるように虫体をカバーガラスで軽く圧した状態で計測した。アコヤガイから得たメタセルカリアならびに投与後7日、15日および19日経過の後に魚体から得た虫体の諸器官の計測値は第2表のとおりであるが、吸着器官、咽頭および生殖器官なども体長と同様に経過日数にともなってとくにその大きさは変化しないことがわかった。ただ、子宮内にみられる虫卵が経過日数にともなって大きくなる。

また、クロダイを宿主とした感染実験において、投与したメタセルカリアに対する再捕は第1表、第2図に示すとおり、1週間経過後で約60%、2週間で20率%前後となり、1週間以降急激に減少している。最も長く生き残ったものは実験2における19日経過後のもの1尾であった。

感染実験によって得た虫体は第3、4図に示したとおりである。いずれの虫体も体は円筒状であり、腹吸盤は口吸盤よりも大きく、陰莖囊は腹吸盤の後方に達し、その中に管状の貯精囊を有し、生殖孔は腹吸盤の前方に開口している。受精囊は認められず、2個の精

経路は全く途絶えており、しかも、実験前の解剖でも本虫は全く認められなかったことから、他の供試魚にも自然感染の虫体はなかったものと推考された。にもかかわらず、感染実験の結果、経過日数にもなって、排泄嚢内の排泄顆粒の蓄積状態および虫卵の發育状態の異なる段階の虫体が供試魚から得られたことは、これらは投与したメタセルカリアに由来するものであることは間違いないと判断される。

前報<sup>1)</sup>ではアコヤガイから得たメタセルカリアを *Proctoeces* 属の既報種と比較し、“本虫は *Proctoeces maculatus* に最も近縁種であるが、成虫を得たうえで種名を決定したい”とした。本実験ではその目的の成虫が得られ、その形態、とくに生殖器官を詳細に観察した結果、魚から得られた虫体の卵巣はすべて円形ないし円形に近い西洋梨形であり、三葉形のもの認められないなど、本虫の *P. maculatus* との類縁関係が一層深められた。

*Proctoeces* 属の吸虫は一般に progenesis を起し易いものとして興味が持たれており、Freeman & Llewellyn<sup>6)</sup> は二枚貝の一種 *Scrobicularia plana* から *P. subtenius* の成虫を得ており、Uzmann<sup>7)</sup> はイガイから microcercous セルカリアを記載し、さらにこの種に由来する非被嚢形成の pro-genetic 幼生を同一宿主内に発見している。さらに Stunkard & Uzmann<sup>8)</sup> はイガイにおいて、スポロシストから成虫に至る各發育段階の *P. subtenius* の虫体を得ている。わが国では市原<sup>9)</sup> がサザエから *Proctoeces* sp. の成虫を同様に見出している。このように *Proctoeces* 属の吸虫にはその生活史を省略する傾向がある。著者らも本虫の多く発生する海域で、アコヤガイの他にも多くの底棲性の二枚貝および巻貝などから本メタセルカリアを見出したが、スポロシスト、セルカリアおよび軟体動物宿主内での成虫の発見の機会を得ていない。とくに、イガイについては、本メタセルカリアの寄生率が5.5% (n=36) で発見されたが、Stunkard ら<sup>8)</sup> が観察したような pre-metacercaria stage および成虫は見出すことができなかった。Freeman<sup>6)</sup> は二枚貝 *Scrobicularia plana* の腎臓から得た *P. subtenius* の成虫をベラ科の *Ctenolabrus rupestris* と *Crenilabrus melope* の二種の魚に捕食させ、2~3日後で約20%、5日後で約5%、最も長く生き残った12~15日後の2% (n=250) の虫体を供試魚から再捕している。本実験においても同様に、再捕率は特徴的な減少を示してはいるが、2~3日後では100%、5日後では約80%を示し、上記 Freeman の感染実験とくらべると、かなり高率で虫体は再捕されている。しかし、クロダイを宿主とした本実験でも最も長く生き残ったものは19日後での1個体 (n=20) だけであり、本種の成虫の生存期間にも限りがあるように考えられた。この限度は、クロダイが最終宿主として不適当な魚種であることに由来するのかわ、また、本種の成虫としての寿命を意味するものであるかは現在のところ明らかではないが、短期間しか生存できないことが、自然海域でのクロダイにおける本成虫の寿命とすると、自然感染虫体の発見はかなり少ないものとなるだろう。著者らは1969年10月中旬から12月初旬にかけて、本虫が多くみられる田辺湾奥部の海域で採取したクロダイ7尾の消化管内を観察したが自然感染の本虫を見出すことはできなかった。Freeman<sup>6)</sup> は *Proctoeces subtenius* について“Manter は Florida で29尾の *Calamms* などの4尾から6虫体を、Manter & Pritchard は Hawaii で49尾から2尾に4虫体を見出しているに過ぎず、その発見の機会は少ない”と述べている。本実験から推考される本虫もこの傾向が明らかにみられるが、本

種は宿主となり得ない魚の中でも2~3日間は見出されるが活力が弱々しく、その後は生残し得ないこと、クロダイでの本種の虫卵の発育はきわめて短期間のうちに進むこと、などから考えるとクロダイは明らかに最終宿主となり得る魚種の一つであると判断される。今後は、天然棲息のクロダイにおける自然感染成虫の発見につとめ、さらに検討したうえで本虫の種名を明らかにしたいと考えている。

稿を終るにあたり、終始御指導を賜わった東京水産大学保科利一教授ならびに目黒寄生虫館市原醇郎氏に深謝する。また、試験の実施にさいして適切な御助言をいただいた和歌山県水産増殖試験場宮本善雄場長ならびに試料の採取にあたって一方ならない御協力をいただいた田辺湾真珠生産組合中島正吉氏に心から感謝の意を表する。

## 要 約

アコヤガイから得た *Proctoeces* 属のメタセルカリアを、最終宿主と推定したクロダイに投与して感染実験を行なった。感染後1~21日の間に供試魚を解剖し、その消化管内の虫体を調査した。

1. 投与したメタセルカリアに由来する成虫が実験魚から得られた。
2. メタセルカリアはしばらく宿主の胃の中に留った後に腸の中域へ移行する。そして、3日後にはほとんどの虫体が腸の後域の壁に吸着して発見された。感染7日後に、体の後方末端域に子宮が明らかに識別されるようになり、約2週間後には活動するミラキジウムを含む成熟卵が子宮内に現われる。19日経過後の子宮内の卵は、最大のもので  $61\mu \times 30\mu$  の卵形であった。
3. 軟体動物からの虫体と実験魚から得た虫体の間には、体長、吸着器官、生殖器官などの大きさに差はみられなかった。
4. 本実験で、クロダイから得られた虫体の再捕数は時間経過にともなって特徴的な減少を示した。本虫のクロダイでの生存期間は比較的短かいようである。

## Summary

The black porgy, *Mylio macrocephalus*, expected as the final host of the trematoda were experimentally fed with the metacercariae belonging to the genus *Proctoeces* collected from pearl oyster, *Pinctada fucata*. The fishes were killed 1~21 days after infection and the parasite population in their alimentary canals were examined.

The results obtained are summarized as follows:

- 1) The adult flukes grown from the metacercaria were obtained from the experimental fishes.
- 2) The metacercariae brought into the stomach of the host fish migrated to the mid-gut after they spent in a short time in the stomach and most of them were found attaching to the wall of the hind-gut within 3 days.

The uterus of the juvenile flukes became to be discernible on the posterior part

of body in 7 days after infection and the mature eggs containing active miracidia began to appear in the uterus after about 2 weeks. Uterin eggs were measured  $61 \mu \times 31 \mu$  in maximum in 19 days after infection.

3) No significant differences were found in average size of body length, adhesive and genital organs of flukes from mollusc and that from experimental fishes.

4) The number of parasites recovered from the host fish under experimental condition decreased characteristically in the numbers with the lapse of time, namely their natural duration of life were comparatively short.

#### 参 考 文 献

- 1) 阪口清次・保科利一・見奈美輝彦1970. アコヤガイに寄生する *Proctoeces* 属の吸虫に関する研究 1. 宿主における寄生部位と分布ならびにその形態. 国立真珠研報15:1931—1938.
- 2) Yamaguti, S. 1938. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 21. Trematodes of Fishes IV. Published by Author: 102—103.
- 3) Stunkard, H. W. & Uzmann, J. R. 1959. The life cycle of the digenetic trematode, *Proctoeces maculatus* (Loos, 1901) Odhner, 1911 (Syn. *P. subtenuis* (Linton 1907) Hanson, 1950, and description of *Cercaria adranocerca* n. sp., Biol. Bull. 116: 184—193.
- 4) 中島健次・江草周三 1999. 養殖ハマチに寄生する囊虫に関する研究—V. ハマチの成長に及ぼす影響について. 魚病研究 4 (1) : 1—5.
- 5) Yamaguti, S. 1934. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 2. trematodes of fishes. Jap. J. Zool. 5: 249—541.
- 6) Freeman, R. F. H. & Llewellyn J., 1958. An adult digenetic trematode from an invertebrate host: *Proctoeces subtenuis* (Linton) from the lamellibranch *Scrobicularia plana* (dacosta). J. mar. biol. Ass. U. K. 37: 435—457.
- 7) Uzmann, J. R., 1953. *Cercaria milfordensis* nov. sp., a microcercous trematode larva from the marine bivalve, *Mytilus edulis* L. with special reference to its effect on the host. J. Parasit. 39: 445—451.
- 8) 市原醇郎 1965. サザエ *Turbo (Battillis) cornutus* Solander より得たる吸虫 (*Proctoeces* 属) について. 寄生虫学雑誌 14 (5) : 426—436.
- 9) Freeman, R. F. H. 1962. Experimental infection of two species of Wrasse with the digenean *Proctoeces subtenuis*. J. mar. Biol. Ass. U. K. 43: 112—123.

昭和45年5月10日印刷  
昭和45年5月15日発行

三重県志摩郡阿児町賢島

発行所 **国立真珠研究所**

発行者 林 知 夫  
印刷者 山 形 健 雄

大阪市東住吉区桑津町4-58

印刷所 アテネ出版印刷株式会社

# Bulletin of the National Pearl Research Laboratory

15

May 1970



## CONTENTS

- Uemoto, H. Relationship between the physiological indicator and the growth of the pearl oyster, *Pinctada fucata* .....1863
- Kuwatani, Y., Nishii, T. and Wada, K. T. Effect of ammonia concentration on physiological conditions of Japanese pearl oyster .....1874
- Hasuo, M., Yamaguchi, K. and Funakoshi, S. Studies on the various works followed to the nuclear insertion operation.  
I. Physiological studies on so-called "Kaitate" .....1900
- Hasuo, M., Yamaguchi, K. and Funakoshi, S. Studies on the various works followed to the nuclear insertion operation.  
II. Physiological studies on so-called "Sensashi".....1913
- Hasuo, M., Yamaguchi, K. and Funakoshi, S. Studies on the various works followed to the nuclear insertion operation.  
III. On the influence of exposure to the air .....1922
- Sakaguchi, S., Hoshina, T. and Minami, T. Studies on a trematode genus *Proctoeces* parasitic in pearl oyster, *Pinctada fucata*-I. On the morphology, parasitic status and the distribution of pearl oyster infected with parasite .....1931
- Sakaguchi, S., Minami, T. and Yamamura, Y. Studies on a trematode genus *Proctoeces* parasitic in pearl oyster, *Pinctada fucata*-II. Experimental infection with the metacercaria to the final host ...1939

---

National Pearl Research  
Laboratory  
Kashikojima, Ago-cho, Shima-gun  
Mie Prefecture, Japan