

# 耳吊りホタテガイの春季へい死原因について

小坂 善信・相坂 幸二・宝多 森夫\*

## 1. 目 的

平成6年3月中旬から4月上旬にかけて耳吊り養殖貝が貝殻から鰓を露出してへい死するとの声が漁業者からあり、さらには、春季ホタテガイ実態調査の結果では平成6年の1年貝のへい死率は例年になく高かったことが報告されている（別項参照）。このため、この異常なへい死原因について究明するために病理組織学的に観察を行った。

## 2. 材料及び方法

材料は平内町東田沢沖で耳吊り養殖されていたもので、貝殻から鰓を出して生存していた平成5年産貝（1年貝）を用いた。試料は採取後直ちに麻酔（1/3000の2-フェノキシエタノール）をかけて貝殻を開かせて、損傷を与えないように慎重にメスで軟体部を貝殻から剥離し、ブアン氏液で固定した。固定した後に各部位を切り取り、アルコール脱水を行い、通常のパラフィン法により厚さ7 $\mu$ mの切片標本とした。染色はマイヤーのヘマトキシリン・エオシンの二重染色を行った。

走査電子顕微鏡観察には組織切片と同様に耳吊り養殖された平成5年産貝を用いて、軟体部を貝殻から剥離したのち、1%グルタルアルデヒド、1%ホルムアルデヒド混合溶液に一中夜固定した。固定したのちに各部位を切り取り、50%から100%ブチルアルコールで徐々に脱水し、凍結乾燥したのちに300Åの厚さの金を蒸着して、走査電子顕微鏡（日本電子）で観察した。

## 3. 結果及び考察

### (1) 外 観 的 観 察

- 1) 異常な貝は、鰓と貝柱を結合している鰓軸(Gill axis)が後方側から一部貝柱から剥離しているため、水中では剥離した部分の鰓が貝殻から露出していた(写真1)。また、中腸腺及び鰓での退色が観察された。貝殻の縁辺部は物理的に欠けた痕跡が見られ、さらに、これまで言われていた異常貝のような貝殻の一部欠損及び貝殻内部への着色は観察されなかったが、広範な部分で貝殻内部の縁辺部に一端形成された殻質層(Ostracum)の上に殻皮層(Periostracum)が形成されているのが観察された(写真2)。

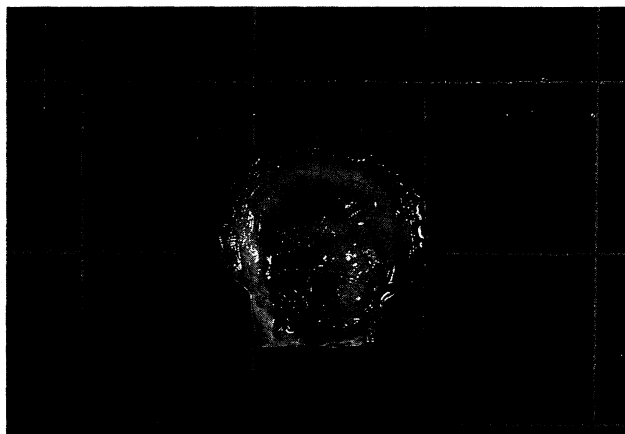


写真1 異常貝の内部形態  
鰓が鰓軸から剥離している。

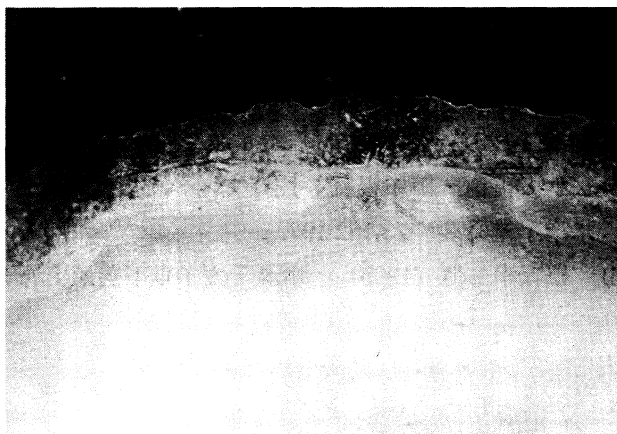


写真2 異常貝の貝殻縁辺部  
殻質層の上に褐色の殻皮層が形成されている。

\*青森地方水産業改良普及所

## (2) 組織観察

組織観察では細菌及び寄生虫は全く観察されず、次に掲げる部位以外では異常は観察されなかった。

### 1) 鰓及び鰓軸

正常な貝の鰓軸は上皮細胞直下に筋繊維が縦断し、その間を結合組織が占めているが、異常な貝の鰓軸は剥離部分の細胞が壊死し、結合組織が疎になっているかわりに筋繊維が多数観察された(写真3)。正常な鰓の一次鰓弁(Principle filaments)は呼吸に参与する波板状の結合血管(Interconnecting vessel)が入鰓弁血管(Afferent vessel)と出鰓弁血管(Efferent vessel)とを結んでいて、その表面は多数の繊毛が存在する。異常な貝の鰓は入鰓弁血管に穴が開いて出血し、その部分に血球が凝集しているのが観察された。また、入鰓弁血管、出鰓弁血管及び結合血管が癒着している個体も観察された(写真4、5)。さらに、餌の捕食に重要な役割を果たす二次鰓弁(Ordinary filaments)の表皮には多数の繊毛が存在するが、異常な貝はこの繊毛上皮細胞が壊死して脱落し、その周辺には多数の粘液ボール(Mucus ball)が観察された。また、表皮が削り取られた形跡があり、その部分の二次鰓弁が数本癒着している個体も観察された(写真6、7、8)。

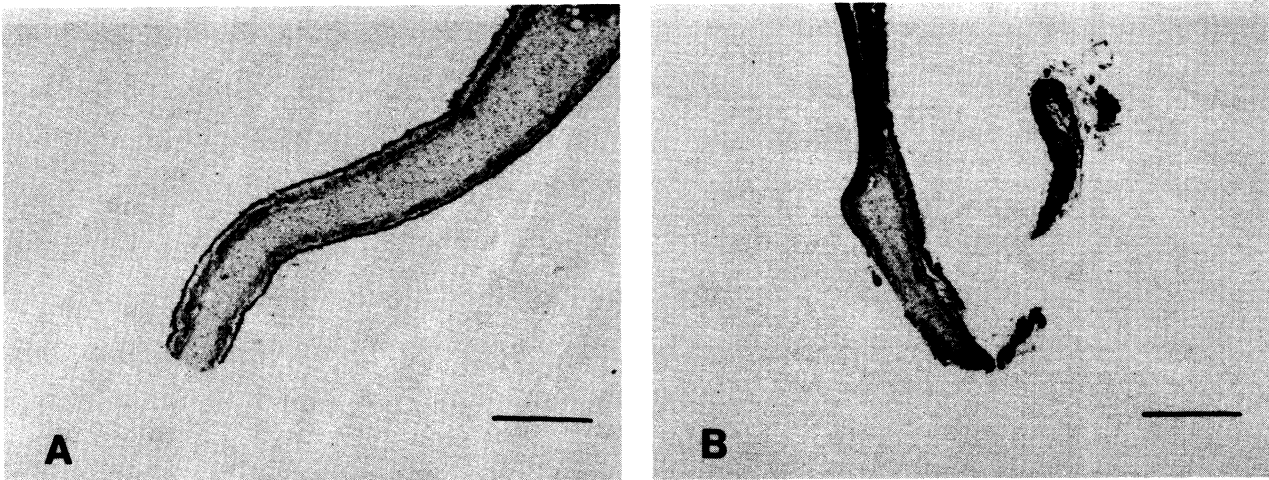


写真3 鰓軸の顕微鏡写真 A: 正常な鰓軸 上皮細胞の直下を平行に筋繊維が走り、その間は結合組織が占めている。スケールバー=250  $\mu$ m B: 異常な鰓軸 貝柱から剥離した部分の上皮細胞は脱落し、部分的に結合組織がなくなり、筋繊維だけになっている。スケールバー=250  $\mu$ m

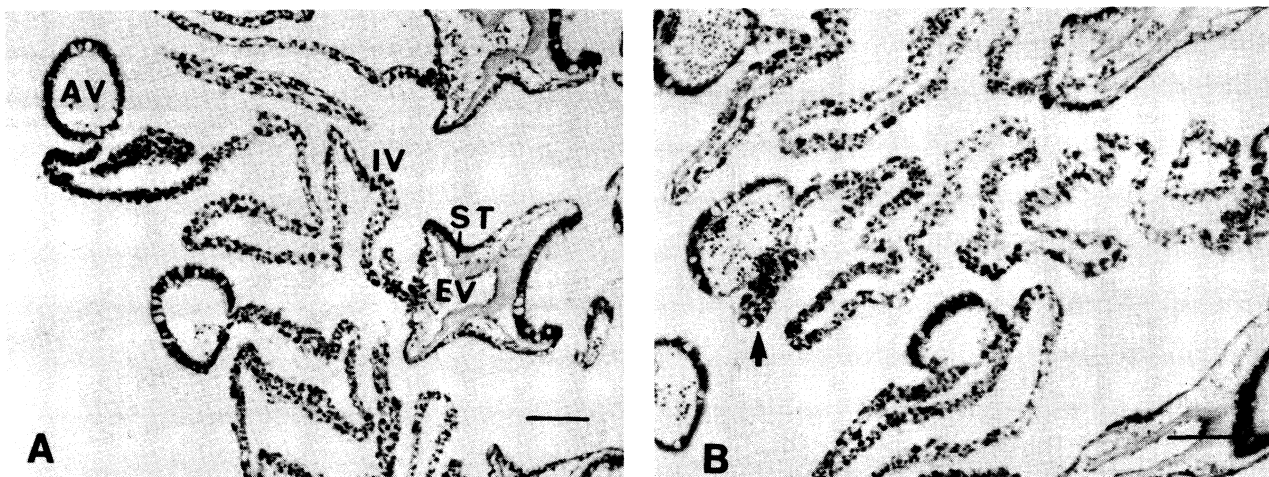


写真4 一次鰓弁の顕微鏡写真 A: 正常な一次鰓弁 円形の入鰓弁血管(AV)は出鰓弁血管(ST)と結合血管(IV)で結ばれている。スケールバー=100  $\mu$ m B: 異常な一次鰓弁 入鰓弁血管の一部に穴が開き、血球が凝集している(矢印)。スケールバー=100  $\mu$ m

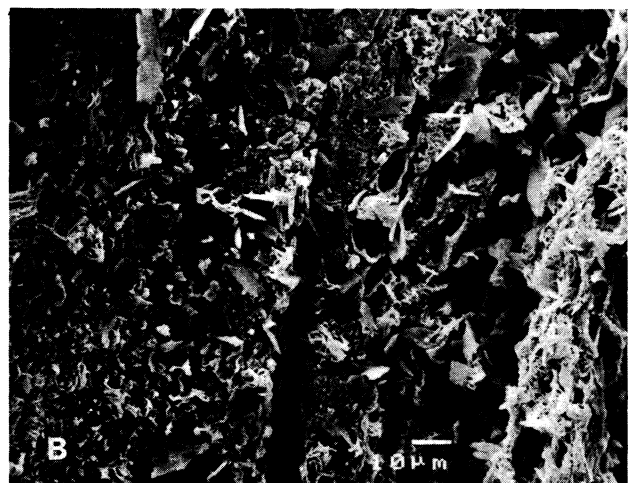
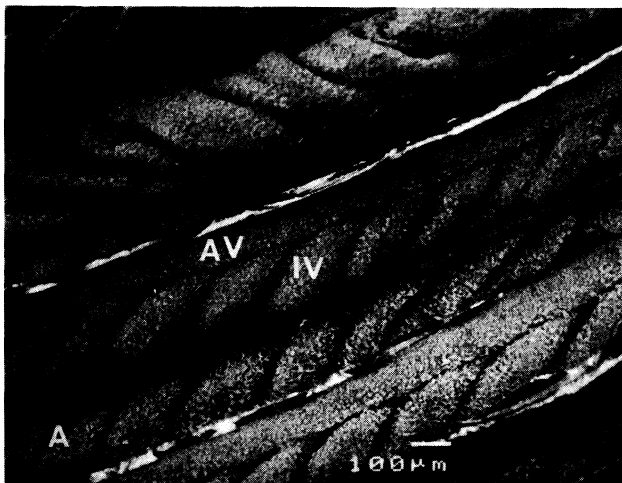


写真5 一次鰓弁の電子顕微鏡写真 A：正常な一次鰓弁 入鰓弁血管と出鰓弁血管を波板状の結合血管が結び、その表面には多数の繊毛が存在する。スケールバー=100 μm B：異常な一次鰓弁 入鰓弁血管の表皮がなくなり、穴が開いている。スケールバー=10 μm

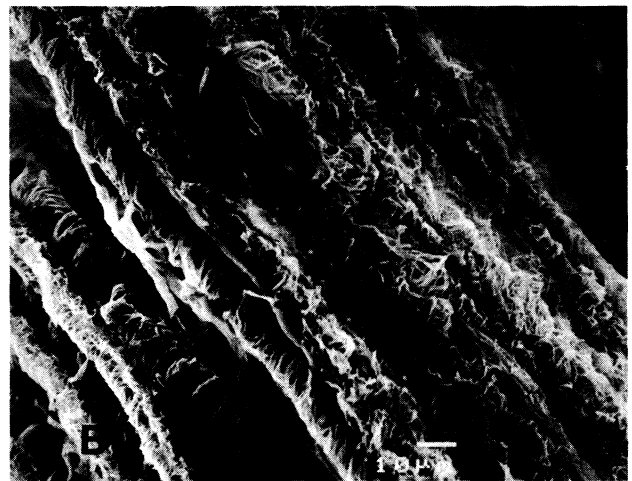
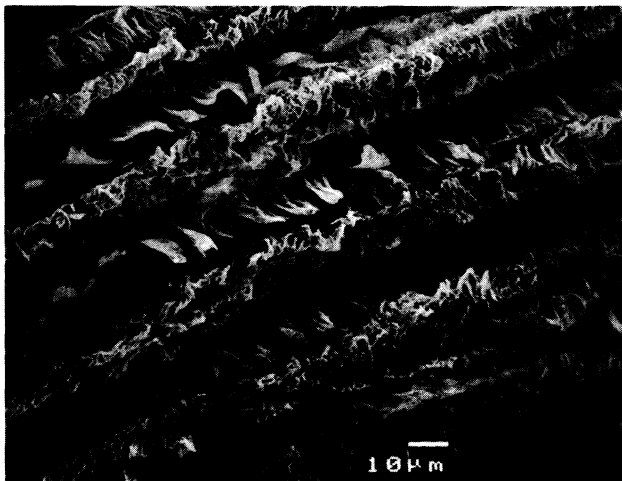


写真6 二次鰓弁の電子顕微鏡写真 A：正常な二次鰓弁 表面に多数の繊毛が存在する。スケールバー=100 μm B：異常な二次鰓弁 一部がかき取られた形跡があり、表面の繊毛が脱落し、数本の二次鰓弁が癒着している。スケールバー=100 μm

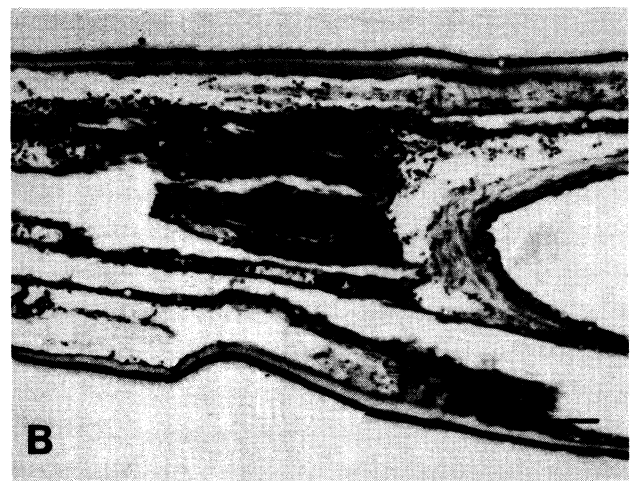
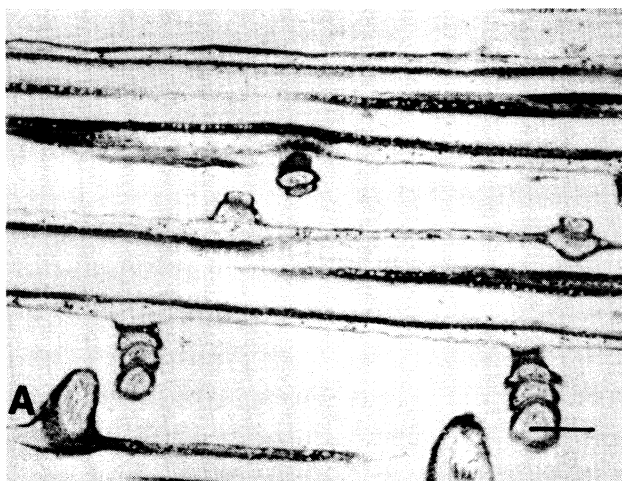


写真7 二次鰓弁の顕微鏡写真 A：正常な二次鰓弁 一本一本が細管になっている。スケールバー=100 μm B：異常な二次鰓弁 数本の二次鰓弁が癒着し、多数の血球が凝集している。スケールバー=100 μm

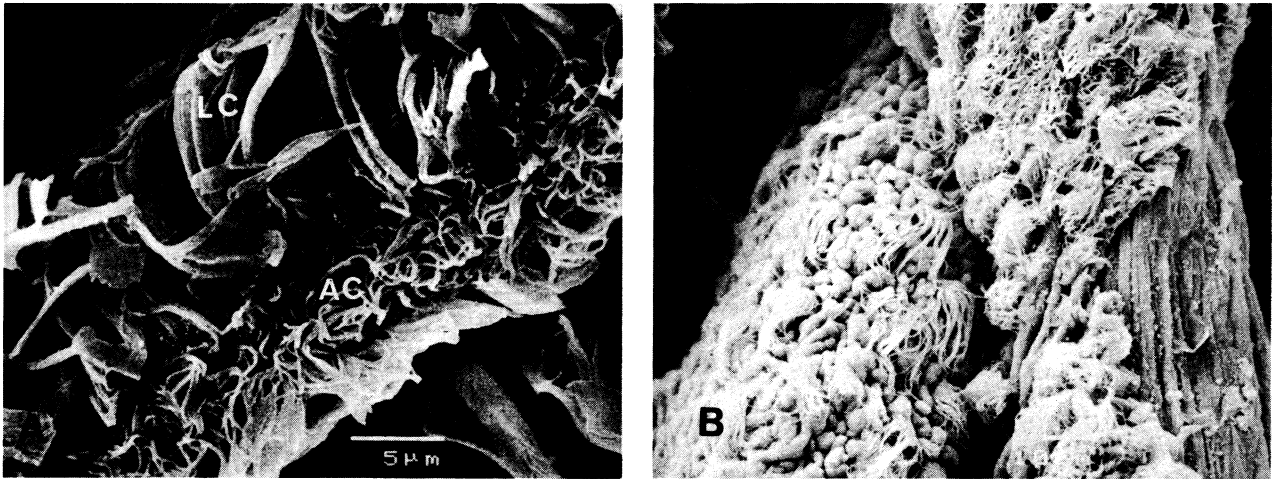


写真8 二次鰓弁の電子顕微鏡写真 A: 正常な二次鰓弁 表面には前繊毛 (AC) と一列に並んだ側繊毛 (LC) が存在する。スケールバー=5 μm B: 異常な二次鰓弁 繊毛上皮細胞が脱落して固有層が露出し、多数の粘液ボールが見られる。スケールバー=10 μm

## 2) 外 套 膜

外套膜縁 (Mantle edge) はその先端が内褶 (Inner fold)、中褶 (Middle fold)、外褶 (Outer fold) からなり、内褶は外套膜に出入りする水量調整等を行うが、組織学的には上皮細胞の直下を放射縁膜筋 (Radial velum muscle) が走っているが、大部分はこれと垂直に環縁膜筋 (Conncentric velum muscle) が占めている。中褶は触手、目などの感覚器官で、主に結合組織で占められているが、中心部には神経繊維が走っている。外褶は主に貝殻を形成する役割を果たすが、その上皮細胞は円柱上皮細胞で塩基性色素に濃染する細胞と酸性色素に濃染する腺細胞が存在する。上皮細胞の直下には放射外套筋 (Radial pallial muscle) が走り、その間を結合組織が占めている。また、中褶、外褶の間の殻皮溝 (Periostracal groove) 内には殻皮を形成する殻皮腺 (Periostracal gland) が存在する。異常な貝の外套膜は全体的に萎縮して、結合組織が疎になり、筋繊維が多数観察された (写真9)。内褶の外表面及び外褶の外表面上皮細胞は一部脱落、剥離して、固有層が露出していた。また、外褶では脱落、剥離した上皮細胞付近には多数の血球の凝集が見られた (写真10、11)。走査電子顕微鏡で観察すると、これらの部位に穴が開いているのが観察された (写真12、13)。さらに、目の角膜の一部欠損及び触手の切断が観察された (写真14、15)。

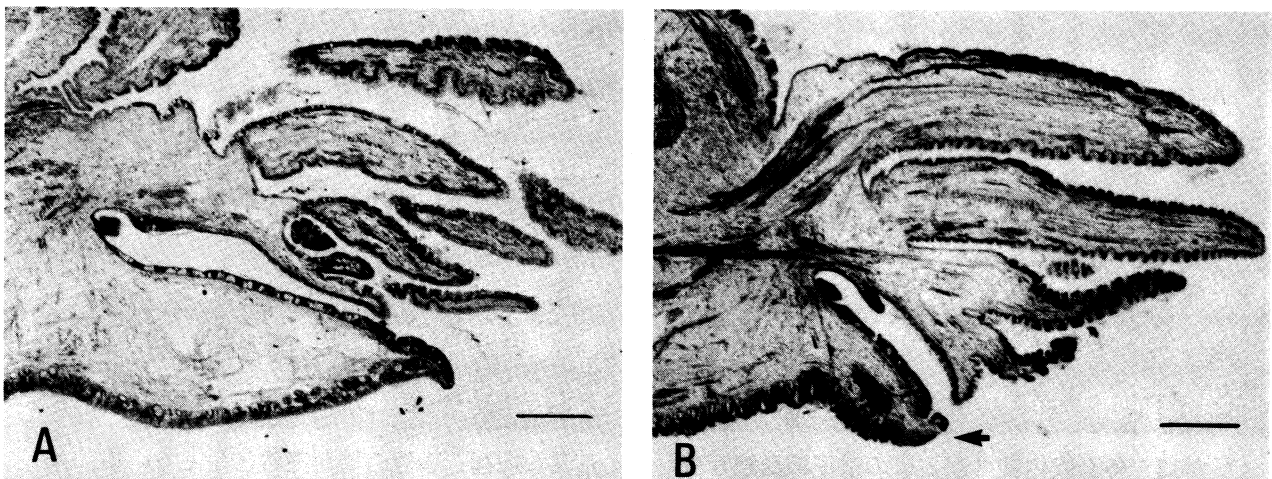


写真9 外套膜縁の顕微鏡写真 A: 正常な外套膜縁 スケールバー=200 μm B: 異常な外套膜縁 結合組織が疎になり、筋繊維が増加し、外褶の先端(矢印)が萎縮している。スケールバー=200 μm



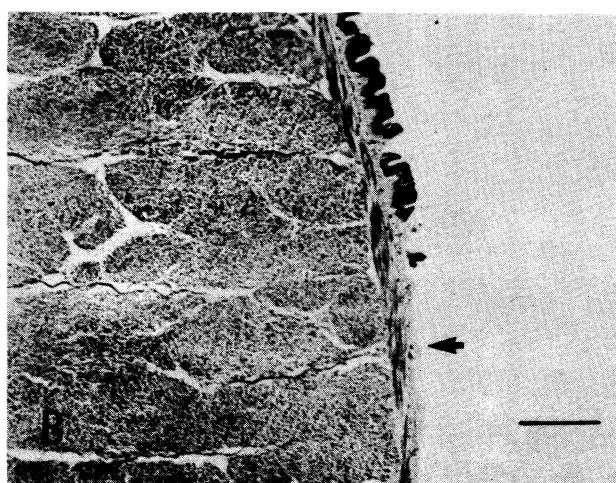


写真10 外套膜内褶の顕微鏡写真 A：正常な内褶 スケールバー=100  $\mu$  m B：異常な内褶 表皮細胞が脱落している（矢印）。スケールバー=100  $\mu$  m

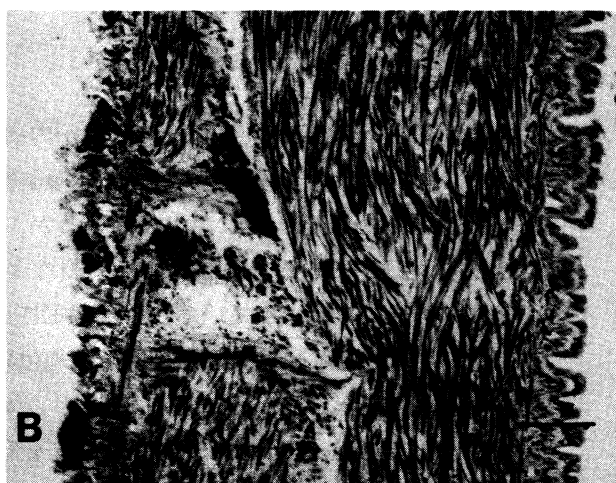


写真11 外套膜外褶の顕微鏡写真 A：正常な外褶 腺細胞が存在する上皮細胞とその下に放射外套筋が走り、その間を結合組織が結んでいる。スケールバー=200  $\mu$  m B：異常な外褶 表皮細胞が脱落し、結合組織が疎になり、血球の凝集が見られる。スケールバー=200  $\mu$  m

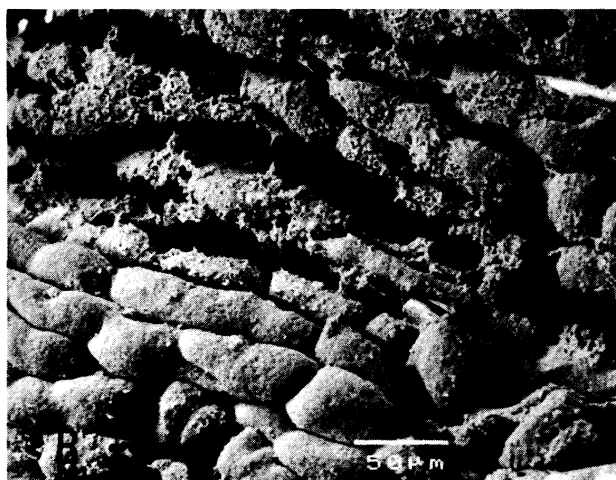
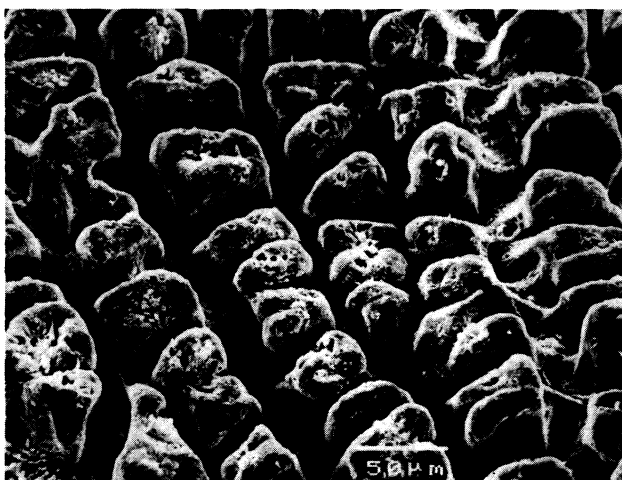


写真12 外套膜内褶外面表皮の電子顕微鏡写真 A：正常な内褶 多数の褶が整然と並んでいる。スケールバー=50  $\mu$  m B：異常な内褶 褶の一部が崩れて、穴が開いている。スケールバー=50  $\mu$  m

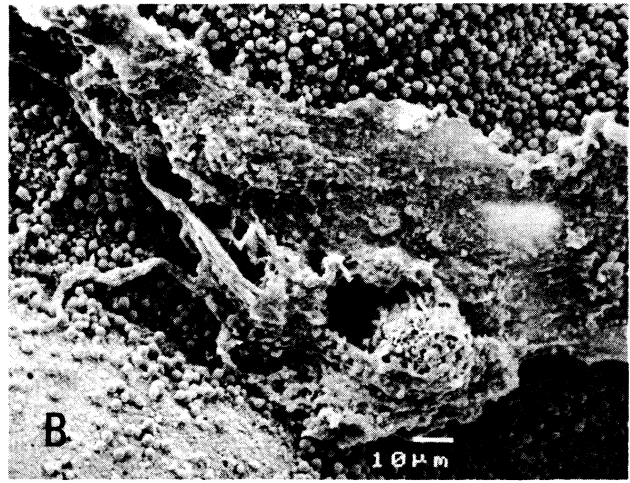
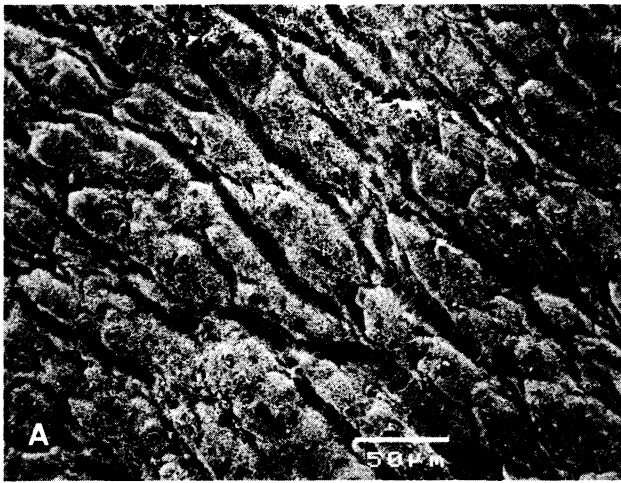


写真13 外套膜外褶外面表皮の電子顕微鏡写真 A：正常な外褶 表面には多数の微柔毛が存在する。スケールバー=50 μm B：異常な外褶 部分的に穴が開き、その周辺には多数の粘液ボールが存在し、穴からは体液様物質が浸潤してきている。スケールバー=10 μm

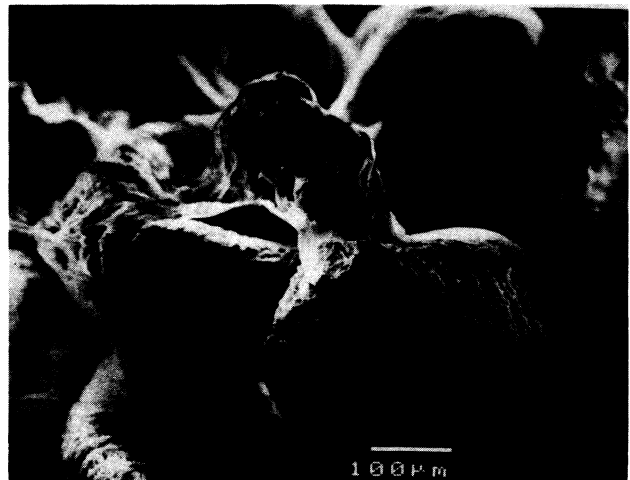


写真14 触手の電子顕微鏡写真 A：正常な触手 スケールバー=100 μm B：異常な触手 先端が切断され、脱落しかかっている。スケールバー=100 μm

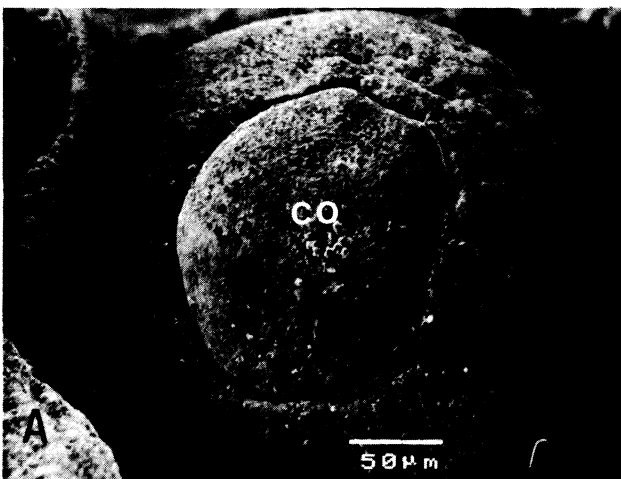


写真15 目の電子顕微鏡写真 A：正常な目 スケールバー=50 μm B：異常な目 角膜（CO）の一部に穴が開いている。スケールバー=50 μm

### 3) 内臓及び生殖巣

鰓及び外套膜の異常は全ての個体で共通して見られたが、一部の個体では内臓組織にも異常が観察された。胃は中腸腺内に存在し、腸は胃から生殖巣内をUターンして直腸に通じている。細胞の質は異なるが、胃、腸ともに内部は細長い円柱上皮細胞で覆われている。異常な貝はこの円柱上皮細胞の一部が基底膜から脱落し、壊死していた（写真16、17）。また、中腸腺内は多数の脂肪細胞、食細胞で占められているが、これらの細胞も基底膜から脱落し、壊死しているのが観察された（写真18）。さらに、腎臓内には多数の細管が存在するが、これら細管が多数消失していた（写真19）。しかし、へい死の見られた時期は産卵時期にあたるが、生殖巣内の卵細胞及び精細胞は正常に保たれていた（写真17）。

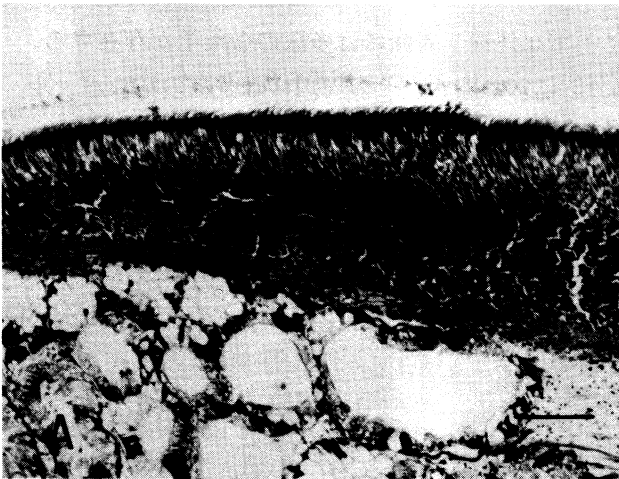


写真16 胃の顕微鏡写真 A：正常な胃 胃の内部は細長い円柱上皮細胞に囲まれている。スケールバー=100  $\mu$ m B：異常な胃 円柱上皮細胞が基底膜から剥離し、壊死している。スケールバー=100  $\mu$ m

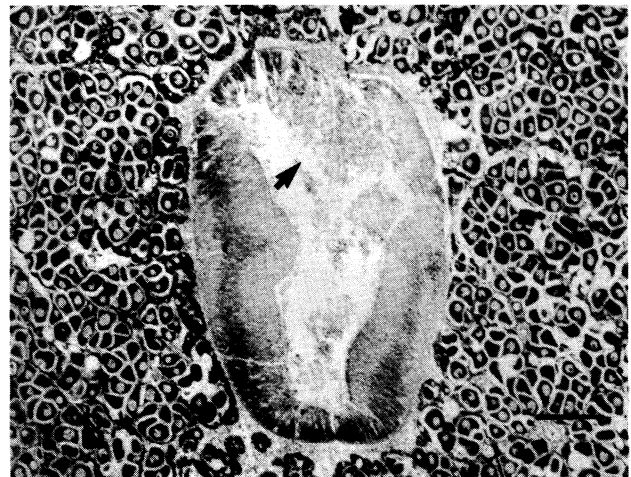
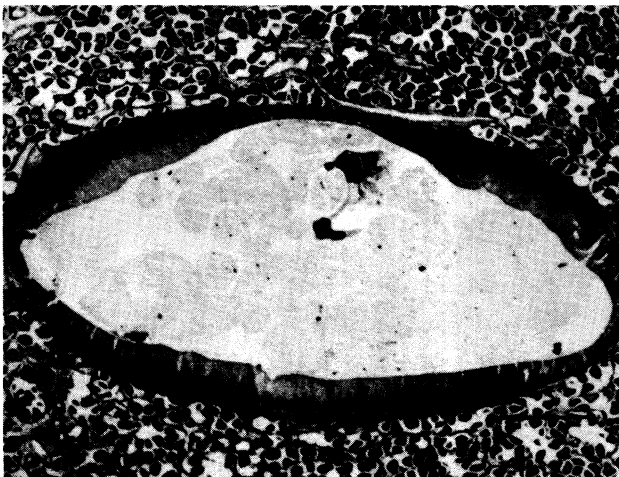


写真17 腸の顕微鏡写真 A：正常な腸 生殖巣内は胃と類似した円柱上皮細胞で囲まれている。スケールバー=200  $\mu$ m B：異常な胃 円柱上皮細胞が基底膜から剥離し、壊死している（矢印）。スケールバー=200  $\mu$ m



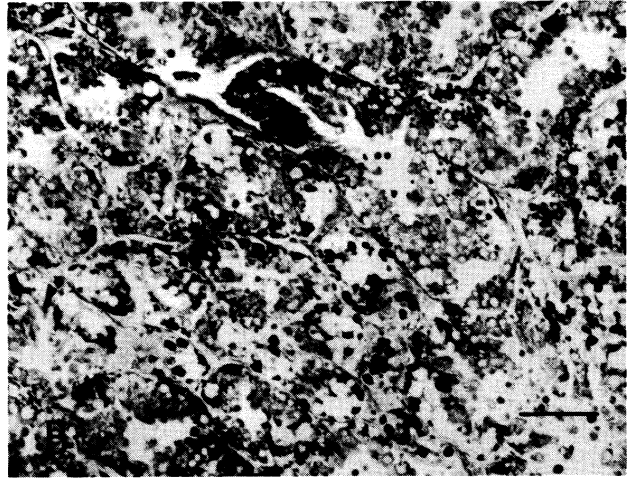
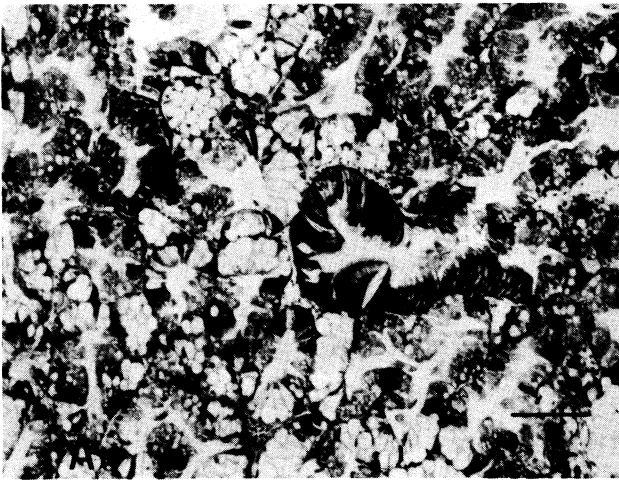


写真18 中腸腺の顕微鏡写真 A：正常な中腸腺 多数の脂肪細胞、食細胞で占められている。スケールバー=100  $\mu$  m B：異常な中腸腺 脂肪細胞、食細胞が基底膜から剥離し、壊死している。スケールバー=100  $\mu$  m

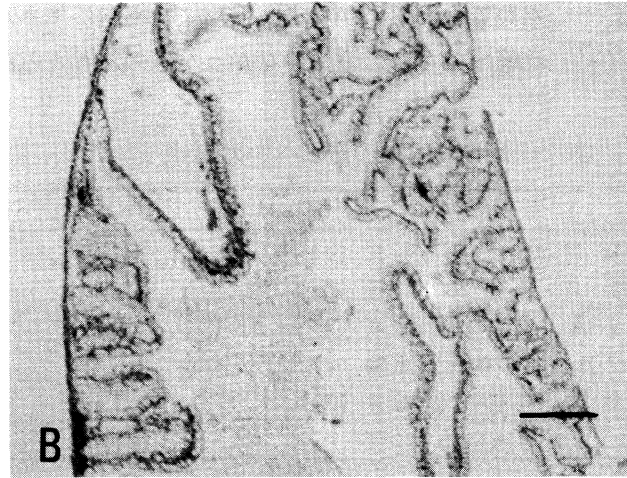
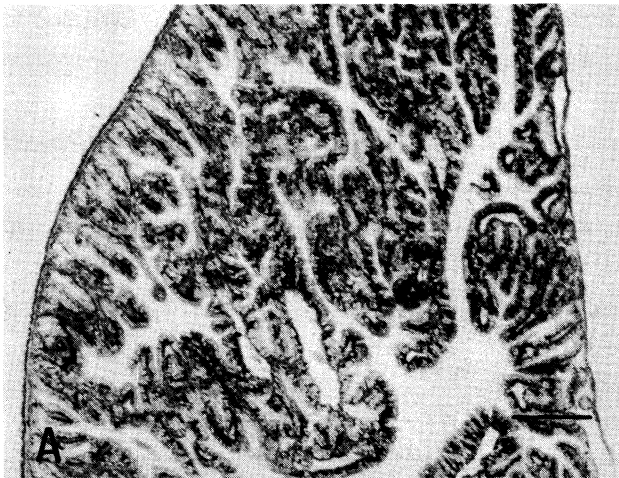


写真19 腎臓の顕微鏡写真 A：正常な腎臓 多数の細管が存在する。スケールバー=200  $\mu$  m B：異常な腎臓 細管が多数消失している。スケールバー=200  $\mu$  m

軟体動物の外傷による生体の最初の反応は、筋の収縮による傷口のシールで、次いで体液細胞による血栓形成である<sup>1)</sup>。また、アコヤガイの場合には、体壁の損傷は、無顆粒血球による壊死細胞の排除、傷口への無顆粒血球の細胞凝集塊により細胞シート形成、細胞外マトリックスの蓄積、上皮細胞の新生によって修復される<sup>2)</sup>。これらのことから、今回のへい死も外套膜及び鰓の外傷の形跡、損傷部分の筋繊維の増加、血球の凝集などの症状から考えて、外套膜及び鰓に外傷を受けたものと考えられる。しかし、これまでホタテガイのへい死に結び付く異常貝（貝殻の欠刻、変形、内面着色）とされてきたものは、欠刻、変形、内面着色を示すところの外套膜上皮の剥離、崩壊等の炎症が認められたものであったが<sup>3)</sup>、今回のへい死の場合には外套膜が広範に損傷を受け、さらには鰓も損傷を受けたために貝殻の欠刻、変形、内面着色を呈する前に急激にへい死に至ったものと考えられる。また、消化管の上皮細胞の脱落、腎臓細管の消失は、海水の体内への流入により結合組織等が破壊されたためと考えられる。長内<sup>3)</sup>は人為的に外套膜に損傷を与えると今回と同様の症状が現われると報告している。今回のへい死も外部からの物理的な力により鰓及び外套膜が損傷を受けたものと考えられる。



これまで、耳吊り養殖は籠養殖のように貝同士がぶつかり合いがないとされてきたが、耳吊り養殖でも物理的な損傷を与える原因は貝同士であると考えられる。籠養殖のように籠内の貝同士がぶつかり合うのではなく、隣接の連同士の貝がぶつかり合っているものと考えられる。表1には平内町茂浦沖で耳吊り養殖されていた1連の層別のへい死率を示したが、下層に行くほどへい死率が高くなる傾向が見られた。これは耳吊りの連が振り子のように振られるので、下層ほど振幅が大きくなり、隣の連の貝とぶつかり合う確率が高くなるためと考えられる。また、この時期は“ヤマセ”が続き、それに伴い北東の流れが強かったと言われた。このため夏泊半島より東の地域では流れに平行に設置された施設ほどへい死率が高い傾向にあり、夏泊半島よりも西の地域では夏泊半島の影に隠れた岸近くに設置された施設はへい死率が低く、沖側ではへい死率が高い傾向が見られた(図1)。この様に、北東の流れにより施設または各連が振られて、隣接の連の貝とぶつかり合い、外套膜及び鰓に損傷を受けたものと考えられる。

森<sup>4)</sup>はホタテガイの大量へい死は、半成貝の異常な性成熟の促進、不完全な産卵等の内的要因と密殖等の外的要因の複合的要因で起きると推論した。また、最近のホタテガイは満1年でも雌雄ともに成熟、産卵していることが確認されているが<sup>5)</sup>、へい死が始まった頃には“ヤマセ”の影響により水温が低下し、産卵が抑制され、逆に成熟が促進されたことと(別項参照)、生殖細胞だけが正常に保たれていたことから考えて、生殖細胞にエネルギーを取られ、生理的にも活性が低下し、損傷部分を治癒するだけの余裕がなかったものと考えられる。

表1 耳吊り養殖の層別へい死率

項目	上層	中層	下層
耳吊り時の殻長(cm)	5.4	6.0	6.1
7月上旬の殻長(cm)	7.8	8.6	8.6
7月上旬の全重量(g)	51.2	66.7	65.6
7月上旬の軟体部重量(g)	19.3	26.4	26.0
7月上旬のへい死率(%)	17.5	26.1	29.9
平均へい死率(%)	24.5		

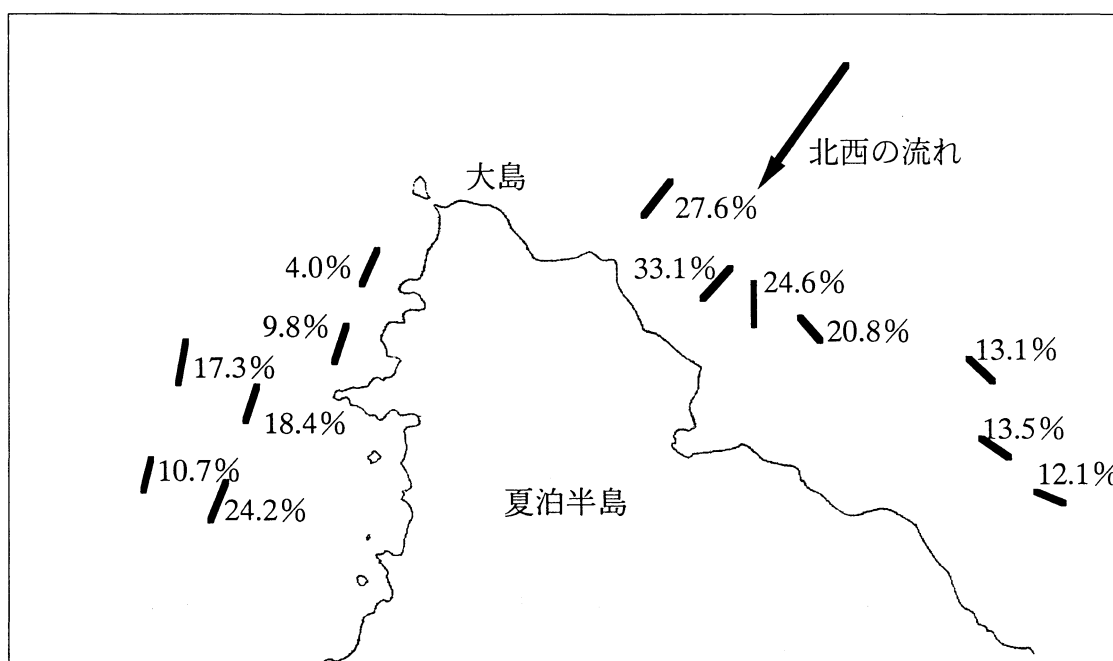


図1 実態調査時における地区別へい死率

#### 4. 参 考 文 献

- 1) 吉田恵美子 (1992) 無脊椎動物の生体防御 (名取俊二, 野本亀久雄, 吉田恵美子, 村松 繁 偏), 学会出版センター, 東京, pp129-146.
- 2) 鈴木 徹・淡路雅彦 (1995) 水産動物の生体防御 (森 勝義, 神谷久男 偏), 水産学シリーズ104, 恒星社厚生閣, 東京, pp83-95.
- 3) 長内健治 (1975) 異常ホタテガイ発生機構の基礎研究. 青水増事業概要. **8**,100-123.
- 4) Mori K (1975) Seasonal variation in physiological activity of scallops under culture in the coastal water of Sanriku district, Japan and a physiological approach of a possible cause of their mass mortality. Bull.Mar.St.Asamushi, Tohoku Univ. **15**, 59-79.
- 5) 小坂善信 (1995) 養殖ホタテガイの成熟, 産卵について. 青水増事業概要. **24**,131-137.