

(II) 異常へい死の原因について

村長義雄・水沼栄三・箕田冠一・有馬武司・
尾崎久雄 (三重県立大学水産学部)

まえがき

昭和35年7月11日のセタジミ解禁以後琵琶湖沿岸のセタジミの大量異常へい死の原因については、琵琶湖周辺の水田において時を同じくして、いつせいにP・C・P除草剤が多量に使用撒布されその直後の集中豪雨で水田水に含有するPCP-Na成分の溢流出によるものとの声が目につく高くなり、関係者間に紛議をかもすに至った。よつて著者らはこのへい死原因を明らかにする目的で昭和35・36年度の2ヶ年度に亘り各種の試験調査を実施し、いくつかの点を明らかにし得たのでその結果を報告する。なお、病理学的研究については著者の内尾崎久雄が担当した。

概 要

へい死原因を追求する為、実施した研究は次の通りである。

へい死原因現場調査

セタジミの大量へい死が発見報告された直後、現況を把握するため可及的速やかに現場調査を実施し、考え得る各種のへい死原因についての理化学的分析及び生物試験等を実施し検討を加えた。

P・C・P除草剤の貝類に及ぼす毒性試験

この大量異常へい死被害でP・C・P除草剤が貝類に対して如何なる毒性を持つものであるかが一つの問題点となつたので昭和35年度に於いてセタジミを主体として各種貝類に対する室内生物試験を行い、その毒性を明らかにし、併せてへい死原因となり得るか検討を加えた。然し乍ら時期的にみて昭和35年度の実験ではセタジミの抵抗性が最も衰える可能性があると考えられる産卵期6~7月頃についての実験考察が出来なかつたので昭和36年度において補足的に産卵期の孕卵放卵直前のセタジミを供試材料として生物試験を行い検討を行った。

病理学的研究

へい死が発見報告されたのはセタジミ漁が解禁(7月11日)された後であり、へい死事実は解禁日以前に起つていると考えられた。従つて環境的見地からすればへい死要因は既に変化或は消失していると思ふ可能性が強い。この問題の解決への一つの手懸りは昭和35年のへい死多発時(7月上旬)及びその後(8月上旬)に入手された少数のへい死貝の検査であつた。この残された唯一の手懸りであるへい死貝について病理学的見地から調査検討を加え、へい死貝に特徴的な一つの病理組織学的変化があることを明らかにし、昭和36年度においては更に進んでP・C・P除草剤によつてこの変化

が起るか否かを研究し変化の起りうることを確めた。

調査・研究方法

1. へい死原因現場調査

a. 調査事項

- 1) 現場調査及び水・底質の化学分析 (調査月日 7月26～7月27日)
- 2) 硫酸塩還元細菌数測定 (培養時間 30℃で10日間培養)
- 3) 採集底質によるセタジミの生物試験 (実験時間5日間(120時間))

b. 方法

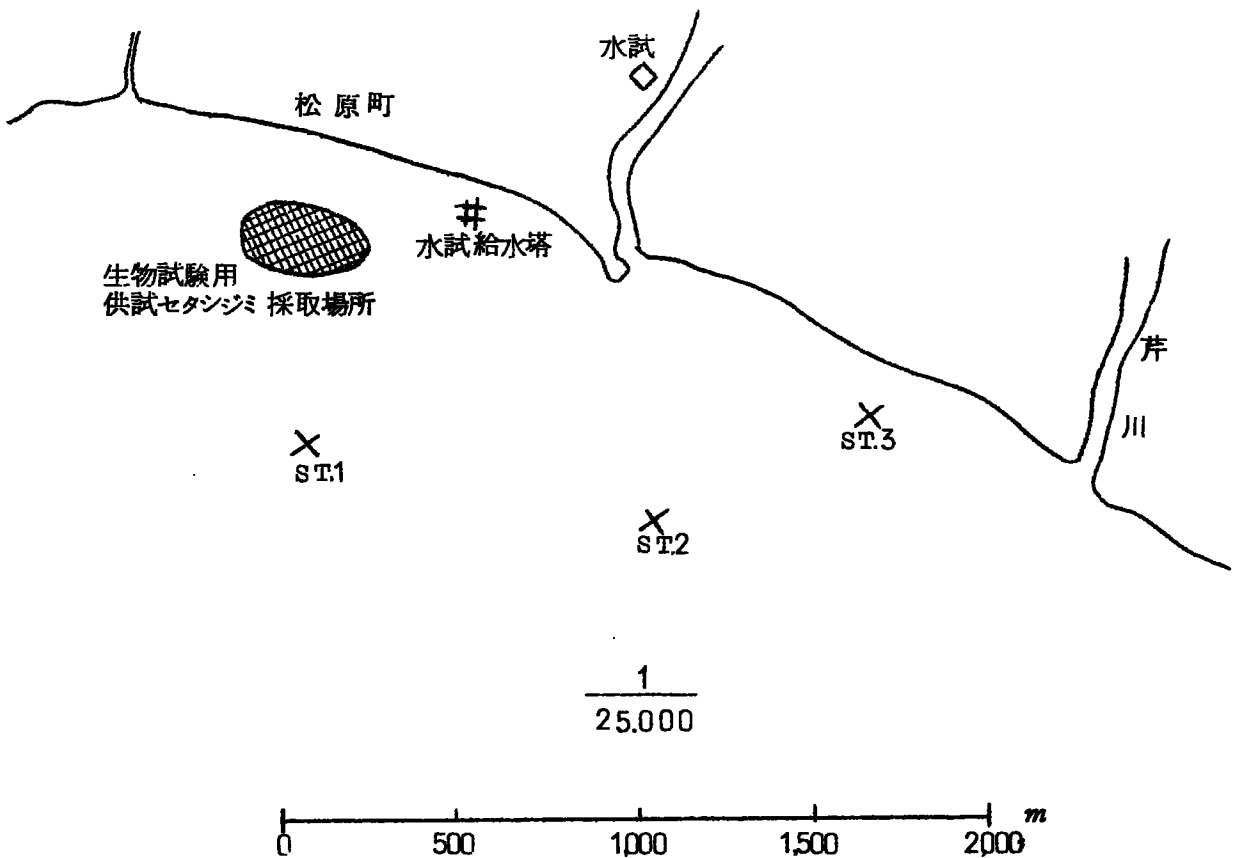
1) 現場調査地点

採水及び採泥はFig 1図に示した地点で行った。採水は底層水を北原B号採水器で、採泥は同一地点で小型貝桁網で採集した。

2) 硫酸塩還元細菌数測定方法は著者の一人¹⁾の実施した方法にならった。

3) 生物試験

採集した底泥についてへい死原因となる様な毒物が現存するか否かを知るため、内容量15ℓ



第1図 調査地点図

の円筒型硝子水槽に6cmの厚さにしきつめて、当场平田試験池湧水4ℓを加えてセタジミ20ヶを放棄した。実験時間は貝類の特性を考慮して120時間とした。

c. 調査結果

1) 水質分析結果 表 1

地点	採水月日時	水深 _m	採水水深 _m	採水時水温 ^{°C}	pH	O ₂ cc/ℓ	O ₂ %	P.P 酸度 ppm	M.O アルカリ度 ppm	I ₂ 消費量 ppm
1	7月26日 9h40m	4.0	3.8	26.3	8.10	5.75	100.5	0.0	28.0	2.03
2	7月27日 10h25m	10.7	10.5	23.8	8.11	6.10	101.8	0.0	27.0	0.00
3	7月27日 10h45m	5.6	5.3	26.5	8.23	5.96	104.6	0.0	27.0	0.00

地点	採水月日時	KMnO ₄ 消費量 ppm	フェノール ppm	有機塩素 ppm	有機燐 ppm	P.C.P-Na ppm
1	7月26日 9h40m	13.26	検出せず	検出せず	検出せず	検出せず
2	7月27日 10h25m	22.60	"	"	"	"
3	7月27日 10h45m	17.58	"	"	"	"

2) 底質分析結果及び硫酸塩還元細菌数

表 2

地点	採泥月日時	水深 _m	泥温 ^{°C}	pH	全硫化物 ppm	遊離硫化水素 ppm	硫酸塩還元細菌概数	底質の種類
1	7月26日 9h40m	4.0	25.3	7.38	0.026	0.026	10 ^数 _{19泥}	砂
2	7月26日 10h20m	10.7	22.7	7.58	0.004	0.000	10	粘泥
3	7月26日 10h50m	5.6	26.6	7.33	0.000	0.000	10	砂泥

3) 生物試験結果

表 3

試験区	死 率					備 考
	24h %	48h %	72h %	96h %	120h %	
第1地点底質	0	0	0	0	0	砂質 水温平均 18.2 ^{°C} ±1.4 ^{°C}
第2地点底質	0	0	0	0	0	粘泥質 " "
第3地点底質	0	0	0	0	0	細砂泥質 " "
Control	0	0	0	0	0	" "

d. 考 察

1) 水底質及び硫酸塩還元細菌について

- イ) P・H、酸度、アルカリ度、いずれも例年の同時期の数値²⁾と比較して異常は認められず、酸、塩基等の物質が混入している形跡はない。
- ロ) 溶存酸素量、異常は認められない。
- ハ) 沃度消費量、硫化水素等の指標となるものであるが、いずれの地点においても $1 \sim 2.03$ ppmと云う微量で異常は認められない。
- ニ) $KMnO_4$ 消費量、 カ 2地点に比較的多いがこの程度では平常の値でセタシジミに影響があるとは考えられない。
- ホ) 近くの松原干拓田、入江干拓田等から流入して、へい死原因になる恐れがあると考えられる農薬として、フェノール、有機塩素、有機燐、P・C・P除草剤等を分析したがいずれも全然検出されなかつた。問題のP・C・P除草剤についてはサフラニソ-0法³⁾に従つて分析したが同法の精度は1 ppm程度であり、後述の如くそれ以下の濃度でも毒性を示すから不検出で貝類に影響を及ぼすことも考えられる。
- ヘ) 底質pHは7.33～7.58の中性で異常は認められない。
- ト) 全硫化物、硫化水素、泥温、pH等は硫酸塩還元細菌の増生適温内にあり^{4) 5)}他の要因の如何によつてはこの細菌の大増生に伴う硫化水素の発生→底棲生物のへい死という現象が考えられるが、調査結果からは全く杞憂であることが判明した。即ち細菌数1 μ g乾土中10ヶ、遊離硫化水素0.026 ppm～0.000で細菌数からも二次生成硫化物量からも底質の異常は認められず、荒川⁶⁾の報告による有用底棲生物(アサリ)に影響を及ぼす硫化物の濃度0.5 ppmにもほど遠い。

2) 生物試験結果について

実験水温平均 18.2 ± 1.4 ℃と自然湖水泥温 $22.7 \sim 26.6$ ℃では両者間に相当の差はあるが、いずれの地点底土も120時間セタシジミに何の影響も示していない点から底土がセタシジミをへい死させる要素を有しているとは考え難い。

2. P・C・P除草剤の貝類に及ぼす毒性試験

P・C・P除草剤の湖産貝類に対する毒性を評価することを主眼とし、室内でポットによる実験を実施し120時間TLMを求めた。

a) 試験時期

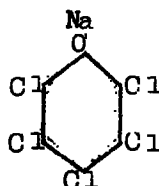
カ 4 表

年 度	貝 の 種 類	実験期日	備 考
3 5	セタシジミ、インガイ、イケチヨウガイ	8.2～8.31	セタシジミ産卵後
3 6	大型セタシジミ、小型セタシジミ	5.29～7.1	産卵前期～盛期

b) 実験材料及方法

1) 供試薬剤 P.C.P-Na塩

構造式



製 品 昭和35年度の場合 石原産業KK製 石原粒状クサグロール 有効成分濃度 86.0%

昭和36年度の場合 保土ヶ谷化学製供試品粒剤 有効成分濃度25.0%

2) 供試生物

オ 5 表

年度	貝の種類	平均殻長	実験場所
35	セタシジミ A)	2.08 ^{cm}	彦根市平田町当場平田試験地
	” B)	”	”
	イシガイ	3.19	”
	イケチヨウガイ	13.02	彦根市松原町当場生物試験室
36	大型セタシジミ	1.86	”
	小型 ”	1.30	”

昭和35年度セタシジミの場合 A) は彦根市松原町地先琵琶湖から当場員が採集したものである。B) は栗太郡瀬田町瀬田町漁協組から購入運搬したもので、非常に弱く蕃養中にもへい死する個体がかかり出た。

3) 実験方法

オ 6 表

年度	貝の種類	各試験区放養数	供試水量	容 器	実験時間
35	セタシジミ A)	20ヶ	10ℓ	内容量15ℓ入円筒型ガラス水槽	120時間
	セタシジミ B)	20	10	”	”
	イシガイ	20	10	”	”
	イケチヨウガイ	5	40	亜鉛引鉄板張木製箱	”
36	大型セタシジミ	50	10	ガラス水槽	”
	小型セタシジミ	50	10	”	”

実験は止水式でイケチヨウガイの場合を除いて、容器を実験水温調節用木製流水式恒温水槽中に併列装置して水温を調節した⁷⁾、又酸素補給の為エアープンプで24時間毎に1時間空気吹込を行った。

イケチヨウガイの場合は水温調節は行わず酸素の欠乏によるへい死をさけるため24時間毎に薬液を調整し交換した。

昭和35年度実験と昭和36年度実験との主な相違点は、前者においては各実験共120時間経

過後供試生物のへい死率を見る事を主眼としたのに反し、後者では供試生物数を増加して24時間毎に10ヶ宛任意に取揚げてP・C・P 除草剤の毒性の時間的な影響を見ることにした。なお昭和36年度の場合のへい死の判定には昭和35年度の解剖による心臓の脈動の有無に加えて検鏡による鰓の繊毛運動を観察したが、心臓の脈動が停止した個体でも繊毛運動の続行を認められるものがあつた。

c) 実験結果

1) セタジミ A) を供試材料とした時のへい死率

オ 7 表

有効成分 濃度ppm	実験水温			へい死率 %					実験時 平均室温	pH	O ₂ cc/l
	max °C	min °C	ava °C	24hr	48hr	72hr	96hr	120hr			
0.86	20.0	17.6	19.1	0	40	60	95	100	26.7	7.50~8.30	5.29~4.33
0.688	19.8	17.6	19.0	0	25	40	65	100	26.7	7.55~8.15	4.45~4.31
0.602	19.1	17.0	18.3	0	15	25	50	95	26.7	7.56~7.99	4.56~4.43
0.516	19.9	17.8	19.1	0	20	30	40	85	26.7	7.54~7.99	4.21~3.88
0.43	19.8	17.6	18.9	0	10	15	15	85	26.7	7.50~7.82	4.52~3.03
0.344	19.9	17.6	19.0	0	5	10	20	80	26.7	7.48~7.70	4.65~1.64
0.258	19.9	17.6	19.0	0	0	5	15	55	26.7	7.50~7.82	4.54~2.12
0.172	19.6	16.9	18.1	0	0	0	0	0	24.4	7.42~7.95	4.55~3.92
0.172	19.9	17.4	18.7	0	0	0	0	10	26.7	7.49~7.89	4.63~3.10
0.086	19.2	16.1	17.8	0	0	0	0	0	24.4	7.37~8.09	4.87~4.69
0.0602	19.3	16.8	18.0	0	0	0	0	0	24.4	7.39~8.05	4.94~4.85
0.043	18.6	16.1	17.6	0	0	0	0	0	24.4	7.31~8.10	4.53~5.03
0.0258	19.2	16.6	17.9	0	0	0	0	0	24.4	7.34~8.30	4.45~4.33
0.0086	19.2	16.8	18.0	0	0	0	0	0	24.4	7.31~8.11	5.28~5.03
0.00516	19.2	16.5	17.9	0	0	0	0	0	24.4	7.73~8.08	4.80~3.83
対照	19.4	16.8	18.1	0	0	0	0	0	24.4	7.75~8.06	4.54~5.04
"	19.8	17.5	18.9	0	0	0	0	0	26.7	7.50~8.15	4.10~4.52

2) セタジミ B) を供試材料とした時のへい死率

オ 8 表

有効成分 濃度ppm	実験水温			へい死率 %					実験時 平均室温	pH	O ₂ cc/l
	max °C	min °C	ava °C	24hr	48hr	72hr	96hr	120hr			
43	18.1	17.4	17.7	55	70	75	85	100	28.3	7.48~7.69	6.04~5.33
25.8	17.5	16.8	17.2	35	65	70	75	100	28.3	7.50~7.62	6.24~5.33
8.6	17.8	17.5	17.7	20	40	45	60	100	28.3	7.42~7.85	6.07~5.38
4.3	17.8	17.4	17.6	15	40	65	75	100	28.3	7.39~7.92	6.19~5.55
2.58	17.9	17.4	17.7	5	30	45	55	100	28.3	7.50~7.60	6.26~5.02
0.86	18.0	17.6	17.8	0	5	40	55	100	28.3	7.42~7.90	6.47~4.25
0.43	17.8	17.3	17.6	0	20	45	50	100	28.3	7.38~7.70	6.20~5.69
0.086	18.2	17.0	17.8	5	15	30	35	90	28.3	7.40~7.85	6.21~4.43
0.043	18.1	17.5	17.8	0	5	25	40	60	28.3	7.42~7.50	6.19~4.98
0.0086	18.0	17.4	17.7	0	10	30	35	75	28.3	7.39~7.71	6.26~4.46
対照	18.1	17.5	17.8	0	0	0	5	10	28.3	7.41~7.97	6.14~5.69

3) イシガイを供試材料とした時のへい死率

オ 9 表

有効成分 濃度 ppm	実験水温			へい死率 %					実験時 平均室温	PH	O ₂ cc/l
	max °C	min °C	ava °C	24hr	48hr	72hr	96hr	120hr			
43.0	24.2	19.4	21.8	100					29.2°C		
25.8	24.2	19.4	21.8	100					29.2		
8.6	24.2	19.4	21.8	100					29.2		
4.3	24.2	19.4	21.8	100					29.2		
2.58	24.2	19.4	21.8	100					29.2		
0.86	24.2	19.4	22.3	90	100				28.7		
0.43	24.2	19.4	23.3	80	100				28.7		
0.43	19.1	16.5	17.9	0	65	70	70	70	24.4	7.54~7.89	4.28~3.83
0.34	19.2	16.5	18.0	0	15	20	25	25	24.4	7.37~7.57	4.57~0.91
0.258	19.2	16.7	17.9	0	5	5	10	15	24.4	7.33~7.71	4.31~0.82
0.172	19.0	16.8	18.0	0	0	0	0	0	24.4	7.68~7.61	5.27~0.69
0.086	24.3	19.4	23.1	0	0	0	0	0	28.8		
0.086	19.4	16.7	18.0	0	5	5	5	5	24.4	7.67~7.90	4.59~3.86
0.043	24.3	19.4	23.1	0	0	0	0	0	28.8		
0.0086	24.2	19.4	23.1	0	0	0	0	0	28.8		
対 照	24.3	19.4	23.1	0	0	0	0	0	28.8		
"	19.1	16.6	17.8	0	0	0	0	0	24.4	7.69~8.10	4.03~4.22

4) イケチヨウ貝を供試材料とした時のへい死率

オ 10 表

有効成分 濃度 ppm	実験水温			へい死率 %					実験時 平均室温	PH	O ₂ cc/l
	max °C	min °C	ava °C	24hr	48hr	72hr	96hr	120hr			
0.86	28.5	26.2	27.3	0	40	100			27.6°C	7.40~7.53	4.56~2.95
0.43	28.5	24.5	26.5	0	20	20	60	80	27.6	7.43~7.59	4.48~3.60
0.43	27.4	25.1	26.3	0	0	0	40	100	29.1	7.41~7.52	4.45~2.76
0.344	27.4	25.1	26.3	0	0	0	0	20	29.1		
0.258	27.4	25.1	26.3	0	0	0	0	0	29.1		
0.172	27.5	25.1	26.3	0	0	0	0	0	29.1		
0.086	28.5	24.5	26.5	0	0	0	0	0	27.6	7.51~7.50	4.48~1.10
0.086	28.5	24.5	26.5	0	0	0	0	0	27.6	7.51~7.50	4.45~1.15
0.0645	27.4	25.1	26.3	0	0	0	0	0	29.1		
0.043	28.5	24.5	26.5	0	0	0	0	0	27.6		
0.043	30.5	26.8	26.3	0	0	0	0	0	29.1		
0.0086	28.5	24.5	26.5	0	0	0	0	0	27.6		
0.0043	28.5	24.5	26.5	0	0	0	0	0	27.6	7.48~7.56	4.02~1.48
0.00086	28.5	24.5	26.5	0	0	0	0	0	27.6		
対 照	28.5	24.5	26.5	0	0	0	0	0	27.6	7.45~7.55	4.02~2.77
"	27.4	25.1	26.3	0	0	0	0	0	29.1	7.45~7.51	2.64~2.09

5) 大型セタジミを供試材料とした時のへい死率

オ 11 表

有効成分濃度 ppm	実験水温			へい死率 %						実験時 平均 室温	PH	O ₂ cc/l	
	max °C	min °C	ava °C	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr	平均				
0.30	22.2	20.4	21.2	70	90	50	40	100	100	22.5	8.12~7.71	487~3.09	
0.27	22.1	20.4	21.1	0	50	80	50	80	80	22.5		586~3.51	
0.26	20.5	18.9	19.7	0	100	100	100	100	100	20.8	8.22~7.70	506~1.19	
0.24	20.6	18.8	19.7	10	100	90	100	100	77.5	20.8	8.30~7.93	468~0.71	
0.24	21.1	18.7	19.7	50	60	10	60	50		19.8		464~4.24	
0.24	21.8	18.9	20.6	30	50	50	30	100		22.4		6.06~4.45	
0.24	22.1	20.4	21.1	30	50	30	40	60		22.5		5.65~3.54	
0.22	20.5	18.8	19.6	0	80	100	90	100	71.7	20.8		552~2.21	
0.22	21.2	18.6	19.7	0	60	20	40	10		19.8		4.51~5.17	
0.22	21.8	18.9	20.6	30	20	50	40	70		22.4		5.21~4.00	
0.22	22.2	20.4	21.2	40	50	30	10	40		22.5		5.72~3.84	
0.20	20.4	18.7	19.6	10	90	70	100	100	57.5	20.8		489~1.96	
0.20	21.0	18.4	19.6	10	40	10	20	10		19.8		4.85~4.92	
0.20	21.8	18.8	20.6	40	10	20	40	90		22.4		5.83~4.33	
0.20	22.0	20.4	21.1	30	40	50	20	30		22.5		8.29~8.19	5.68~3.73
0.18	20.6	18.8	19.7	0	40	70	70	90	40.0	20.8	8.49~8.02	5.58~3.89	
0.18	21.0	18.4	19.6	30	20	10	10	10		19.8	4.38~5.17		
0.18	21.8	18.8	20.5	40	50	10	0	40		22.4	6.31~3.31		
0.18	22.1	20.4	21.1	10	20	0	10	20		22.5	5.88~3.90		
0.16	20.5	18.8	19.6	0	50	60	80	100	25.0	20.8	8.30~8.19	6.30~2.99	
0.16	21.0	18.2	19.5	20	20	10	10	0		19.8		4.39~5.08	
0.16	21.7	18.6	20.5	20	10	10	0	0		22.4		8.29~8.35	5.13~4.04
0.16	22.2	20.4	21.2	20	10	0	20	0		22.5		4.79~3.89	
0.14	20.5	18.7	19.6	0	40	40	70	90	25.0	20.8		5.54~3.48	
0.14	21.0	18.4	19.6	20	30	10	0	10		19.8		4.55~5.64	
0.14	21.6	18.6	20.5	30	0	20	0	0		22.4		5.84~3.74	
0.14	22.2	20.4	21.1	0	10	10	0	0		22.5		5.69~4.73	
0.12	20.5	18.8	19.6	30	20	30	10	30	12.5	20.8		6.19~3.48	
0.12	21.0	18.3	19.5	10	0	20	10	10		19.8		5.46~5.77	
0.12	21.7	18.7	20.5	10	10	0	20	10		22.4		5.20~4.16	
0.12	22.1	20.4	21.1	10	0	0	0	0		22.5		5.56~4.83	
0.10	20.4	18.7	19.5	0	10	40	0	40	30.0	20.8		5.36~3.41	
0.10	21.0	18.2	19.5	0	20	10	0	20		19.8		5.68~5.51	
0.10	21.8	18.9	20.6	10	0	10	0	0		22.4		5.29~4.60	
0.08	21.0	18.2	19.5	0	10	0	20	30	15.0	19.8		4.63~5.47	
0.08	21.8	18.7	20.5	0	10	0	0	0		22.4		5.45~4.91	
対照	20.5	18.8	19.6	0	0	0	0	0	5.0	20.8	8.12~8.09	5.86~5.26	
"	21.0	18.2	19.5	0	10	10	10	10		19.8	8.32~7.99	4.62~5.74	
"	21.8	18.6	20.6	0	10	0	0	10		22.4	8.39~8.00	5.29~3.96	
"	22.1	20.4	21.1	30	20	0	0	0		22.5	8.17~7.96	5.13~4.13	

6) 小型セタジミを供試材料とした時のへい死率

オ 12 表

有効成分濃度 ppm	実験水温			へい死率 %						実験時 平均室温	pH	O ₂ cc/l
	max °C	min °C	ava °C	24 hr	48hr	72 hr	96 hr	120 hr	平均			
0.25	22.2	20.4	21.2	80	60	80	60	100		22.5	8.13~8.19	5.58~4.46
0.21	22.1	20.4	21.1	90	60	40	60	70		22.5		5.50~4.96
0.17	22.2	20.4	21.2	40	60	30	30	40		22.5		5.77~4.05
0.15	23.0	18.9	20.9	20	40	70	40	100	60	22.3	8.28~8.41	6.27~4.37
0.15	21.1	18.8	19.7	40	40	50	10	20		19.8	8.12~8.35	4.92~5.65
0.14	22.1	20.3	21.1	60	20	0	10	20		22.5	8.09~8.29	5.87~3.53
0.13	21.8	18.9	20.6	10	20	50	0	80	50	22.3		5.92~5.15
0.13	21.1	18.8	19.7	10	30	10	20	20		19.8		4.89~5.82
0.11	21.8	18.9	20.6	10	10	30	0	50	30	22.3		5.60~3.92
0.11	21.1	18.8	19.8	10	20	20	10	10		19.8		4.98~5.86
0.10	22.2	20.4	21.1	10	10	10	10	10		22.5		5.63~4.57
0.09	21.8	18.9	20.6	0	20	0	0	20	10	22.3	8.35~8.48	5.01~4.33
0.09	21.1	18.5	19.6	20	0	20	0	0		19.8	8.22~8.30	4.60~5.79
0.07	21.8	18.6	20.5	10	10	10	10	0	0	22.3		6.32~4.44
0.07	21.1	18.4	19.5	0	0	10	10	0		19.8		5.14~5.81
0.06	22.1	20.4	21.1	20	0	0	10	0		22.5		4.93~4.76
0.05	21.8	18.7	20.5	0	20	20	10	10	10	22.3		5.49~4.22
0.05	21.1	18.3	19.5	10	0	10	10	10		19.8		4.77~5.98
対照	22.2	20.4	21.2	10	20	0	20	0		22.5		5.32~4.84
"	21.8	18.7	20.4	10	10	10	20	0		22.3		5.08~4.33
"	21.1	18.3	19.5	0	0	0	10	0		19.8		4.18~5.74

d) 実験結果の要約

オ 13 表

年度	貝の種類	実験水温	pH	溶存酸素 cc/l	100%致死 限界濃度 ppm	120時間 TLM ppm	最低% 致死限 界濃度 ppm	120時間の 安全限界濃 度推定値 ppm
35	セタジミ A)	18.4°C±1.7	7.31~8.30	5.29~1.64	0.68	0.22	0.17	0.066
	" B)	"	7.38~7.97	6.47~4.25	0.43	0.003	0.008	0.0009
	イシガイ	20.9±2.4	7.33~8.10	5.27~0.67	0.86	0.38	0.25	0.114
	イケチヨウガイ	26.5±2.0	7.40~7.59	4.56~1.10	0.86	0.40	0.34	0.120
36	大型セタジミ	20.3±2.1	7.70~8.49	6.31~0.71	0.30	0.17	0.10	0.051
	小型セタジミ	20.5±1.8	8.09~8.48	6.32~3.53	>0.25	0.15	0.13	0.045

註1. 表示の濃度はすべてP・C・P除草剤の有効成分濃度である。

2. TLMは実測値を基にしてDoudoroffなど(町田訳⁸⁾)に従って解図的に求めた数値である。

3. 安全限界濃度はHart, Doudoroff and Greenbankらの提唱する方法¹⁰⁾による。

e) 考 察

1) 昭和35年度実験結果

イ) 120時間(5日間)の実験時間でイケチヨウガイ>インガイ>セタシジミの順にP・C・P除草剤に対する抵抗性が強い。

ロ) セタシジミB)は他の条件により全体に活力が非常に衰えていた。その状況は120時間の実験中対照試験区で10%の死を見る程度であつた。従つてこのデータは信憑性がうすいと考えられるが試みに正常のセタシジミA)と比較してみるとP・C・P除草剤の毒性に対する抵抗性が著しく低下している点が指摘出来る。

ハ) P・C・P除草剤は戸外で使用した場合紫外線によりよく分解される⁹⁾。宗像らによると晴天の場合20時間後には完全に分解される。従つて供試薬液中のP・C・P濃度が120時間の実験時間中に著しく減少する事も考えられるのでサフラニソール法³⁾により4.3 ppmの濃度の試験区で24時間毎にP・C・P濃度を測定したが経時的变化は認められなかつた。

故に室内試験では他の濃度の試験区でもP・C・Pの濃度に経時的变化は起らないものと仮定した。

ニ) 使用説明書によれば通常P・C・P除草剤を水田に使用する場合は10a当り水深を2~3cmとして1kg撒布するとあり(但し有効成分86.0%石原粒状クサロールの使用法)撒布したP・C・P除草剤が全部水田水に均一に溶解したとすると撒布時水田における有効成分濃度は約43 ppmとなる。この濃度をHart, Doudoroff and Greenbank¹⁰⁾らの提唱する安全濃度(最終的TLM×0.3)と比較してみよう。(オ13表参照)

正常のセタシジミの安全濃度は約0.05 ppm位と推定されるから水田に撒布されたP・C・P除草剤が約 $\frac{1}{1000}$ に希釈されなければ安全とは云えないことになり、且つセタシジミB)の場合の如く活力を衰えさせる原因が他に潜在する場合にはそれよりはるかに低濃度に希釈されてもなおへい死要素となり得る可能性をもっていると言えよう。

ホ) P・C・P除草剤が紫外線によつて速かに分解される性質のあることを考えると、水中に溶存する場合濃度変化には水理的希釈条件以外に光学的条件が密接な関連を持つものと考えられる。即ち光は水中に入つて散乱減耗するが底に達する光量は水深に対数的逆相関をなし、且つ短波長の光線程散乱減耗は著しいから一定の水深以下では太陽光線によるP・C・P除草剤の分解は殆んど行われないと考えてよく、このことはへい死が一定水深以下の地域(異常へい死実態の項参照)に甚しい点と関連があるかも知れない。

ヘ) 既に研究発表されているP・C・P除草剤の各種魚類に対する毒性(名大 田村外)⁹⁾と本試験結果とを比較してみるとオ14表の通りとなり、実験条件の差異はあるにしても多くの魚類と貝類とに毒性の差が認められず、むしろ貝類に強く作用するかの感があり、他の薬剤⁷⁾では貝類より魚類の方が抵抗性が弱い場合が多いのに比べ特異的と言えよう。

表 14 P・C・P除草剤の水産生物に対する毒性比較

種 類	T L M ppm	実験時間	全 長 cm	体 重 gr	水 温 °C
コ イ	0.35	48	6.3	3.7	14~18
キンギヨ	0.50	"	5.9	3.9	"
ドジョウ	0.62	"	9.8	5.6	"
ウナギ	0.28	"	28.0	26.8	16~20
メダカ	0.36	"	2.9	0.44	15
ニジマス	0.056	"	4.3	0.73	17.0±0.4
セタシジミ	0.227	120	2.08	—	18.4±1.4
イシガイ	0.380	"	3.19	—	20.9±2.4
イケチヨウガイ	0.407	"	13.02	—	26.5±2.0

2) 昭和36年度実験結果

ト) 昭和35年度実験においては時期的に産卵期が既に終つており、セタシジミの活力を衰えさせる一つの重要な因子と考えられる産卵期でのP・C・P除草剤に対する抵抗性が不明であつたので昭和36年度実験で補足した。然し乍ら実験結果は両者間に顕著な差異を示さず僅かながら産卵時期の抵抗性が衰える傾向を示したに過ぎない。

チ) 本年度は死の判定について正確を期するため顕微鏡により繊毛運動の有無をも調べた。心臓の脈動の停止した個体でも繊毛運動は認められるが比較的不活発であり、繊毛運動の停止をもつて死とした場合の120時間T L Mは大型セタシジミでは0.214 ppm、小型セタシジミでは0.190 ppmであつた。

リ) 体型によるセタシジミのP・C・P除草剤に対する抵抗性の差異も顕著ではない。

ヌ) 一せいに水田に撒布されたP・C・P除草剤が当時の集中豪雨により一時に溢流出して、琵琶湖に流入し、部分的に相当高濃度を保ち(1/1000の稀釈)且つその時期にセタシジミの活力を衰えさす様な或る条件が潜在したとするならば更にそれ以下の濃度に稀釈されても今回の著しい死を誘発する原因となる事はあり得ない事ではないと考えられる。

病 理 学 的 研 究

I 寄生虫及び細菌学的調査

昭和35年7月琵琶湖沿岸でセタジミを含む貝類の異常に多量なへい死が確認されたが、その死因が何かを明らかにするために、先ず寄生物の寄生の有無や細菌感染の存否を調査した。

1. 調査項目と方法

i 寄生虫の有無。これは生貝及びホルマリン固定貝について、a) 肉眼で、b) 低倍率拡大で貝軟体部、特に鰓などを検査し、c) セロイジン切片、ヘマトキシリン・エオジン染色標本で鰓や消化管内などを主に調べた。

ii 細菌感染の有無。健全貝（採集時生きていたもの）では生貝から組織の塗抹標本を作り、染色して調べた。へい死貝は数が少ないのですべて切片標本にして調べた。健全貝も切片標本として調べた。塗抹標本は多数の個体を迅速に観察するための便法として用いたものである。

切片標本はセロイジン包埋し、マイヤーのヘマトキシリン・エオジン染色して、寄生虫学的調査と兼ねて細菌学的検査を行った。各個体から9切片をとり、鰓、口腔、胃、消化管及び管壁、中腸腺、生殖腺、両腺間を埋めている間質、筋、外套膜、循環器（心臓）などを検鏡した。水に直接に接する鰓とか消化管内には水中の雑菌が見られるがこれを除外した。

2. 調査材料

i 健康貝

- I 奥ノ瀬、35,8,6 採集、ホルマリン固定及び生貝。
- II 米原町磯地先、35,8,6 採集、ホルマリン固定貝。
- III 彦根松原地先、35,8,6 採集、ホルマリン固定貝。
- IV 長浜下坂浜地先、35,8,6 採集、ホルマリン固定貝及び生貝。
- V 同上、35,8,6 採集、ホルマリン固定貝。

組織切片標本はI～IVのホルマリン固定材料を用いた。塗抹標本はIとIVの生貝を用いた。

ii へい死貝

- A 奥ノ瀬（彦根松原地先）35,8,6 採集、2 個体
 - B 米原町磯地先、35,8,6 採集、20 個。但し、この中には健全貝と見られるものが混入しているらしいことが、切片標本の観察から推測された。
 - C 組合蓄養中のものから採集したもの、3 個
 - D 初期に採集され、試験場でブアン液で固定してあつたものの一部、6 個。
- A, B, Cは何れもホルマリン固定したものである。

3. 調査結果

i 健康貝についての観察結果

(1) 寄生虫の検査

a. 肉眼及び低倍率による検査

用いた個体数は次の様である。

I^{*} フォルマリン固定貝 30個

生貝 35個

II^{*} フォルマリン固定貝 30個

III^{*} " 30個

IV^{*} " 30個

生貝 20個

V^{*} フォルマリン固定貝 30個

特に鰓葉及びその間隙を注意して調べたが寄生しているものは一つも見られなかった。

b. 切片による検査

用いた個体数は次の様である。

I 30個体

II 28個体

III 28個体

IV 26個体

健康貝は常によく摂餌しており、消化管後部に内容物がつまっているのが見られた。これは健康であることの証明の一つとなるだろう。消化管内に未消化の生物が見られるが、それが病原性があるとは思われない。消化管内にも寄生生物と思われるものは見られなかった。

(2) 細菌の検査

組織切片による被験体数は次の様である。

I 30個体

II 28個体

III 28個体

IV 26個体

油浸系、強拡大で検査した。生貝からの塗抹標本による個体数は次の様である。

I 20個体

II 17個体

何れの方法の標本でも細菌感染していると思われるものは一つもなかった。特に鰓、消化管など詳細に調べたが感染しているものは見られなかった。健全貝でありながら保菌者として発病し

* この符号は調査材料の符号と同じ。

ないものでは菌数が少くて組織切片検査では発見できないだろう。

(3) 組織の病理的症状の有無

組織の欠損、癒痕、変爛、潰瘍、腐敗などがあれば罹患した一つの証明となるからその有無を調べた。然しその様な症状はどこにも見られなかった。

ii へい死貝についての観察結果

1 寄生虫の検査

A※ 2 個体

B※ 8 個体

C※ 3 個体

D※ 6 個体

何れも先ず肉眼及び低倍率で、組織を損傷しない様に観察し、後にセロイジン切片にして観察したが、寄生虫の存在は見られなかった。但し鰓の大部分とか消化管の一部などが失われている標本もあつたから、その点については論ずることはできない。

2 細菌の検査

被検個体は何れも死後のものであり、中には死後かなり時間を経ていて組織がこわれていたり、一部が失われていたりしているものもあり、勿論細菌感染しているものがあるが、それが生前か死後かを判定するためには、種々な観察事項を検討する必要がある。その結果を表示すると次の様になる。

標本番号

A-1 鰓の一部に細菌感染。

A-2 感染なし。死後短時間のものらしい。

B-1→8 細菌感染なし。死後新しいもの。中には健全貝と見られるものもある。B-3, 4, 5の鰓に出血(?)。

C-1 鰓はくずれているが少数の $1\mu \times 20\mu$ 位の長い菌が見られる。生殖腺、消化管、中腸腺などには感染なし。間質に変性(?)。そこに病原菌はない。

C-2 鰓組織はくずれている。然し細菌はない。その他の部分も無感染。

C-3 感染なし。

D-1 鰓に細菌多数($1\mu \times 15\mu$ 、 $1\mu \times 5\mu$ 、 $1\mu \times 1\mu$)。生殖腺、消化管及び間質などの組織が崩壊。その中のある処には細菌が見られる。整然とした組織像の生殖腺には細菌はない。中腸腺細胞には病理学的変化と思われる所見がある。消化管内に桿菌型($1\mu \times 5\mu$)、球菌型($1\mu \times 1\mu$)、時にビブリオ型のものも見られる。

※ この符号は調査材料の符号と同じ。

- D-2 こわれた鰓のあちこちに細菌集団が散在している。球菌型、ビブリオ型のものもある。生殖腺は感染していない。消化管前方には細菌がある。口腔近くにも見られる。死後感染と見られる。
- D-3 こわれ残った鰓に少し細菌が見られる。中腸腺の崩壊部にも見られる。生殖腺には見られない。消化管腔には細菌が見られる。
- D-4 鰓は感染していない。中腸腺、生殖腺にも菌は見られない。
- D-5 全組織がかなりこわれている。細菌は見られない。
- D-6 全体の組織がかなりこわれている。原型の見られない程こわれた鰓には細菌があるが、生殖腺、消化管壁、間質などには細菌はない。

4. 考 察

- (1) 一般に流行性疾患は先ず日と共に罹患個体数が増大して、ある時機に最大に達し、次いで徐々に消退していく。突然的に多数個体が発病し、再び急激に終熄すると云うことはない。最盛期にもかなり長期間罹患者が散発していくのが常である。それで今般のシジミの異常へい死が流行性疾患であるとすれば、その最盛期は7月11日の解禁日以前であつたろうが、その日は推定出来ないが、採集日頃にも罹患個体や保菌個体があつてもよいと思つて、健全貝などを多数検査した。然しそれらには罹患した後遺症状も保菌個体もみられなかつた。貝の病理学的反応が不明なので結論は出せないが、後遺症状もありうるだろうし、感染したものがすべて死ぬとは思われない。それで健康貝（生存貝）にそれらを期待して検査したが、それは見られなかつた。尚保菌個体の検出には細菌培養をする方が正確である。
- (2) 生存貝に組織の一部欠損など云う病理学的な所見を示すものが見られなかつた。罹患した貝はすべて死ぬとすれば、後遺症状を示すものはない筈だが、治癒した痕跡がないということは感染のなかつたことの間接の証明となるだろう。
- (3) 細菌の発見されたものはすべて採集時に死んでいたものである。中には採集時に死んでいたものでも細菌感染のないものも見られた。感染しているものを見ても、鰓が一番多く、消化管前部特に胃腔それに近い中腸腺腔などがこれに次ぎ、一般に外部から侵入しやすい部位にのみ、細菌が見られる。崩壊した部位には見られても、深部（中腸腺、生殖腺及び間質）などには細菌が見られないことなどから見て、細菌感染があるとすれば、鰓、それが生前のものでないとすればすべての感染は死後のものであると思われる。
- (4) 寄生生物の存在は見られなかつた。
- (5) へい死貝の中には病理組織学的な検査をしなければならぬ所見を示すものがある。生活時に感染が起ればそこに病理的反應、例えば細胞の遊走や組織の増殖などが起る筈である。それがあれば感染は生前のものであり、なければ死後のものであると見てよいであろう。

5 結 論

健全貝、へい死貝を通じて寄生生物は見られない。へい死貝には一部細菌感染が見られるが、それは死後のものである可能性が高い。

II 病理組織学的調査

へい死貝について病理組織学的な検査を行い、今般の大量へい死の原因を調べるために、死貝に残された病理的变化を見出そうと努めた。

1. 材 料

調査に用いた材料は対照貝としては三ヶ所で採集した健全貝を用い、へい死貝は入手し得たもの全部を用いた。各々次の個体数である。

健全貝

- 1 奥ノ瀬、35, 8, 6 採集、フオルマリン固定、30 個体
- 2 米原町磯地先、35, 8, 6 採集、フオルマリン固定、28 個体
- 3 彦根松原地先、35, 8, 6 採集、フオルマリン固定、28 個体

へい死貝

- A 奥ノ瀬、35, 8, 6 採集、2 個体
- B 米原町磯地先、35, 8, 6 採集、20 個体
- C 組合蓄養中のものから採集、3 個体
- D 初期(7月11日頃)へい死し、試験場で保存していたもの、6 個体。

2. 方 法

何れも通常の方法で、軟体部全体をセロイジン包埋し、切片とし、マイヤーのヘマトキシリン・エオジン染色を行った。その外対照として、ウナ・パツペンハイマーのメチルグリーンピロニン液によるプラズマ細胞の染色などを行つてみたが、これらの染色法は何れも高等動物についてよく研究されているものであつて、下等な貝類などに使用出来るかどうかと云うことは明かでない。病理学的な細胞の分類などにこれらの染色法が利用出来れば便利であるが、そのためにはかなり基礎的な研究が必要なので、今回は主としてヘマトキシリン・エオジン染色で、極く一般的な調査を行うことに止めた。

3. 結 果

貝軟体部全体をくまなく観察したが、その中で特に著明で、且多分重要な病理的变化を示していたのは鰓と間質であつた。消化管壁や生殖腺、中腸腺ではそれ程はつきりした変化が見られなかつた。従つて記載は主にこの二器管にしぼられる。その中でも間質の変化は最も特異的である様に思う。藤田(1955)等がマガキの大量へい死の場合間質に細菌感染が起ることを報告している事と思ひ合せると甚だ興味がある。各標本での観察要点は次の様である。

標本番号

- A-1 鰓葉組織は崩壊、その一部に細菌。鰓葉の崩壊が炎症などによるものか否かは明かでない。細菌は多分死後感染。間質に細胞浸潤あり。藤田等の云う感染齶及び結節はなく、且つ細菌は見られない。多分非細菌性の炎症。
- A-2 どこにも細菌はない。鰓は崩壊。
- B-1 無感染。鰓は正常。細胞浸潤などもない。間質も正常である。
- B-2~7 すべて正常で、感染も細胞増殖もない。多分健全員であろう。
- B-8 細菌感染なし。鰓組織は正常。間質には中等度の細胞増殖がある。然しその正常構造は尚残っている。結締織細胞の増殖がある様に見える。遊走細胞（円形細胞、Rundzellen）の浸潤と増殖は殆どないが、間質の軽度の増殖があると云うのは全標本中これだけである。尚生殖腺の処々に黒色素があるのが見られた。その理由などは不明。
- C-1 鰓組織は崩壊。処々に菌（ $1\mu \times 20\mu$ ）。その数は少いから、この菌が組織をこわしたとは見られない。多分自己融解であろう。生殖腺、消化管壁などは無菌。間質の細胞増殖は顕著であり、種々な核の細胞が存在している。本来の結締織細胞も少しは残っている。核の退行性変化が見られる。変性（Degeneration）による核の減少かもしれない。それにもかかわらず細菌は認められない。この細胞増殖は非細菌性のものであろう。
- C-2 鰓組織は乱れている。細菌はない。鰓構成細胞の中にはかなり種類の違つた核をした細胞が沢山に存在しているから鰓にも浸潤か炎症があつたかもしれない。間質には細胞増殖を示す。中腸腺、生殖腺、消化管壁などは菌はない。生殖腺中に黒色素粒子が散在している。
- C-3 鰓組織はきれいで菌はない。生殖腺、消化管も細菌はない。間質は殆ど正常な像を呈している。
- D-1 組織が全体にかなり損傷されている。鰓にはかなり著しい細胞浸潤がある様に見える。鰓には多数の細菌があり、その型も種々である。生殖腺、中腸腺、間質などに相当する部分は組織がこわれていて、全体に basophil であり、切片を肉眼で見ただけでは各器官を区別出来ない。生殖腺腔内には細菌は見られない。間質では変性している（degenerieren）部分には細菌が見られるが、組織構造が保存されている部分にはないようである。消化管内には細菌が多い。その型は $1\mu \times 5\mu$ 、 $1\mu \times 1\mu$ 、 $1\mu \times 10-15\mu$ のもの。組織の深部に細菌感染があり、同時に間質の増殖が見られる処から感染と増殖との関連が考えられ、この個体は細菌感染によつて死んだものと見てよいかもしれない。間質の増殖は極めて顕著である。多種多様な遊走細胞と多分間質細胞の幼若型などが見られる。退行性変性を示すものもある。
- D-2 組織はかなりこわれている。鰓組織もこわれて細菌がある。生殖腺は無菌である。口近くには細菌があるが、口から遠く離れた部位にはない。中腸腺腔には細菌もある。間質

には細菌はないが、軽度の細胞浸潤が見られる。

- D-3 中腸腺の一部が失われ、その境界部には細菌がみられるが、中心部にはない。生殖腺には菌はない。鰓はごく一部が残っているだけで細胞浸潤などがあるかどうかは不明である。消化管腔には菌があるが、管壁にはない。間質は正常像を示している。
- D-4 鰓、中腸腺、生殖腺何れも菌はない。間質は正常な組織像を示している。但し生殖腺の周囲には、正常でも細胞の集合があるが、本例では正常よりやや強くそれが見られる。細胞浸潤の様な病的なものではなく、生殖活動と関係があるかも知れない。
- D-5 全組織がかなり損傷している。切片を肉眼で見たのでは区別がつかない。中腸腺などの組織もかなり乱れている。変性部位もある。染色性が不安定である。細菌は見られない。間質の細胞増殖が見られ、その様子はD-1によく似ている。
- D-6 これも組織がかなりこわれていて、染色性も変化している。鰓は殆ど残っていない。その残部に菌がみられる。生殖腺や消化管には菌はない。間質は正常像を示し、細菌も見られない。

4. 考 察

- (1) 鰓の細菌感染について。健全貝では鰓に細菌感染のあつたものや、その治療後の後遺症状などを示すものは一つもなかつた。又調査したへい死貝の中で、鰓に細菌感染のあつたものは6例だけであつた。これらの貝の鰓組織は一般に崩壊しており、正常のあの美しい鰓葉組織を示していない。正常なら細胞のない鰓葉間隙に、無秩序に細胞成分が溶け出して来ている感じがする。組織の崩壊か融解によるものであろう。

その様に無秩序に分散した細胞の核はいくつかの形態のものが混っている。種類の違つたものと見られるそれらの細胞は本来鰓を構成していたものであるのか、或は鰓で炎症などを起したための病理的反応として出現した炎症性細胞などであるのかは非常に決定しにくい。例えば人の場合に倣つて、ウナーバツペンハイマー染色法を行つてもプラズマ細胞の様な染色性を示すものはどれにも見られなかつた。何れにしても存在している種々な細胞がどこから来たものを判定することがむづかしい。

更に鰓は外へ直接に表われているので、増殖による細胞密度の増加と云うものか決定しにくい。標本中には明かに増殖している様に見えるものもあるが、それが本当にそうなのかどうかは、間質の場合の様には簡単には決められない。従つてくずれた鰓組織に細菌がみつかつた時それが病理的反応によつて増殖したのなら、細菌は生前に感染して而も死までかなりの時間生存していたことを示すものであり、鰓の細胞が単に崩壊を来しているだけなら、細菌は死後に感染したことになるだろう。鰓に細菌の見られるものでは、どうも細菌感染は死後のものとみてよい様だと思ふ。細菌は鰓の表面に多いこと、同じ型のものが外から達し易い消化管前部口腔などの腔内に存するが、管壁内にはないことなどは、これを間接に証明するものだろう。

(2) 間質の細胞増殖

間質に細胞浸潤や細胞増殖を起しているものは7例でみられてかなり重要な所見だと思われる。浸潤や増殖は生存中でないと起り得ない病理的反應である。死後変化だということは絶対にあり得ない。この反應を起すにはある時間が必要である。それで生前に何等かの病気にかかり、死んだことは明らかである。

見られた細胞浸潤の様相は、そこに表れて来ている遊走細胞などの形状からみると、藤田等がマガキで見たものとよく似ている。彼等は細菌性の疾患であつた。セタシジミでのこの反應も何等かの炎症性反應であろうと推論出来る。

然し炎症の原因は何かは明かでない。何となれば細胞浸潤が起つていて、而も細菌が存在するのはD-1標本の1例にすぎない。他の6例では非細菌性の炎症によるとしか考えられない。非細菌性の炎症として、ウイルス感染、物理的な刺激、毒物や劇薬などによるものなどがある。

鰓の細菌感染、間質の細菌感染及び間質増殖(浸潤)などの相関は、まとめてみると次の様になる(オ15表)。

オ 15 表

標本番号	鰓の感染	間質の感染	間質の増殖
A 1	+	-	+
2	-	-	-
B 1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	+
C 1	+	-	+
2	-	-	+
3	-	-	-
D 1	+	+	+
2	+	-	+
3	+	-	-
4	-	-	-
5	-	-	+
6	+	-	-

鰓が細菌感染して間質増殖を来しているものは4例である。この中、間質が感染を受けていないものは3例である。この3例の間質の細胞浸潤を、鰓での病変の遠隔作用とみることはむづかしいであろう。間質の機能的性質はどうも明かでないが、淋巴腺のような性質があるとは思われない。多分間質の病変は鰓のそれとは独立に起つていたのであろう。間質が病変を来し、増殖や浸潤がありそのために死に、その後鰓に細菌感染が起つたとみるのが妥当であろう。間質の病変は多分それ程急激には生命に影響しないであろうからここに炎症が起つても、ある日数は生存出来るだろう。それでこの様に顕著な浸潤などを来し得たのである。

間質に表れている病理的細胞の區別は俄には判断出来ない。藤田等が浸潤細胞の記載に「大及び小円形細胞」と云う語

を用いているが、「所謂円形細胞Rund zellen」であつて、慢性の刺激或は炎症の時に組

織内に集積して来るリンパ球及び単核球、又は場合によつてはプラズマ細胞などを総括しての略称であり、その外のものも含まれている様である。吾々の場合それらをくわしく分類することは出来ない。

(3) 死因について

勿論吾々がへい死貝の採集を行つたのは8月であつて、へい死発見より約1ヶ月もおそかつたし、その頃にはへい死貝をみつけるのに苦勞する程であつて、死貝の軟体部を残したものは極めて僅少であつた。それでへい死はもうこれ以上起らないだろうと思われた。それ故に死因の探究のための標本は入手し難くなつていた。この僅少な観察例から結論を下すことは勿論出来ないし、またそうしようとも思わない。吾々は翌年にも同じことが再び起るとしたらその時の研究に大いに期待をする。たゞ、一応本年の資料から種々推測してみると次の様になる。

- i) へい死の最盛期がいつであつたかは、禁漁期間中に起つたことで明かでないが、7月の解禁日以後かなり急速にへい死がなくなつたと云うことは確からしい。伝染病だとすると7月以前に最盛期があつたことは確かであるが、それ以後の消退が余りに急激すぎはしないか、もう少し罹病貝、後遺症貝などがあつてもよいのではないかと思われた。生存貝の観察はそれらを見出すために行つたが、罹病貝などは残念ながら見られなかつた。
- ii) へい死貝にみられる細菌感染は1例を除いてすべて死後感染のもの様に思われる。その1例も生前感染であるとは云い切れない。何となれば生前に細胞浸潤反応があり、死後感染したとも見られるからである。
- iii) 重要な所見である間質の増殖や細胞浸潤を来している部位に細菌がみられないことは間質の病変と細菌感染とは関係ないことを示すものであろう。
- iv) ヴィールス性疾患であるかもしれない。細菌の発見出来ない炎症性変化がヴィールス性であることは当然考えられる。然しこれは多分伝染病経過を示してもよい様に思う。余りに急激なへい死率の低下はヴィールス伝染病ではないことを示すものであろう。
- v) 寄生虫、寄生生物とは考えられない。Protozoa (原生動物) の存在も考えられない。
- vi) 現在得られている資料は結論出来ないが、非伝染性の炎症によるものではないであろうかと推測される。種々な物理的な刺激、化学的な刺激、毒物や劇薬などによる炎症ということも考えられる。これらの作用は急激であれば殆ど常に即死せしめて、この時は病理的反應を殆ど残さない。作用がある程度ゆるやかであれば炎症反應を来し、致死的にもなりうる。更に作用が軽度であれば生体はこれに耐えて、殆ど反應を示さずに経過しうる。これに反して細菌性或はヴィールス性であればへい死は急には起り得ず、常に病理的反應を残さねばならない。

III P.C.Pで中毒死せしめたセタジミの間質変化について。

1. 研究目的

1960年琵琶湖に於けるセタジミの異常な大量へい死を来した原因を探究中、そのへい死貝

のある個体の間質に細胞の増殖を来しているもののあることを発見した。この症状は、組織学的検査の中で最も顕著で、明確な、死貝に遺された症状であつて、これがへい死の原因と関連があるのではないかと推測した。然し、その原因は何かと云う手がかりはこの所見からは得られなかつた。

へい死の原因としてはいろいろなものが考えられ、その中のあるものは他の種々な条件や調査結果から否定されうるが、吾々はたまたまその年度の、而も丁度へい死の起つた時期に相当して使用された農薬P・C・Pもその一つとして考えられるかもしれないと考えた。P・C・Pで中毒死せしめた貝にもし同様な間質変化が起れば、それでP・C・P問題もある程度解決がつくであろう。逆にもし、この変化がP・C・Pで起らなければ、P・C・Pは考えられる原因から除外されうるわけである。それで、P・C・Pで中毒死せしめた貝の組織学的検査を行つた。

2. 研究材料

この研究に用いた資料はオ16表に示した。これは前述のP・C・Pの貝類に及ぼす毒性試験36年度実験で供試したものである(オ5表参照)。所定の濃度のP・C・P液に健康な貝を入れて、一定時間後にその一部を採り上げて、その中で死んでいたもののみを集めて材料としたものである。

オ16表 材料、処理P・C・P濃度及び浸漬時間など。

No.	採集年月日	P・C・P中毒死実験開始月日	ホルマリン固定年月日	P・C・P濃度 ppm	浸漬時間 (時)	平均体形			
						殻長 _{cm}	殻高 _{cm}	殻巾 _{cm}	重さ _g
1	36.5.27	36.5.29	36.6.2	1 ~ 0.5	96	1.33	1.31	0.93	1.39
2	"	"	"	1 ~ 0.3	96	1.87	1.93	1.28	3.61
3	"	"	36.6.3	1 ~ 0.05	120	1.29	1.30	0.93	1.19
4	"	"	"	1 ~ 0.3	120	2.13	2.15	1.42	4.73
5	36.6.3	36.6.5	36.6.7	0.25 ~ 0.05	48	1.29	1.30	0.93	1.19
6	"	"	"	0.26 ~ 0.10	48	2.13	2.15	1.42	4.73
7	"	"	36.6.8 ~36.6.9	0.25 ~ 0.05	72~96	1.29	1.30	0.93	1.19
8	"	"	36.6.8	0.26 ~ 0.10	72	2.13	2.15	1.42	4.73
9	"	"	36.6.9	0.26 ~ 0.10	96	2.13	2.15	1.42	4.73
10	"	"	36.6.10	0.25 ~ 0.05	120	1.29	1.30	0.93	1.19
11	"	"	"	0.26 ~ 0.10	120	2.13	2.15	1.42	4.73
12	36.6.10	36.6.12	36.6.13	0.15 ~ 0.05	24	1.27	1.29	0.91	1.17

P・C・P濃度はある幅が示されているが、この範囲内の数段階の既知所定濃度の液を作つた。この液に初め多数の貝を入れておき、一定時間間隔でその中の一定数を採り上げ、剖見して、一定の判定条件を定めておき、それに照し合せて、死んだとみとめられるもののみを集めた。従つて浸漬時間以内に死んだものも加つているわけである。濃度に種々なものがあること、へい死時間は浸漬時間よりも短い可能性のあることは、得られた結果の批判に重要な役割を果すことになるだろう。

被検個体数は次の様である（才17表）。合計106個

才17表

No. 1	15ケ	No. 5	10ケ	No. 9	6ケ
" 2	13	" 6	12	" 10	7
" 3	10	" 7	5	" 11	5
" 4	10	" 8	6	" 12	7

3. 研究方法

剖見して死んでいると判定されたものはホルマリン固定した。既述の方法でセロイジン切片とし、ヘマトキシリン-エオジン染色して、組織学的に検査した。これらの方法は1960年のへい死貝及び健全貝を検査した場合と全く同様である。切片を作る場合に貝体の種々な位置で切片とし、各レベルで2~3枚の切片をとり、検鏡した。従つて1個体当り10~20枚宛の切片をとつて調べたことになる。これは予備実験で組織変化がある部位に限局して存在していること、従つて切片の位置（レベル）によってはこれを見逃すこともありうることに気付いたからである。例えば貝体の周辺に近いレベルで切つた標本には変化があるのに、中心部には何も所見がないということもあつた。

4. 研究結果

組織学的検査は主として間質の変化を目標とし、その外中腸腺、生殖腺、筋、消化管なども併せて調べた。間質の変化は次の4段階に分けて記録した。

- 1 組織像が正常なもの。所見なし。正常。 (一)
- 2 正常か多少変化があり、判定のむつかしいもの。 (±)
- 3 組織の一部にはつきりとした変化があるもの。
或は間質全般に軽度の変化があるもの。 (十)
- 4 間質全体にひどい変化のあるもの。 (++)

こうして集計した結果は才18表に示した。「組織学的変化」とは間質細胞の増殖、或は細胞浸

才18表 所見結果

No.	N	一	±	十	++
1	15	2	1	11	1
2	13	6	2	5	0
3	10	2	2	5	1
4	10	4	2	3	1
5	10	8	0	1	1
6	12	11	0	1	0
7	5	1	2	0	2

潤で、細胞核の分布密度から判断出来るし、油浸系検鏡によつて核の形状の相違などを検した。これらの観察から、起つていた変化は1960年に湖水から採集したへい死貝の所見と極めてよく似た症状が見られた。これらの所見上特に気のついた点を述べれば次の様である。

5 考 察

1. 結論的に云つてP.C.P処理して殺した貝の間質

8	6	4	1	1	0
9	6	1	0	4	1
10	7	6	0	1	0
11	5	2	1	2	0
12	7	6	1	0	0
計	106	53	12	34	7

には、1960年に湖水でへい死した貝と同様な変化が起つていることが見られた。P・C・Pで殺したものの中には軽度から重篤なもの迄見られた。これに対して1960年へい死貝では重篤なもののみを観察した様に覚えている。これは観察者の不馴れのため、重篤なもののみを対象として、軽度のみは見逃したためかもしれない。然し、P・C・P処理で重篤な症状を示した

ものは1960年のへい死貝のそれと全く同じ印象を受けたし(十)の部分的な変化を来しているものでも、その変化は昨年のもので殆ど同じ状態にあることが見られた。

一般に生物は違つた原因に対しても同じ様式で反応するものであるから、同じ病理組織像が見られたからといつて、原因も同じであると云うわけにはいかない。

2. 表18から明らかな様にP・C・P処理で死んだ貝のすべてに同じ症状が起つているわけではない。その理由は何か。先ず、もしP・C・Pの濃度が高ければ、鰓や心臓は迅速に障害されて、ひいては貝全体の死を来すだろう。貝体は直接P・C・P液に浸されているわけであるから、その部分からも死が進行してゆくかもしれない。吾々が貝の死の判定に用いた沢山の規準は多くの場合、むしろ速かに障害され易いものである。間質増殖は生きている個体でのみなる病理反応である。死が速かに進行したものであれば間質増殖は起されないのであろう。本資料では各No.の中には濃いものも薄いものもあるから、濃いのが故に間質変化を遺さずに死んだと見られるものもありうる。

また逆にP・C・Pが極く低い濃度の時も間質増殖は起り得ないのであろう。然しその低いP・C・P液も、間質よりも鋭敏な組織、例えば鰓や神経系や心臓へ作用して、死を来さしめるかもしれない。この時も間質増殖は起らないだろう。

間質へのP・C・Pの作用(と云うものがあると考へて)はどうしても間接的ではないだろうか、とも考えられる。例えば吾々が塩素ガスを吸入した場合、気道(鼻、咽頭、喉頭、気管、気管枝)などは直接にガスに接するし、肺もそれに作用されて、直ちに炎症を与えるだろう。然しそれより奥の他の組織へは直接には作用し得ない。浸透してか、血液を介してのみ達しうる筈である。もし死が早く来れば気道や肺だけの症状しか残されないことになるであらう。人などではこれらの部位の変化はかなり著明で観察は容易だが、貝のこの様な上皮の変化は観察し難い。P・C・P液に浸した貝の軟部表面、鰓、消化管壁などは多分ある変化を来しているのであろうが、実際に云つてこれは検出しにくい。これらのP・C・Pと直接に触れる表皮を経て更に間質へ作用し、変化を起させるためには、ある時間が必要であることは明らかである。表9、10、11表を見ると、No.5と6は48時間であるのに各々1例宛(十)変化を示していた。これに対してNo.12の24時間処理では(±)が一例あるだけである。それで間質変化が起るためには多分少なくとも48時間以上は必要であらうと云うことになる。少なくともその時間だけは貝は生きていなければならぬ。

結論として、P・C・Pがある濃度幅の中にあり、それよりも薄すぎもせず、薄すぎもせず、而もその中である時間以上生存した時に間質変化を残しうるということになるだろう。このことから見て、種々な濃度のP・C・P液に、種々な時間浸して殺したすべてのものに間質増殖を期待することは理論的にも正しくない。

3. 沢山の間質増殖の観察例から、間質増殖の起り方には二種類あることが知られた。

(i) 間質増殖変化は屢々消化管に接して限局的に起つているのが見られた。この場合病変部位はかなりはつきりと限定されているものもあつたし、周辺がdiffuseに正常な組織へと移行しているものもあつた。多分この様な局在的な変化が次第に間質全体へ拡がってゆくのであろうが、そうなる前に死を来したものであろう。

(ii) これに対して、間質全体に一樣に、広く、軽度の間質の細胞増殖を来しているものもあつた。低倍率では正常と見えても高倍率では明かに病変とみられるもの、(H)と(出)との間の種々な段階にあるものも見られた。この場合、場所によつて、他の部分よりも強く変化が起つている様な時もある。

最も顕著なものは間質全体に亘つて、間質がひどく増殖しているもので、この像は1960年琵琶湖で採集した死貝の像と全く同じであつたし、染色性の不均性などもよく似ていた。間質増殖の二つの発展方途を経て、結局はこの(H)状態に到達するのであろう。

4. 増殖した細胞の核の形状は、変化の時間的長さとは変化の程度とに關連がある様である。一般に云つて、(H)の症状、特に全体に軽度の変化を来した場合のものでは、核は円形で、形態がかなりよく揃つている。これは多分細胞増殖が始つてかなり新しいものであることを示すものであろう。これに対して(H)のものでは、前述(示)した様に、種々な形の核が混在していた。即ちPolymorphであつた。これは多分新旧細胞が混在していることを示すもので、その変化に達するまでに長い時間を要していると見てよいであらう。

5. その他気付いた所見

標本の染色性が異常なものは多くの場合(H)か(H)の標本であつた。逆に間質の正常なものは染色性も亦正常であつた。この理由は明かでない。

中腸腺も常に観察したが、間質の病変を示しているものでは屢々中腸腺の小葉の境界が不鮮明になつているもの、その小葉構造が乱れているもの、無構造になつているもの、その外に、染色性が悪くて、淡くしか染らないものや灰白色を呈して、染つていないものなどがある。斯様な病変や染色変化を示す理由は明かでないし間質の変化との相関も必ずしも明確でない。これがP・C・P除草剤によつて起つたと断定は出来ない。むしろ死後変化、Autolyseなどが影響しているのかもしれない。

6. 結 論

1. セタジミを種々な濃度(0.05~1 ppm)のP・C・P除草剤液に種々な時間(24~120時間)浸して殺した後、組織学的変化を検査した。

2. P・C・P中毒死したものの中には間質の細胞増殖を来しているものがかなり多数認められた。
3. その細胞増殖の組織像は1960年湖水で大量へい死したもので見られたものと全く同様な所見であつた。但しこのことから逆に1960年へい死の原因をP・C・P除草剤であるとするわけにはいかない。この論議は別な面から考察してゆかねばならない。

要 約

昭和35年6月下旬～7月上旬にかけて、発生発見された琵琶湖及び周辺水域における魚介類特にセタジミの大量へい死被害の原因究明のため、現場調査並びにへい死の有力原因と考えられたP・C・P除草剤の湖産貝類に及ぼす毒性試験及びへい死貝の病理学的研究を昭和35年度、昭和36年度の2ケ年度に亘つて実施し、以下の諸点を明らかにした。

1) 現場調査

- イ) へい死発見後可及的速やかに実施した現場調査の結果、底層水、底土中にいずれも有害と思われる異常成分は何等見出されなかつた。
- ロ) P・C・P除草剤もサフラニソーO法³⁾で分析したが検出しなかつた。
- ハ) 底土の生物試験から底土中にへい死原因となる有害成分が存在することは認められなかつた。

2) P・C・P除草剤の貝類に及ぼす毒性試験

ニ) P・C・P除草剤の湖産貝類に対する120時間T・L・M(35年度)は

セタジミ	0.22	P・P・m
イシガイ	0.38	・
イケチヨウガイ	0.40	・

でセタジミがP・C・P除草剤に対して最も弱いことが判つた。

- ホ) セタジミでの実験で供試貝類の状態によつてP・C・P除草剤の毒性に対する抵抗性に著しい強弱のあることが認められた。
- ヘ) 環境条件によりセタジミの活力が弱つている場合、P・C・P除草剤の毒性が正常の場合よりも著しく強く作用してへい死をひき起す可能性が考えられる。
- ト) 産卵期におけるセタジミのP・C・P除草剤に対する抵抗性の低下はそれほど顕著なものではない。
- チ) 体型の異なるセタジミについての生物試験結果からみて体型による抵抗性の差は僅かであると考えられる。
- リ) 各時期各体型のセタジミについてみると、P・C・P除草剤に対する抵抗性は正常のセタジミ > 産卵期大型セタジミ > 産卵期小型セタジミの順になる傾向が認められた。

3) 病理学的検査

- ヌ) 寄生虫細菌などは生貝及び死貝から発見されないから死因とは考えにくい。ウイルスと云う

ことはありうるかもしれないが、これは疾病の経過から否定されるだろう。

- ル) 大量へい死がかなり広範囲に、一時に起つていたことは、伝染病か、それともこれらの広い範囲に同時に働きうるある原因によると考えられる。
 - ヲ) 大量へい死がかなり急に起り、そして極めて急速に終熄したことは、それが細菌やウイルスの感染によるものでないことを示す。
 - ワ) 昭和35年度の研究によりへい死具には一様に間質の病理的変化が特徴的に起つていることが明らかになった。
 - カ) 昭和36年度においてP・C・P除草剤で致死せしめたセタンジミの間質に同様な病理的変化の起ることが明らかに認められた。
 - コ) 従つて外に原因がなければ昭和35年度の琵琶湖周辺におけるセタンジミのへい死はP・C・P除草剤によつても考えられる。
- 4) 以上の諸点を総合して昭和35年におけるセタンジミのへい死はP・C・P除草剤による公算が大であると考えられる。

引用文献

- 1) 水沼栄三：滋賀県水産試験場研究報告 10号 p85 (1959)
- 2) 箕田冠一・有馬武司・水沼栄三：滋賀県水産試験場業務報告 13号 p44-54 (1961)
- 3) W.T. Haskins Anal. chem. 23 1676 (1951)
- 4) 水沼栄三：滋賀県水産試験場研究報告 10号 p84-89 (1959)
- 5) 水沼栄三：滋賀県水産試験場研究報告 12号 p 2-9 (1960)
- 6) 荒川 清：内海区水産研究所研究報告7(業績49) 12-15 (1955)
- 7) 水沼栄三：滋賀県水産試験場研究報告7号 (1956)
- 8) Doudoroff et al・町田喜弘訳 水産増殖 3.(2).1-23 (1955)
- 9) P・C・P使用要綱説明会資料 滋賀県 昭和36年3月 (プリント)
- 10) Hart, W.B., p. Doudoroff and J. Greenbank, water control Laboratory of Atl, Refining Co Philadelphia. 332., 43 figs (1945)
- 11) 浜崎幸雄・浜崎美寿：病理組織標本の見方と鑑別診断の付け方 南山堂, 東京・昭30.
- 12) 藤田 正・松原孝之・広川泰子・荒木文雄：日水誌, 19(6)・766(1953)
- 13) 藤田 正・松原孝之・広川泰子・荒木文雄：日水誌 20(12)・1063(1955)
- 14) 竹内卓三・松原孝之・広川泰子・築山 明：広島水試だより No.37 472-475(29.11.10)