

ホタテガイに対するアンモニアの半数致死濃度

佐藤 恭成・榑 昌文*

Median Lethal Concentration (LC₅₀) of Ammonia for the Japanese Scallop, *Patinopecten yessoensis*

Kyosei SATO, Masahumi SAKAKI *

The median lethal concentration (LC₅₀) of ammonium chloride for the Japanese scallop, *Patinopecten yessoensis* (JAY) was studied. It varied depending upon the duration of exposure at constant temperature (10.6°C). In 24 hours' exposure, it was 13,200 $\mu\text{g-atN}/\ell$, in 48 hrs' exposure 9,300 $\mu\text{g-atN}/\ell$, in 72 hrs' exposure 5,600 $\mu\text{g-atN}/\ell$ and in 96 hrs' exposure 4,300 $\mu\text{g-atN}/\ell$.

ホタテガイ養殖において貝の異常や斃死を誘発する一因として、その代謝産物や含窒素有機物の最終分解産物であるアンモニアの影響が考えられる。一般的に有害物質の生物に対する急性毒については半数致死濃度 LC₅₀ (median Lethal Concentration) が用いられる。ホタテガイに対するアンモニアの半数致死濃度については長内 (1979) 及び中川 (1984, 1985) の報告があり、それらは24時間若しくは48時間について観察したものである。しかし田所等 (1985) によれば、動物の半数致死濃度は時間の経過とともに低下し、およそ96時間後までには半数致死濃度は平衡に達するとしている。そこで本試験においては、ホタテガイに対するアンモニアの影響を96時間まで観察し、24時間ごとの半数致死濃度 (LC₅₀) を算出したのでその結果を報告する。

材料と方法

試験方法は主に JIS による工場排水試験方法の魚類による急性毒試験 (1985) を参考にを行い、試験期間は1989年1月17日から1月27日であった。

供試貝は、青森市久栗坂沖の実験漁場で飼育している0令貝 (生後約10ヶ月) を使用した。ホタテガイは、実験開始時まで水産増殖センター前の筏で数日間垂下し、実験には外見上正常な個体を選別したものをを用いた。貝の大きさは、平均殻長 $59.1 \pm 2.8\text{mm}$ 、平均全重量 $19.4 \pm 2.4\text{g}$ であった。

飼育には内容量14ℓのスチロール水槽を用い、24時間毎に飼育水を換水する半止水式とした。実験期間中の水温を一定に保つため、一定水温の海水を掛け流しにした大型水槽に飼育水槽を入れ、飼育水10ℓに5個体を収容し計2回、各条件10個体について実験を実施した。実験期間中の水温は、範囲9.8~11.4°C、平均10.6°Cであった。また同時期の野外水温は範囲5.7~6.8°C、平均6.2°Cであった。

塩化アンモニウム添加海水は、桑谷等 (1970) の方法に従って、以下のように調整した。分析用試薬の塩化アンモニウムを110°Cで乾燥し、デシケータで冷却後10.70gを秤量し、これを純水に溶解し400mlとした。この溶液の塩素量は17.7‰となり、海水に比較的近い値となる。この溶液を汙過海水で希釈し10ℓとすると、飼育海水のアンモニア-Nの濃度は海水のもつ濃度プ

* 青森県むつ地方水産業改良普及所 (Mutsu Regional Fisheries Extension Station, Aomori Prefecture, Mutsu, Aomori 035)

ラス20,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ となる。以上の方法に準じて、2,000, 4,000, 6,000……20,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ の10段階のアンモニア濃度海水を作成し、さらに塩化アンモニウム無添加海水と計11段階の濃度の飼育水で実験を行った。

実験期間は96時間とし、24時間毎に飼育水を全換水し再び塩化アンモニウムを添加した。実験期間中に死亡した個体は24時間ごとの換水時に取り上げ、死亡個体の腐敗による水質の悪化を防止した。また飼育海水の水質変化を知るため、溶存酸素量を24時間経過後にウィンクラー法により測定した。pH は開始直後と24時間経過後にそれぞれ測定した。

結 果

ホタテガイの状態について

実験水槽にホタテガイを入れると同時に、4,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 以上の濃度では激しく動き廻る行動が観察された。また高濃度の水槽では殻を大きく開閉する動きがみられた。30分経過後、12,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 以上の濃度では外套膜の先端が貝殻先端よりも内側に退縮している個体がみられ、18,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 以上では全個体で外套膜の退縮がみられた。その後、時間の経過とともに外套膜の退縮する個体が低濃度の試験区にまで及んできた。

24時間経過後、8,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 以上の濃度の

飼育水は白濁しており、これはホタテガイから放出された粘液によるものと考えられた(長内, 1979)。高濃度の試験区では外套膜の退縮はいっそう極端になり、外套膜、鰓全体が閉殻筋の周辺に萎縮した状態となる。高濃度になるに従って殻を半分程度開いている個体や全く閉殻筋が弛緩した状態の個体が多くなった。これらのうち解剖針で外套膜や閉殻筋に刺激を与えると敏感に反応し、外套膜を収縮したり殻を閉じる個体を生存している個体、外套膜の収縮は微かにあるか若しくは全くなく、かつ閉殻運動がないものを死亡している個体と判断した。死亡していると判断された個体は依然心臓の拍動が微かに認められるものの、その後自然海水中に戻しても1日経過後回復は見られなかった。

半数致死濃度

実験期間中のホタテガイの状態を正常な個体、外套膜が退縮している個体、死亡している個体の3段階にわけ Table 1 に示した。貝に斃死をもたらす最低濃度は24時間で10,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 、48時間、72時間で6,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 、96時間で4,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ であった。2,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ の濃度では48時間経過後までは正常であったが、72時間後には10個体中3個体で外套膜の退縮がみられ、飼育水も白濁し、96時間後には半数の個体で外套膜の退縮がみられた。Fig. 1 に塩化アンモニウム濃度とホタテガイの斃死率の関係を示した。この図から半数致死濃度を求めると、24時間では13,200 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 、48時間では9,300 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 、72時間では6,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ 、96時間では4,000 $\mu\text{g-atN}/\ell$ である。

Table 1. Irritability and mortality of the test animals exposed ammonia water (Water temperature : 9.8~11.4°C, 5 animals/10 ℓ /a vessel, Culture water was exchanged once a day). ○ : Nomal, △ : Involution of mantle, × : Death.

Ammonia-N added $\mu\text{g-atN}/\ell$	Hours in ammonia-sea water			
	24	48	72	96
0	○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
2,000	○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○	○○○○○○○○△△	○○○○○○△△△△
4,000	○○○○○○○○○○	○○○○○○○○△△	○○○○○○△△△△	△△△△△××××
6,000	○○○○○○○○○○	○○△△△△△△△	△△△××××××	××××
8,000	○○○○△△△△△	○△△△△△△△×	△△××××××	×
10,000	○○○△△△△△×	△△××××××	×××	
12,000	○○○△△△△×	×××××××		
14,000	△△××××××	×		
16,000	△△××××××	×		
18,000	△△××××××	×		
20,000	×××××××			

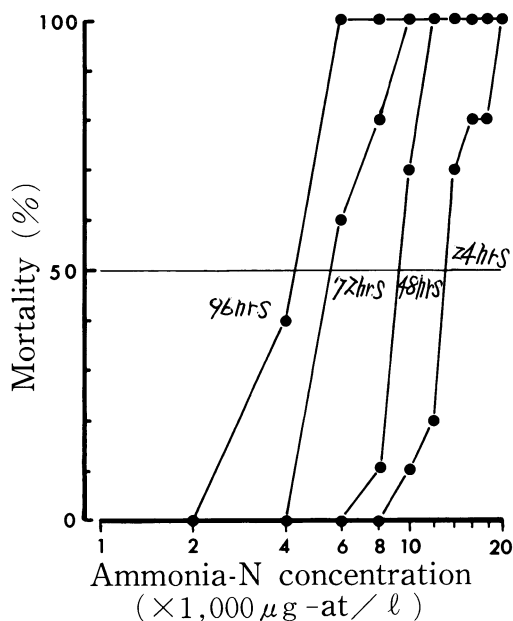


Fig. 1. Relation between concentration of ammonia added to culture water and mortality.

atN/l, 72時間では5,600 $\mu\text{g-atN/l}$, 96時間では4,300 $\mu\text{g-atN/l}$ となる。

飼育海水の水質の変化について

各濃度の塩化アンモニウム添加海水に供試貝を5個

ずつ収容した場合の溶存酸素量と pH を測定し、その結果を Table 2 に示した。24時間後の溶存酸素量は供試貝を入れない自然海水が8.95mg/lであったのに対し、塩化アンモニウムを添加しないもので6.33mg/l, 塩化アンモニウム濃度が高くなるに従って徐々に低下し、8,000 $\mu\text{g-atN/l}$ で4.61mg/l で最低となっていた。その後10,000 $\mu\text{g-atN/l}$ 以上の濃度で溶存酸素量は再び増加していく傾向が窺えた。

実験開始時の飼育水の pH は、塩化アンモニウムの濃度が高くなるに従って低くなり、さらに24時間後ではいずれの濃度でも実験開始時より低い値となっていた。

考 察

ホタテガイに対するアンモニアの半数致死濃度については、長内 (1979) が塩化アンモニウムに対し室温10℃以下、24時間で8.7mMであったとしている。同様に中川 (1984, 1985) は塩化アンモニウムを用い、水温17℃で24時間で15.5mM, 48時間で6.8mMと報告している。今回の結果と長内、中川の結果とを比較すると、24時間の半数致死濃度はそれらの中間の値となっていた。半数致死濃度は試験条件によって異なることが知られており (田所等, 1985), 特に実験水温、供試貝の大きさ等が影響を与えると考えられた。

本試験で得られた半数致死濃度と時間の関係を Fig. 2 に示した。このように半数致死濃度は時間の経過とともにその値の低下が緩やかになる。一般に魚類

Table 2. DO and pH value of culture water to which ammonium chloride was added.

5 animals/10 l / a vessel

Ammonia-N added $\mu\text{g-at/l}$	DO (mg/l) 24hrs	pH Value	
		Ohr	24hrs
0	6.33	7.94	7.60
2,000	5.88	7.93	7.68
4,000	5.30	7.83	7.64
6,000	5.18	7.75	7.60
8,000	4.61	7.70	7.56
10,000	5.02	7.63	7.59
12,000	5.19	7.58	7.58
14,000	5.24	7.60	7.53
16,000	5.14	7.55	7.50
18,000	5.31	7.52	7.48
20,000	5.92	7.51	7.47
Natural Sea water	8.95	7.94	—

に対する急性毒試験では、96時間試験の値を求め半数致死濃度としており（田所等，1985），ホタテガイに対するアンモニアの半数致死濃度は96時間で $4,300 \mu\text{g-atN}/\ell$ であると考えられた。

本試験では96時間までのアンモニアの影響を観察したが、72時間では、 $6,000 \mu\text{g-atN}/\ell$ で10個体中6個体が斃死し、96時間では $4,000 \mu\text{g-atN}/\ell$ で10個体中4個体の斃死がみられた。さらに $2,000 \mu\text{g-atN}/\ell$ においても96時間では斃死に至らないものの外套膜が退縮している個体がみられ、この濃度においても影響を与えることが判明した。

溶存酸素量がアンモニア濃度が高くなるに従って低下し、 $8,000 \mu\text{g-atN}/\ell$ の濃度で最低となり再び増加しているのは、試験開始直後に $8,000 \mu\text{g-atN}/\ell$ 付近の濃度でホタテガイが最も盛んに動き廻り、運動量が多く、酸素の消費量が多かったことによるものと考えられた。

本稿のご校閲をいただいた東北大学附属臨海実験所の沼宮内隆晴博士に感謝の意を表する。

引用文献

- 長内健治 1979. 異常ホタテガイ発生機構の基礎的研究. 青水増事業概要 8:100-123.
 中川義彦 1984. 養殖ホタテガイ斃死防止基礎試験. 函館水試事業報告 昭和58年度:194-207.
 中川義彦 1985. 養殖ホタテガイ斃死防止基礎試験. 函館水試事業報告 昭和59年度:340-351.

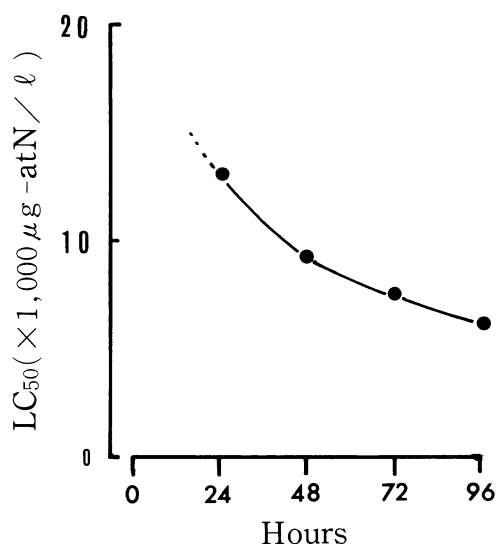


Fig. 2. Relation between culture time and LC₅₀.

- 田所博・前田正伸 1985. 魚類急性毒性試験—その現状と問題点—. 生態化学 7(4):33-41.
 工場排水試験方法 1985. 魚類による急性毒試験. JIS K 0102:221-224.
 桑谷幸正・西飯保・和田克彦 1970. アコヤガイの生理的機能におよぼすアンモニアの影響について. 国立真珠研究所報告 15:1874-1899.