養殖ハマチに寄生する囊虫に関する研究—XIV.

卵, 及び第 1 期幼生について

中島 健次*・江草 周三**

(昭和 47 年 7 月 22 日受理)

第 XII 報¹⁾において、*Callotetrarhynchus nipponica*²⁾ (仮称) の受精卵は、終宿主の螺旋腸内から海中に脱出した受胎節より産出されることを報告したが、本報では、本種の卵とその孵化実験によって得られた第 1 期幼生の形態および孵化率等について報告する。

材料および方法

姫路市立水族館において行なった parasite-free のドチザメを用いた囊虫感染実験 (第 XI 報³⁾ 参照) より、*C. nipponica* の受胎節が多数得られたが、これらのなかから、卵殻の形成された受精卵を充分に含有する受胎節 5 体を選び、これを Millipore filter (孔径 0.45μ) で濾過した天然海水約 5 ml を満した時計皿に収容して産卵させた。得られた卵は、直ちに、10 ml 容の尖底試験管に移し、遠沈と換水を繰返して洗浄し、可能な限り卵黄細胞等の夾雑物を除去した。これを材料として、これより無作為に 400~500 個ずつの卵をとり、それぞれ、無菌海水 5.0 ml を満した時計皿 10 個に移した。各時計皿は、海水の蒸発を防ぐために、滅菌水約 3 ml を注加したガラスシャーレ内に収容したのち、6 個は昼夜の別を与えるために、室温 $10.7\sim 20.3^{\circ}\text{C}$ の室内の窓際に放置し、他の 4 個は、恒温室 ($25.0\pm 1.0^{\circ}\text{C}$) 内に置いて、2 個に蛍光灯を連続照射し、残る 2 個は黒紙でシャーレ全体を包んで完全に遮光した。以上の条件下で 7 日後まで連日観察し、卵から第 1 期幼生が孵化する経過と各条件下における孵化率の経時変化を調べた。また、産出直後の受精卵および孵化した第 1 期幼生の形態と大きさを測定した。なお、実験に用いたガラス容器は、すべて乾熱滅菌処理を行ったものである。また、実験中、各時計皿の換水はしなかった。

結 果

受精卵の形態 受胎節より産出された受精卵は沈降性で、いわゆる卵形を呈しており、厚さ約 1μ の硬質の卵殻によって包まれている。一端に弁蓋が備わっているが極糸は認められない。受胎節の子宮内では、受精卵は白色不透明であるが、海水に接触すると数分以内に呈色し、黄褐色からさらに濃褐色に変る。この呈色現象は、受胎節をしばらく空中に放置しておいてもみられることがある。産出された受精卵の大きさは、生標本 20 個の平均で $45.8 (42\sim 48) \times 30.1 (27\sim 34)\mu$ である。

孵化の経過 受精卵は、すでに、卵殻形成以前より卵割が開始されており (図 1-A)、受胎節の子宮内で、定則通り、卵割期 (図 1-B)、桑実期 (図 1-C) を経て胞胚期 (図 1-D) にまで進んでいる。このため、海水中で受胎節の産卵孔が開いて、自然に産出された受精卵は、ほとんどが胞胚期のものであるが、一部に卵割卵や桑実卵も含まれている。

孵化実験の結果、本種の卵は、水温・光線に関係なく、海水浸漬後 (産卵後) 3 日目から卵内に胚子が形成されることが判明した。胚子は、3 対 6 個の胚鉤を有する不正球体で、繊毛の密生した胚殻に包まれており、卵内で活発に回転している (図 1-E)。但し、回転運動はときどき休止し、その速度も一定ではない。

* 三共株式会社生産技術研究所 (本研究は東京大学農学部水産第 2 講座在籍中に実施したものの一部である)。

** 東京大学農学部

図 1. 受精卵の発育と孵化の経過 (Development of the embryos of *Callotetrarhynchus nipponica*).
A: 遊離節の子宮内における卵殻未形成の受精卵, すでに卵割が始まっている (First stage of the fertilized egg in the uterus of the free proglottid, lacking the egg-shell). B: 卵割期の受精卵 (Cleavage stage). C: 桑実期 (Morula stage). D: 胞胚期, 海中に産出された卵の多くはこの段階に達している (Blastula stage). E: 産卵後 3 日で卵内に 6 個の胚鉤を有する coracidium が形成され, 弁蓋 (矢印) が明瞭となる (Coracidium formed in the operculated egg 3 days after spawning). F: coracidium の脱出初期. G: 同中期. H: 同終期 (F~H: Hatching process of the coracidium observed from 4 to 6 days after spawning).

表 1. 孵化率の経時変化 (Hatching rate of coracidia of *C. nipponica* in the sea water filtered with Millipore filter.).

条 件		検 番	体 号	供 試 卵 数	産 卵 後 経 過 日 数					7 日後の平均 孵化率 (%)
温 度	光 線				3 日	4 日	5 日	6 日	7 日	
室 温 (10.7 ~ 20.3°C)	昼 夜	1	466	0	13.5%	80.5%	88.4%	88.4%	} 94.2	
		2	453	0	17.2	85.4	90.1	90.5		
		3	561	—	20.7	—	—	96.3		
		4	408	—	—	92.6	—	97.5		
		5	510	—	—	—	99.2	99.2		
		6	435	—	—	—	—	93.1		
25 ± 1.0°C	連続照射	7	477	0	19.5	88.5	91.6	91.8	} 94.7	
		8	532	—	—	—	—	97.6		
	遮 光	9	554	0	24.4	91.5	98.2	98.2	} 96.5	
		10	421	—	—	—	—	94.8		

また、胚子の形も流動的に多少の変形があり、長径は約 $30\sim 45\mu$ の間で変動する。胚子の孵化は、表 1 に示したとおり、4 日後から始まり、4 日後の昼より 5 日後の昼にかけて最も盛んに行なわれ、6 日後にはほとんど終了した。例えば、検体 No. 1 では、4 日後の午前 9 時 30 分に 466 卵中 63 個 (13.5%) が孵化していたが、同日午前 10 時半に調べた同一条件下の No. 2 では 453 卵中 78 個 (17.2%)、同じく午後 1 時半に調べた No. 3 では 561 卵中 116 個 (20.7%) が孵化していた。さらに 5 日後には、午前 9 時に調べた No. 1 で 80.5% が孵化していたのに対し、午前 10 時に調べた No. 2 では 85.4%、午後 4 時に調べた No. 4 では 92.6% に達し、4 日後の昼より 5 日後の昼にかけて孵化が盛んであることがわかる。これより 6 日目までにはなおも若干の孵化が続くが、6 日後以降はほとんど孵化がみられなかった。全検体について 7 日後における最終累積孵化率を調べた結果、表 1 のとおり、室内で昼夜の別を与えた 6 検体では平均 94.2% ($88.4\sim 99.2\%$)、恒温室内で光線を照射した 2 検体では平均 94.7%、同じく遮光した 2 検体では平均 96.5% であり、3 者の平均は 95.1% であった。これより、*C. nipponica* の卵の孵化に光線は全く不要であり、また、少なくとも、室温 $10\sim 25^{\circ}\text{C}$ の間では、温度の影響もないことが判明した。胚子が卵を離脱 (図 1-F~H) するのに要する時間は一定でなく、6 体の観察例で約 10~80 分間であった。

第 1 期幼生の形態 卵から遊出した胚子、すなわち、第 1 期幼生は、繊毛の密生した胚殻に包まれた六鉤幼虫の特殊な型、いわゆる、coracidium である。本種の coracidium は半透明で、 $30\sim 35\times 28\sim 33\mu$ の不斉多角体であるが (図 2-A)、これをカバーガラスで圧扁するとほぼ正円形を呈し (直径 $42\sim 50\mu$)、6 個の胚鉤が明瞭に認められる (図 2-B)。胚鉤の長さは $10\sim 12\mu$ 、胚殻に密生する繊毛の長さは場所によって長短があり $10\sim 15\mu$ である。coracidium は、卵から遊出すると同時に、ほとんどのものが水面下へ浮上し、繊毛によって活発に遊泳するが、10~16 時間後には運動性が消失して水中を漂うままとする。しかし、なかには胚殻が破れていわゆる六鉤幼虫が出現し、時計皿の底面を胚鉤を活発に動かして移動するものもあるが、これも短時間で運動が停止した。

論 議

成書⁴⁾によれば、条虫類の卵は、厚い硬質の卵殻を有する Pseudophyllidean type と卵殻が薄いかまたは全くなく、産卵時にすでに胚子が形成されている Cyclophyllidean type とに大別され、前者は、卵黄腺の良く発達した条虫類、すなわち、Pseudophyllidea, Tetraphyllidea, Trypanorhyncha 等に特有なものであるとされている。従がて、本種の卵は、当然、Pseudophyllidean type に属するものである。また、卵の孵化に際しては、一般に光線・温度・酸素の 3 条件が関与するものとされ、特に、Pseudophyllidean type の卵においては、光線の役割が極めて重要で、光線によって、卵の弁蓋を開蓋させるある種の酵素が賦活化

図 2. Coracidium の形態 (Coracidium of *Callotetrarhynchus nipponica*) ($\times 800$)

A: 非圧扁の生活標本、不斉多角体である (Unpressed living specimen). B: 圧扁標本、繊毛の密生した胚殻内に 3 対 6 個の胚鉤が認められる (Pressed specimen).

されるものとされている。しかし、*Diphyllbothrium dalliae*, *D. ursi*, *Triaenophorus lucii*, *T. nodulosus* の4種は、例外的に暗黒中でも孵化することが知られており、HILLIARD (1960)⁵⁾ は、環境水中の塩分濃度が関与するものとしている。本種の卵も、孵化実験の結果から明らかなように、光線は必須条件でなく、Pseudophyllidean type の例外のひとつとなるものであるが、孵化に際して光線が不必要であることは、産卵後、光線の到達しない暗黒の海底まで沈下しても、そこで十分に孵化する可能性のあることを示唆しているものと思われる。

胚子の形成機序については、すでに、ROTHMAN (1966)⁶⁾ らの詳細な研究があるので、ここでは追求しなかったが、産卵後孵化までに要する日数は、*Lacistorhynchus tenuis*⁷⁾ と同じく4日であり、Pseudophyllidean type に属する卵の中では最も短かいもののひとつであると思われる。

孵化実験にあたり、当初は、天然海水をそのまま使用したのであるが、卵内に細菌が繁殖したり、遊出直前の胚子が破裂したりして極めて孵化率が悪かった。このため、すでに *Lacistorhynchus tenuis* の孵化に成功している Stanford 大学の N. W. RISER 教授に問合せたところ、Millipore filter で細菌を除去した海水を使用するようとの助言を得、これに従ったところ、上記のようは好結果を納めることができた次第である。ここに、RISER 博士に対して厚く御礼申し上げる。

要 約

Callotetrarhynchus nipponica の受精卵を無菌海水中に置き、第1期幼生の孵化する経過とその形態を調べた。その結果は次のとおりである。

1. 海中に産出された受精卵は大半が胞胚期のものであるが、一部に卵割卵や桑実卵もみられた。卵は沈降性である。
2. 産出後3日で卵内に6個の胚鉤を有する胚子が形成され、4~6日後に第1期幼生の孵化が行なわれた。
3. 孵化には光線が関与せず、10例の平均孵化率(7日後)は95.1%であった。
4. 第1期幼生は、六鉤幼虫の周囲を繊毛の密生した胚殻が包んでいる、いわゆる coracidium であり、遊出後、水面下に浮上して活発に繊毛を動かして遊泳する。

文 献

- 1) 中島健次・江草周三 (1972): 養殖ハマチに寄生する囊虫に関する研究—XII. 遊離節について、日本水産学会誌 (投稿中)。
- 2) 中島健次・江草周三 (1972): 養殖ハマチに寄生する囊虫に関する研究—XIII. 成虫の形態及び分類上の位置について、日本水産学会誌 (投稿中)。
- 3) 中島健次・江草周三 (1972): 養殖ハマチに寄生する囊虫に関する研究—XI. ドチザメの螺旋腸内における成虫の消長について、日本水産学会誌, 38 (9), 945~954.
- 4) SMYTH, J. D. (1969): The Physiology of Cestodes. 279 pp. Oliver and Boyd, Edinburgh.
- 5) HILLIARD, D. K. (1960): Studies on the helminth fauna of Alaska, XXXVIII. The taxonomic significans of eggs and coracidia of some diphyllbothriid cestodes. *J. Parasit.*, 46, 703~716.
- 6) ROTHMAN, A. H. (1966): Embryogenesis of Cestodes. *Adv. Parasit.* 4, 107-186.
- 7) RISER, N. W. (1956): Early Larval Stages of Two Cestodes from Elasmobranch Fishes. *Proc. Helminth. Soc.*, 23 (2), 120~124.

Studies on a New Trypanorhynchan Larva, *Callotetrarhynchus*
sp., Parasitic on Cultured Yellowtail—XIV.
Egg and Coracidium.

Kenji NAKAJIMA* and Syuzo EGUSA**

(* Sankyo Co. Ltd., Prod. Dev. Lab.; ** Fac. of Agr., Univ. of Tokyo)

Morphological observations were made on eggs and coracidia of *Callotetrarhynchus nipponica* (a tentative name proposed by us) and the hatching rates of coracidia were examined under different environmental conditions.

Fertilized eggs of *C. nipponica* are ovoid with opercula and $42\sim48\times27\sim34\mu$ in size. Unpressed living specimens of coracidia liberated from eggs are imperfect globular bodies of $30\sim35\times28\sim33\mu$ in size, with long cilia of $10\sim15\mu$ over the entire surface, though they appear disk-shaped under a cover glass. The embryonic hooks observed in coracidia are $10\sim12\mu$ in length.

Eggs which were mostly in the blastula stage were placed in 10 dishes filled with filtrated sea water. Out of the 10 dishes 6 were set under the window at room temperature ($10.7\sim20.3^{\circ}\text{C}$). The remaining 2 were kept under a fluorescent lamp throughout the experiment and the other 2 were covered with black envelopes. These 4 dishes were incubated at $25.0\pm1.0^{\circ}\text{C}$.

Three days after spawning, coracidia were formed in the operculated eggs in all dishes and, after 4 to 6 days, the liberation of the coracidia were observed. The hatching rate of coracidia was independent of light and temperature and was 95.1% in average of the 10 dishes at 7 days after spawning.