

サザエの酸素摂取

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 水産大学校 公開日: 2024-10-11 キーワード (Ja): キーワード (En): top shell; daily periodicity; hypoxia; temperature; oxygen uptake; oxygen utilization; ventilation; cilium 作成者: 山元, 憲一, 半田, 岳志, 河原, 邦昌 メールアドレス: 所属: 水産研究・教育機構
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2011872

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



サザエの酸素摂取

山元憲一^{1†}, 半田岳志¹, 河原邦昌²Oxygen uptake in the top shell, *Turbo (Batillus) cornutus*
(Gastropoda : Prosobranchia : Turbinidae)Ken-ichi Yamamoto^{1†}, Takeshi Handa¹ and Kuniaki Kawahara²

Abstracts : In the top shell, *Turbo (Batillus) cornutus*, the effects of daily periodicity, hypoxia and water temperature on the respiratory parameters were examined by measuring amount of oxygen uptake, oxygen utilization at the gill, ventilation volume in gill and activity of cilium of the gill. The top shell showed diurnal rhythm in which the amount of oxygen uptake, the ventilation volume, the activity of cilium and the critical point of oxygen uptake under hypoxia (Pc) decreased in the daytime (13:00–15:00) and increased in the nighttime (20:00–21:00). Pc increased with the rise in the water temperature : oxygen saturation 27% at 13°C, 42% at 19°C and 68% at 29°C. The ventilation volume and the oxygen utilization increased with the decrease of the oxygen saturation, but the activity of cilium decreased. Regardless of the acclimation temperature at 13–29°C, the amount of oxygen uptake, the oxygen utilization, the ventilation volume and the activity of cilium increased to 31°C with increasing the water temperature.

Key word : Top shell, Daily periodicity, Hypoxia, Temperature, Oxygen uptake, Oxygen utilization, Ventilation, Cilium

緒 言

サザエは我が国沿岸域の水産資源として最も重要な魚介類の一つである。近年、需要が増大し、資源量を増大させる必要性が一段と高まっている。本種は採集、畜養などの管理が比較的容易なことから、活魚輸送が盛んに行われ、生きた状態で店頭に並んでいる。本種についての研究は、多くは分布^{1–3)}、棘の形態、棘と環境要因および棘と遺伝の関係^{4–10)}、成長、産卵および成熟^{11–18)}、種苗生産の方法^{19–25)}などについてなされている。しかし、資源量の増大を図ったり、畜養や活魚輸送を行う際に必要な基礎研究の一つである呼吸生理については、宇野²⁾がサザエの日周期性に関する研究の中で酸素摂取量を調べているにすぎない。

サザエの仲間である腹足類については、多くの種類で酸素飽和の状態についての酸素摂取量が調べられている²⁶⁾。しかし、酸素摂取と活動の関係については *Nasaarius re-*

teculatus, *Monodonta turbinata*, *M. articulata*, *Gibbula richardi*, *G. ratilineata*で、酸素摂取に及ぼす低酸素の影響については *Crepidula fornicata*で調べられているにすぎない^{27–29)}。酸素利用率は、酸素飽和の状態については *Haliotis tuberculatus*, *Murex brandaris*, *Tritonium nodiferum*, *Doris tuberculata*で調べられているが、これに及ぼす低酸素の影響については *Busycon canaliculatum*で、水温の影響については *C. fornicata*で調べられているにすぎない^{30–32)}。また、換水量は *B. canaliculatum*で低酸素の影響について調べられているにすぎない³¹⁾。しかし、腹足類の鰓の換水は鰓の繊毛運動による繊毛ポンプで行われていることが知られている^{26, 33, 34)}が、腹足類の鰓の繊毛運動に及ぼす低酸素や水温などの環境要因の影響に関する研究は見当たらない。

そこで、著者らは、酸素飽和海水中で安静状態にあるサザエの鰓における酸素摂取やサザエの酸素摂取と鰓繊毛運動に及ぼす水温の影響について研究を進めてきた^{35, 36)}。本

2007年9月10日受付。Received September 10, 2007.

1 水産大学校生物生産学科 (Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University)

2 水産大学校水産学研究所 (Graduate School of Fisheries Science, National Fisheries University)

† 別刷り請求先 (corresponding author) : yamagenk@fish-u.ac.jp

研究では、サザエを用いて、酸素摂取量、酸素利用率、換水量および鰓の繊毛運動を調べることによって日周期性やこれらに及ぼす低酸素および水温の影響を調べた。

材料および方法

実験にはサザエ375個体を用いた。大きさは殻高 67.0 ± 8.3 mm (Mean \pm SD), 殻径 56.8 ± 3.3 mm, 体重 74.7 ± 5.8 g, 肉質部の湿重量 35.8 ± 5.7 g, 肉質部の乾燥重量 8.86 ± 0.78 gであった。サザエは山口県漁業協同組合より各実験で設定した水温の季節に購入し、ナイフとワイヤブラシで殻の付着物をきれいに除去し、100~200個体を水槽(200l)に入れ、各実験で設定した水温に調節した海水を20l/min注水した状態で、緑藻や褐藻を毎日十分量与えて1ヶ月以上飼育し、実験に供した。実験は、Fig. 1に示した装置を用いて、酸素摂取量の日周期性 (Test 1), 酸素摂取量、換水量、酸素利用率と鰓の繊毛運動の昼夜での差違および酸素摂取量に及ぼす低酸素の影響の昼夜での差違 (Test 2), 酸素摂取量、換水量、酸素利用率と鰓の繊毛運動に及ぼす低酸素の影響 (Test 3) およびこれらに及ぼす水温変化の影響 (Test 4) について調べた。各測定は、Test 1の場合を除いて全て、サザエを飼育水槽から取り上げて24時間絶食させた後呼吸室に入れ、酸素飽和した海水を呼吸室へ60~80ml/min流入させた状態で16時間経過させて開始した。呼吸室は、透明なアクリルで作製した直径75mm, 高さ75mmの円筒形で、底から15mmの所に5mm目合いのポリエチレン製の網を張り、底に回転子を入れたものを用いた

(Fig. 1)。Test 1では、朝の8時まで十分に餌を捕食させ、直ちに呼吸室に入れて2時間経過した後から1時間毎に86時間後まで連続して、水温 23.0 ± 0.2 °Cのもとで、15個体を用いて行った。なお、サザエを呼吸室に入れた後には、餌を与えず、朝夕2回呼吸室内の糞その他の排泄物をサイホンで静かに除去した。Test 2では、まず水温 28.0 ± 0.1 °Cのもとで13~14時と20~21時に酸素飽和の状態では酸素摂取量、換水量、酸素利用率と鰓の繊毛運動を20個体用いて測定した。次いで、水温 20.8 ± 0.1 °Cのもとで11~15時と18~22時の間にそれぞれ異なる20個体ずつ用いて、酸素飽和度を30分毎に順次7段階に窒素ガスの曝気によって (Fig. 1) 低下させ、各段階への低下開始から15分後に酸素摂取量の測定を行った。Test 3では、水温 13.0 ± 0.1 °C, 19.0 ± 0.1 °C, 28.0 ± 0.1 °Cのもとで9時から酸素飽和の状態では測定を行い、続いて前記と同様に窒素ガスの曝気によって1時間毎に順次酸素飽和度を低下させて、それぞれの水温について20個体ずつ用いて測定した。Test 4では、水温 13.0 ± 0.1 °C, 19.0 ± 0.1 °C, 28.0 ± 0.1 °Cのもとで9時から測定を開始し、1時間毎に3°ずつ順次上昇あるいは下降させて、それぞれの水温での上昇および下降について20個体ずつ用いて測定した。この時、酸素摂取量、換水量、酸素利用率の測定には同一の個体を用い、鰓の繊毛運動には別の個体を用いた。なお、Test 2~4での測定は、手術を施したサザエを呼吸室の底に設置した網のほぼ中央に十分にゆとりを持たせて糸で固定して行った。手術は、酸素摂取量、換水量、酸素利用率の測定では、しっかりと蓋を閉じさせた状態で蓋に当たらないように気をつけて、入水口と出水口が位置する殻の部位に直径4mmの穴をドリルで開けた (Fig. 2)。鰓の繊毛運動の測定に用いた個体では、殻に約25mm x 10mmの窓を開け、外套膜に約15mmの切れ込みを入れて鰓を露出させた。前記の一連の実験を進めるに先立って、手術の影響を知るために、鰓の繊毛運動を測定するための手術を施したサザエと手術を施さないもの (対照区) を用いて、水温 25.2 ± 0.2 °Cのもとで前記と同様にして酸素飽和度を低下させて、あるいは1時間毎に3°ずつ水温を上昇させて酸素摂取量を20個体ずつ用いて測定した。

測定が終了した個体は、濾紙の上に蓋の部分を下にして約30分間置き、殻の表面を乾かした後には体重を計測し、沸騰している海水に1分間浸して肉質部を取り出して殻と蓋の重量を計測した。肉質部は、105°で10時間乾燥させて、肉質部の乾燥重量を計測した。肉質部の湿重量は、体重から殻および蓋の重量を引いた値とした。

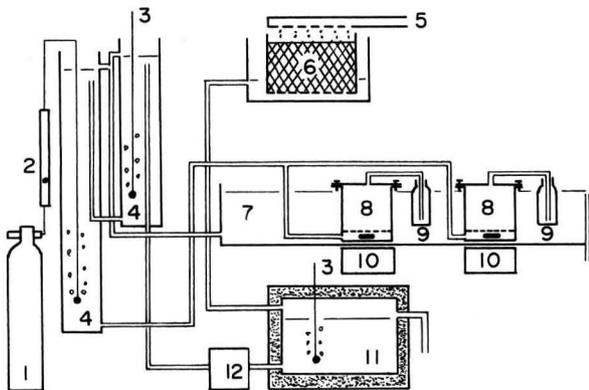


Fig. 1. Diagram of experimental system. 1: N₂ bottle, 2: flow-meter, 3: aeration, 4: equilibration column, 5: supply of sea water, 6: filter of chemical fiber, 7: constant-temperature water bath, 8: respiration chamber, 9: DO bottle, 10: magnetic stirrer, 11: water bath used to regulate the water temperature, 12: lift pump.

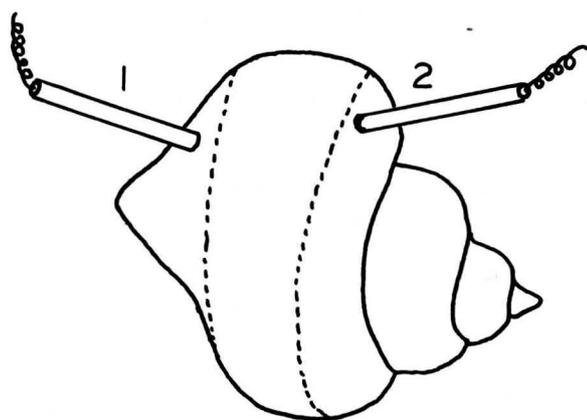


Fig. 2. Setting the electrode of oxygen pressure analyzer in hole on the shell of the top shell, *Turbo (Batillus) cornutus*. 1 and 2 show the holes to measure oxygen pressure of inspired water and expired water from the mantle cavity, respectively.

酸素摂取量

酸素摂取量 (\dot{V}_{O_2}) は、次の段階への酸素飽和度の低下開始20分前、あるいは次の段階への水温上昇または下降開始20分前にFig. 1に示した溶存酸素量測定用の瓶を新しいものに取り替えて採水し、サザエを入れていない呼吸室からの流出水の溶存酸素量 ($C_i, O_2, ml/l$) とサザエを入れた方の流出水の溶存酸素量 ($C_e, O_2, ml/l$) をウインクラー法で測定し、呼吸室からの流出水量 ($F, l/min$) から、 $\dot{V}_{O_2} = (C_i, O_2 - C_e, O_2) \cdot F / TW$ の式で計算し、体重当たりの値 ($ml/min/kg TW$)、肉質部の湿重量当たりの値 ($ml/min/kg WW$) および肉質部の乾燥重量当たりの値 ($ml/min/kg DW$) で表した^{35,36}。呼吸室への流入水の酸素飽和度は C_i, O_2 と塩分濃度 (35psu) を用いて酸素飽和量の表³⁷ から換算した。塩分濃度は海水濃度計 (サリニチス/Mill, アタゴ製) で測定した。

酸素利用率

酸素利用率 ($U, \%$) は、溶存酸素量測定のための採水の終了後、呼吸室の蓋を開け、サザエの出水口、入水口の順に殻に開けた穴に酸素電極 (ロング酸素電極125/05L, ダイヤモンドジェネラル製) を静かに7分間ずつ押し当て (Fig. 2)、酸素計 (ケミカルマイクロセンサー I, ダイヤモンドジェネラル製) を記録計 (MacLab/4, ADI製) に接続して酸素分圧を連続測定・記録し、それらの間の値を平均して外套腔からの出水の酸素分圧 ($P_e, O_2, mmHg$) とそれへの入水の酸素分圧 ($P_i, O_2, mmHg$) を求め、 $U = 100 \cdot (P_i, O_2 - P_e, O_2) / P_i, O_2$ から計算した^{35,36}。

換水量

換水量 (V_g) は、酸素摂取量 (\dot{V}_{O_2})、サザエを入れていない呼吸室からの流出水の溶存酸素量 ($C_i, O_2, ml/l$)、外套腔からの出水の酸素分圧 ($P_e, O_2, mmHg$) とそれへの入水の酸素分圧 ($P_i, O_2, mmHg$) の平均値を用いて $V_g = 1000 \cdot \dot{V}_{O_2} / [100 \cdot (P_i, O_2 - P_e, O_2) \cdot (C_i, O_2 / P_i, O_2)]$ から計算し、体重当たりの値 ($ml/min/TW kg$) および肉質部の湿重量当たりの値 ($ml/min/WW kg$) で表した^{35,36}。

繊毛運動

鰓の繊毛運動は、鰓弁の上に乗せたビニールの薄膜を円形に切り抜いて作製した小片 (直径 2 mm, 厚さ 0.3 mm) の移動速度を測定して調べた³⁶。小片の移動速度 (mm/min) は、ピンセットで鰓弁の付け根に小片を載せ、鰓弁の先端から落下するまでの時間を計測し、この値と小片を置いた鰓弁の部位の長さから計算し、この操作を12回繰り返し、平均で表した。測定は、呼吸室の蓋を開け、呼吸室への流入水を止めて行った。なお、測定は、酸素飽和度を低下させた実験 (Test 3) および水温を変化させた場合 (Test 4) では、これらの操作を次の段階への酸素飽和度の低下開始15分前および水温変化開始15分前から開始した。

結果

手術の影響

酸素摂取量は、酸素飽和の状態では手術を施した個体と対照区のものとの差違が認められなかったが、酸素飽和度を低下させると前者では対照区のものよりもわずかに小さい値を示して、酸素飽和度の低下に伴って減少した (Fig. 3)。

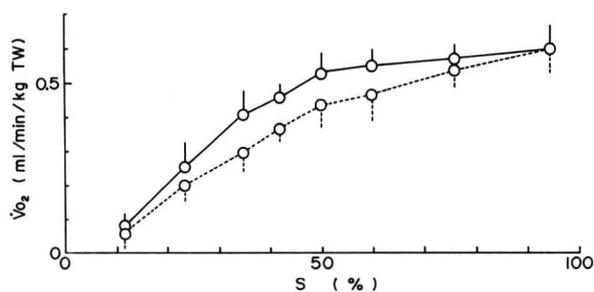


Fig. 3. Effect of the amount of oxygen uptake (\dot{V}_{O_2}) on the operation of opening the window on the shell of the top shell with the decrease of oxygen saturation (S). The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Open circles and solid lines are the results in the top shell with the window, and open circles and dotted lines those in non-operated top shell.

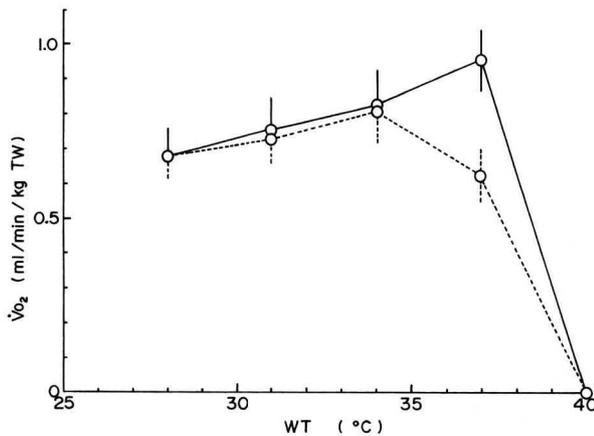


Fig. 4. Effect of the amount of oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) on the operation of opening the window on the shell of the top shell with the increase of water temperature (WT). The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Open circles and solid lines are the results in the top shell with the window, and open circles and dotted lines those in non-operated top shell.

水温を上昇させると、28℃から34℃に上昇する間では、酸素摂取量は、手術を施した個体と対照区のものとの差が認められず、いずれも水温の上昇に伴って増加した(Fig. 4)。しかし、37℃に上昇すると、両者に差異が生じ、対照区の個体では更に増加したが、手術を施した個体では減少した(Fig. 4)。実験終了後に飼育して観察すると、手術を施した個体と対照区のものでは、餌の捕食などを含めた行動に差が認められず、1ヶ月以上生存していた。

昼夜の差

酸素摂取量は、日中小さく夜間に大きくなる日周期変化を示し、1日の内で最大を示した夜間での酸素消費量の値は、サザエを呼吸室に入れた当日には $0.911 \pm 0.064 \text{ ml/min/kg TW}$ 、2日目には $0.804 \pm 0.072 \text{ ml/min/kg TW}$ 、3日目には $0.670 \pm 0.065 \text{ ml/min/kg TW}$ と減少し、それ以降にはその減少した値でほぼ一定し、1日の内で最小を示した日中の値は、当日には $0.720 \pm 0.073 \text{ ml/min/kg TW}$ 、2日

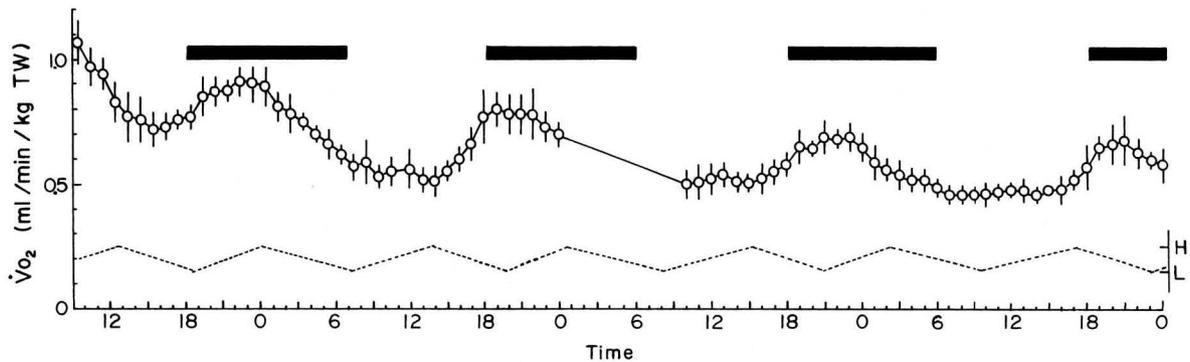


Fig. 5. Diurnal change of the amount of oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) in the top shell. Time is o'clock. The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Black bar is shown the time from sunset to sunrise. Broken line, H and L are shown the tidal cycle, the high tide and the low tide, respectively.

Table 1. Amount of oxygen uptake ($\dot{V}O_2$), oxygen utilization at the gills (U), ventilation volume (Vg) and activity of cilium at the gill (SP) in the daytime (13:00 to 15:00) and in the nighttime (20:00 to 21:00) at $28.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ in the top shell, *Turbo (Batillus) cornutus*.

	$\dot{V}O_2$ (ml/min/kg TW)	U (%)	Vg (ml/min/kg TW)	SP (mm/min)
Daytime	0.548 ± 0.083	63.1 ± 6.3	181	45.3 ± 5.6
Nighttime	0.704 ± 0.068	57.3 ± 7.2	258	53.7 ± 5.5

Vg was calculated with the mean value of amount of oxygen uptake, and of dissolved oxygen concentration of inspired water and expired water.

SP was shown with the moving speed of thin film (diameter 2 mm, thickness 0.3mm) on the gill surface.

TW is total weight of soft part under wet condition, shell and operculum. Values are shown as mean and standard deviation.

目には $0.508 \pm 0.063 \text{ ml/min/kg TW}$ と減少し、それ以降にはその減少した値でほぼ一定していた (Fig. 5)。一方、酸素消費量の変化と潮汐周期の間には、相関が認められなかった (Fig. 5)。これらのことから、低酸素の影響および水温変化の影響を調べる実験では、測定は、摂餌行動が始まる前の16-18時に飼育水槽からサザエを取り上げて24時間絶食させた後呼吸室に入れ、16時間経過した後、つまり合計40時間の絶食をさせた後の午前9時から開始して15時までに終了させた。

昼夜での差違をみると、酸素摂取量は夜間に日中の1.3倍、換水量は1.4倍、小片の移動速度は1.2倍に増加し、酸素利用率は4%減少した (Table 1)。酸素飽和度を低下させると、日中では、酸素飽和度が51%に低下するまでは酸素飽和の状態での値を維持し、更に低下すると減少したが、夜間では酸素飽和度が78%よりも低下すると減少した (Fig. 6)。以降、このように酸素飽和度の低下に伴って酸素摂取量が減少を始める時の酸素飽和度を P_c と表す。

低酸素

酸素摂取量は、酸素飽和の状態では水温 13°C で $0.23 \pm 0.04 \text{ ml/min/kg TW}$ ($0.66 \pm 0.12 \text{ ml/min/kg WW}$, $2.384 \pm 0.93 \text{ ml/min/kg DW}$), 19°C で $0.61 \pm 0.07 \text{ ml/min/kg TW}$ ($1.52 \pm 0.17 \text{ ml/min/kg WW}$, $5.69 \pm 0.63 \text{ ml/min/kg DW}$), 28°C で $0.78 \pm 0.09 \text{ ml/min/kg TW}$ ($1.96 \pm 0.23 \text{ ml/min/kg WW}$, $7.05 \pm 0.84 \text{ ml/min/kg DW}$)と水温が高いほど大きな値を示し、 P_c も 13°C で酸素飽和度27%, 19°C で44%, 28°C で68%と水温が高いほど大きな値を示した (Fig. 7)。酸素利用率は、酸素飽和の状態では水温 13°C で $45 \pm 12\%$, 19°C で $52 \pm 10\%$, 28°C で $51 \pm 6\%$ を示し、酸素飽和度の低下に

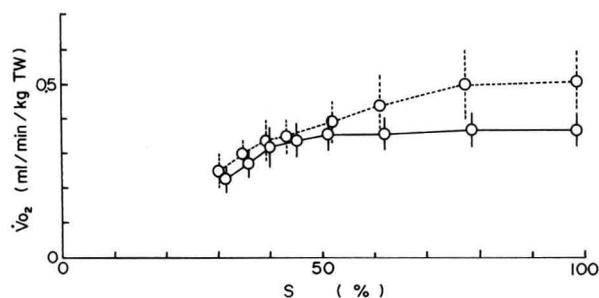


Fig. 6. Changes of the amount of oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) on the daytime (13:00 to 15:00) and the nighttime (20:00 to 21:00) with the decrease of oxygen saturation (S) in the top shell. The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Open circles and solid lines are the results at the daytime, and open circles and dotted lines those at the nighttime.

伴って増大したが、 28°C では酸素飽和度が54%より低下するとわずかに減少した (Fig. 8)。換水量は、酸素飽和の状態では水温 13°C で 86 ml/min/kg TW (184 ml/min/kg WW), 19°C で 182 ml/min/kg TW (453 ml/min/kg WW), 28°C で 330 ml/min/kg TW (826 ml/min/kg WW)と水温が高いほど大きな値を示し、酸素飽和度の低下に伴っていずれも増加して、 13°C では酸素飽和度17%で1.9倍, 19°C では28%で1.7倍, 28°C では39%で1.2倍の増加を示した (Fig. 9)。小片の移動速度は、酸素飽和の状態では水温 13°C

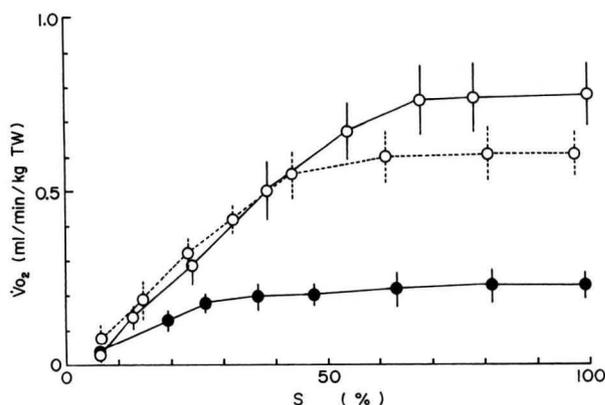


Fig. 7. Change of the amount of oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) with the decrease of oxygen saturation (S) in the top shell. The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Open circles and solid lines are the results at $28.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, open circles and dotted lines those at $19.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, and closed circles and solid lines those at $13.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

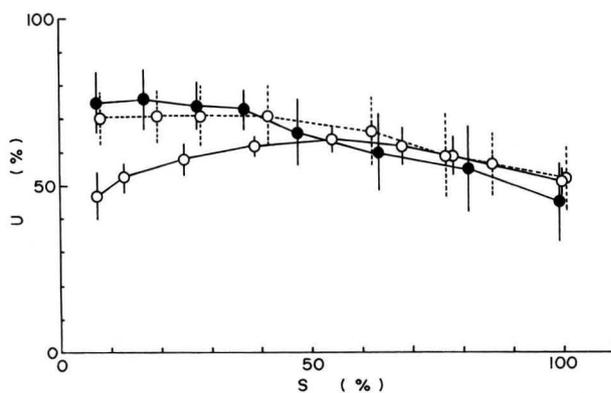


Fig. 8. Change of oxygen utilization at the gill (U) with the decrease of oxygen saturation (S) in the top shell. The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Open circles and solid lines are the results at $28.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, open circles and dotted lines those at $19.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, and closed circles and solid lines those at $13.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

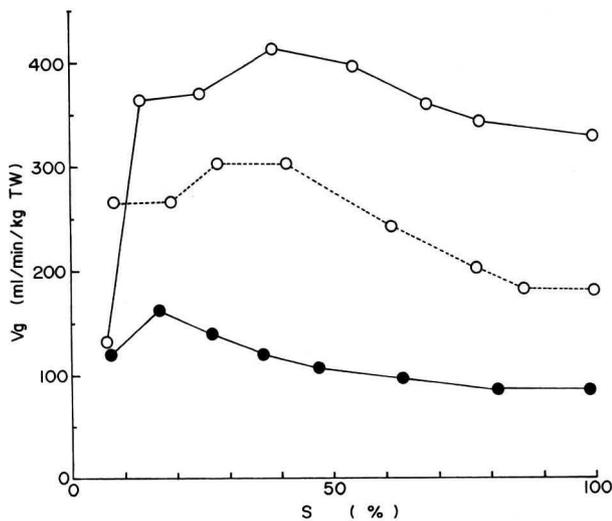


Fig. 9. Change of ventilation volume (V_g) with the increase of water temperature (WT) in the top shell. The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Open circles and solid lines are the results at $28.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, open circles and dotted lines those at $19.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, and closed circles and solid lines those at $13.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

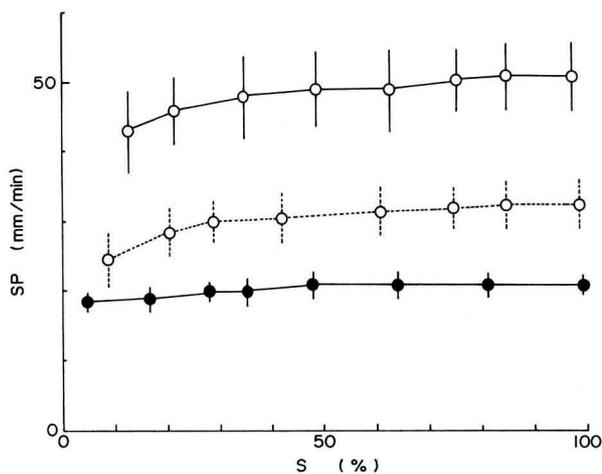


Fig. 10. Change of the activity of cilium at the gill (SP) with the increase of water temperature (WT) in the top shell. SP was shown with the moving speed of thin film (diameter 2 mm, thickness 0.3 mm) on the gill surface. The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Open circles and solid lines are the results at $28.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, open circles and dotted lines those at $19.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, and closed circles and solid lines those at $13.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

で $21.0 \pm 1.7 \text{ mm/min}$, 19°C で $32.5 \pm 3.5 \text{ mm/min}$, 28°C で $51.2 \pm 5.0 \text{ mm/min}$ と水温が高いほど大きな値を示し、酸素飽和度の低下に伴って徐々に減少した (Fig. 10)。

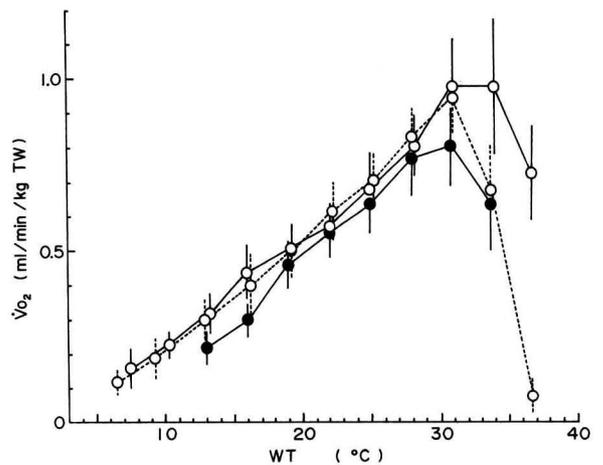


Fig. 11. Change of the amount of oxygen uptake (\dot{V}_{O_2}) with the increase of water temperature (WT) in the top shell. The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Open circles and solid lines are the results at $28.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, open circles and dotted lines those at $19.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, and closed circles and solid lines those at $13.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

水 温

酸素摂取量は、水温 13°C , 19°C および 28°C で飼育していた個体では、いずれの場合においても水温の低下に伴ってほぼ同じ値を示して減少し、水温が上昇するとこれに伴ってほぼ同じ値を示して増加して 31°C で最大を示した (Fig. 11)。酸素利用率は、水温 13°C , 19°C および 28°C で飼育していた個体では、いずれの場合においても水温の低下に伴って減少し、水温が上昇するとこれに伴って増大した (Fig. 12)。

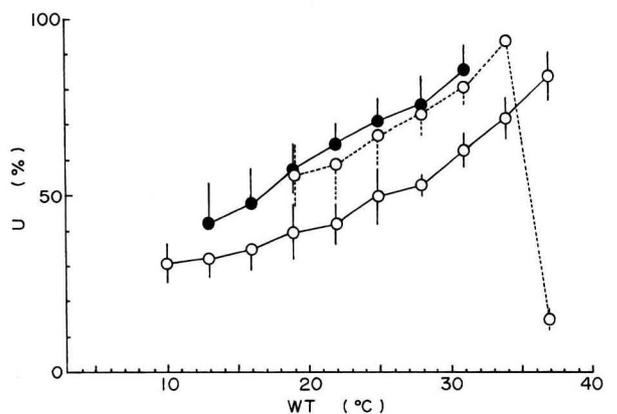


Fig. 12. Change of oxygen utilization at the gill (U) with the increase of water temperature (WT) in the top shell. The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Open circles and solid lines are the results at $28.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, open circles and dotted lines those at $19.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, and closed circles and solid lines those at $13.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

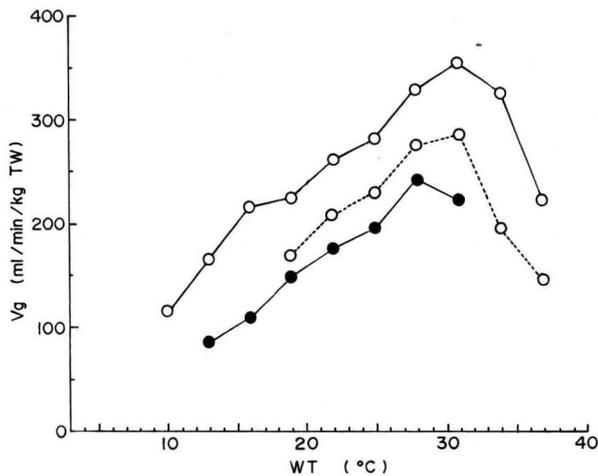


Fig. 13. Change of ventilation volume (V_g) with the increase of water temperature (WT) in the top shell. The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Open circles and solid lines are the results at $28.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, open circles and dotted lines those at $19.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, and closed circles and solid lines those at $13.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

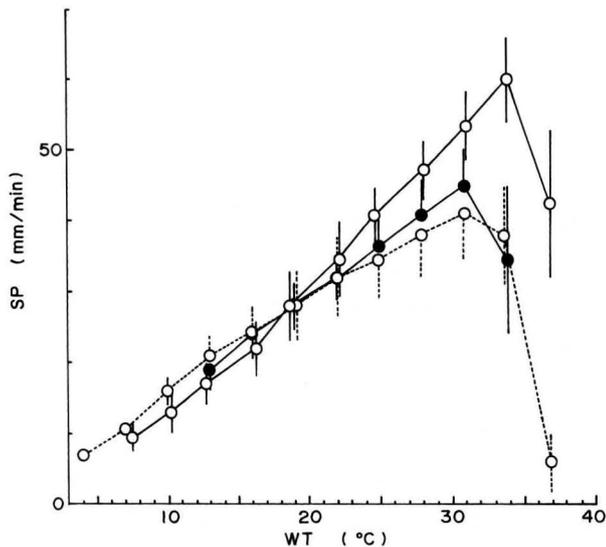


Fig. 14. Change of the activity of cilium at the gill (SP) with the increase of water temperature (WT) in the top shell. SP was shown with the moving speed of thin film (diameter 2 mm, thickness 0.3mm) on the gill surface. The results are shown in the mean values (circles) and the standard deviations (vertical bars). Open circles and solid lines are the results at $28.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, open circles and dotted lines those at $19.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$, and closed circles and solid lines those at $13.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

換水量は、水温 13°C 、 19°C および 28°C で飼育していた個体では、いずれの場合においても水温の低下に伴って減少し、水温が上昇するとこれに伴って増加して $28\sim 31^\circ\text{C}$ で最大を示した (Fig. 13)。小片の移動速度は、水温 13°C 、 19°C

および 28°C で飼育していた個体では、いずれの場合においても水温の低下に伴って減少し、水温が上昇するとこれに伴って増加して $31\sim 34^\circ\text{C}$ で最大を示した (Fig. 14)。

考 察

酸素摂取量は、鰓の繊毛運動を調べるために殻に窓を開け、外套膜に切り込みを入れる手術を施した個体と対照区のものとの酸素飽和の状態ではほとんど差が認められなかったが、酸素飽和度を低下させると前者の方がわずかに小さい値を示していた。これらのことから、手術は、酸素飽和の状態では酸素摂取を行う上でほとんど影響していないと考えられるが、酸素飽和度が低下すると多少影響している可能性が考えられる。一方、水温を 28°C から上昇させても 34°C までは、手術を施した個体と対照区のものとの間には酸素摂取量に差が認められなかった。このことから、手術は、水温を多少上昇させても酸素摂取を行う上でほとんど影響していないと考えられる。実験終了後、餌の捕食などを含めた行動には、手術を施した個体と対照区の個体との間で差が認められず、1ヶ月以上生存した。以上のことから、換水量と鰓の繊毛運動の関係を見る場合には、酸素飽和の状態および水温を多少上昇させた場合においても手術の影響を考慮する必要がないと考えられるが、酸素飽和度を低下させた場合および水温を著しく上昇させた場合には考慮する必要があると考えられる。

酸素摂取量は、日中 ($9\sim 15$ 時) に小さく、 15 時以降には増加して夜間 ($19\sim 23$ 時) に最大を示し、夜明けにかけて減少する変化を示した。このような日周期性は宇野の報告²⁾と良く一致している。宇野²⁾は、夜間における酸素摂取量の増加は行動および摂餌の活発化に伴って要求される生理的現象であると推測している。酸素摂取量が運動量の増大に伴って増加することは、サザエと同じ腹足類である *Nasaarius reticulatus*²⁷⁾、*Monodonta turbinata*、*M. articulata*、*Gibbula richardi*、*G. ratilineata*²⁸⁾ で知られている。しかし、Crip²⁷⁾ は腹足類である *Nasaarius reticulatus* では、運動による代謝量の増加は摂餌刺激物質による興奮や摂餌による代謝量の増加に比較すると問題にならないほど小さいと報告している。本研究の結果でも、動き回ることのできない状態で調べた酸素摂取量、換水量および鰓の繊毛運動は日中よりも夜間に大きな値を示した。これらのことから、サザエは夜間には主に日周期リズムによる代謝量の増大によって酸素摂取量を増加させていると考えられる。

酸素飽和度の低下に伴って酸素摂取量が減少を始める時

の酸素飽和度 (Pc) は, 酸素摂取量が日中よりも大きな夜間には日中よりも高い値を示した。このように, 夜間酸素摂取量が増加し, それに伴ってPcが上昇することは, 多毛類でも知られている³⁸⁾。また, 水温が高いほど酸素摂取量が大きく, Pcも同様に水温が高いほど大きな値を示した。このような変化は, サザエと同じ腹足類の*Crepidula fornicata* の場合²⁹⁾ と良く一致している。Pc以上の酸素飽和度では酸素飽和度に関係なく必要量の酸素摂取が可能であるが, Pc以下になると酸素飽和度によって酸素摂取量が制約される, つまり活動余地が酸素飽和度の低下に伴って小さくなることが知られている³⁹⁾。これらのことから, サザエは, Pcが高い夜間のほうが日中よりも, また水温が高いほど高い酸素飽和度から酸素摂取に低酸素の影響が始まる, つまり低酸素に弱くなると考えられる。

酸素利用率は, 酸素飽和度が低下すると上昇した。この時, 換水量も増加した。この現象はサザエと同じ腹足類の*Busycon canaliculatum* の場合³¹⁾ と良く一致している。Herreid³⁰⁾ は, 無脊椎動物では, 低酸素下において, 酸素利用率を一定に保って換水量を増加させて, あるいは換水量を一定に保って酸素利用率を上昇させて水中からの酸素摂取を維持する型と両者の中間の3つの型があるとしている。このような分け方からすると, サザエは, 両者の中間の型を示すことが明らかである。水温を上昇させた場合にも, 換水量の増加に伴って酸素利用率を増加させて酸素摂取量を増加させていた。これらのことから, サザエは, 低酸素下で酸素摂取量を維持する場合や水温上昇などによる代謝量の増大に伴う酸素要求量の増大に対して換水量と鰓での酸素摂取の効率を同時に増大させて対応していると考えられる。

鰓の繊毛運動は, 酸素飽和度が低下するとわずかに減少した。サザエと同じ腹足類では鰓の換水は鰓の繊毛運動による繊毛ポンプで行っていることが知られている^{26,33,34)}。換水量は, 鰓の繊毛運動の変化からみると, 酸素飽和度が低下するとわずかに減少することになる。実際には, 換水量は増加した。二枚貝類では, 鰓の繊毛運動で鰓を換水させる水流を起こし, 換水する水量を殻および外套膜の開閉や入水口や出水口の開く大きさなどを総合して調節しているとされている⁴⁰⁻⁴⁵⁾。これらのことから, サザエでも, 外套膜をサイホン状にした入水口および出水口の口径の拡大, 外套腔内を流れる水の抵抗の軽減などによって換水量を調節して, 低酸素下での鰓の繊毛運動の活動度が低下したにも関わらずに換水量を増加させたと考えられる。一方, 水温の上昇に伴って換水量を増加させ, 鰓に載せた小

片の移動速度を増大させている。この場合にも, 水温の上昇に伴う鰓の繊毛運動の活動度の増大と同時に外套膜をサイホン状にした入水口および出水口の口径の拡大, 外套腔内を流れる水の抵抗の軽減などの調節を行って換水量を増加させていると考えられる。

酸素摂取量は13, 19および28℃で飼育していた個体では, いずれも水温の上昇に伴って増加して, 31℃で最大を示した。換水量は13℃で飼育していた個体では28℃で最大を示し, 19および28℃で飼育していた個体では31℃で最大を示した。酸素利用率は13, 19および28℃で飼育していた個体のいずれも31℃まで水温の上昇に伴って増大した。鰓の繊毛運動は, 13および19℃で飼育していた個体では31℃で最大を示し, 28℃で飼育していた個体では, 34℃で最大を示した。これらのことから, サザエは, 順応していた水温にほとんど関係なく, 31℃までの急激な水温上昇に対して対応可能な呼吸機能を有していると考えられる。

サザエの酸素摂取量を他の腹足類および魚類と比較するとTable 2に示したように, サザエは腹足類の中でもやや少ない方で, 魚類と体重当たりの値で比較するとハマチ*Seriola quinqueradiata*, マアジ*Trachurus japonicus*, コイ*Cyprinus carpio*, テラピア*Oreochromis niloticus*よりも小さく, ウナギ*Anguilla japonica*とほぼ同じ値を示している。しかし, 殻は酸素消費しないと仮定して肉質部の湿重量(WW)当たりの値で比較すると, ハマチやマアジとほぼ同じ値を示し, コイ, テラピアやウナギよりもはるかに大きな値を示している。サザエの酸素利用率は, 他の腹足類や魚類とほぼ同じ値を示し (Table 3), サザエの換水量は魚類とほぼ同じ値を示している (Table 4)。これらのことから, 酸素飽和の水中では, サザエは, 代謝量が腹足類の中では小さい方であるが, 遊泳性魚類であるブリやマアジと同程度の代謝量を示し, 魚種と同程度の換水量を示して換水し, この状態で鰓での酸素摂取の効率も魚類と同程度の高い効率で酸素摂取を行っていると考えられる。

一方, サザエは, 換水量を低酸素下において1.2~1.9倍に, 水温が上昇すると1.1~2.8倍に増加させた。魚類では, 低酸素下において, ウナギで4倍⁵³⁾ に, コイで13倍⁵¹⁾ に, テラピアで6~17倍^{55,56)} に, ニジマス*Salmo gairdnerii*で13倍⁵⁷⁾ に, 水温が上昇すると, ヌマガレイ*Platichthys stellatus*で4倍⁵⁸⁾ に増加させることが報告されている。このように, サザエにおける換水量の増加率は, 魚類よりも小さな値を示している。魚類では, 換水は発達した筋肉をもつ口および鰓蓋の運動で行っている。しかし, サザエでは, そのような換水機構は発達しておらず, 換水は繊毛ポンプの

Table 2 . Amount of oxygen uptake (\dot{V}_{O_2}) of gastropoda and teleost.

Species	WT		\dot{V}_{O_2}		Reference
Gastropoda					
<i>Turbo (Batillus) cornutus</i>	13	°C	0.22 - 0.23	ml/min/kg TW	Present study
			0.59 - 0.66	ml/min/kg WW	
			2.74 - 2.84	ml/min/kg DW	
	19	°C	0.61 - 0.62	ml/min/kg TW	
			1.46 - 1.52	ml/min/kg WW	
			5.69 - 5.73	ml/min/kg DW	
	28	°C	0.78 - 0.81	ml/min/kg TW	
			1.90 - 1.96	ml/min/kg WW	
			7.05 - 7.48	ml/min/kg DW	
<i>Lymnaea stagnalis</i>			0.18	ml/min/kg WW*	30
<i>Helix pomatia</i>	15	°C	0.33 - 1.33	ml/min/kg WW*	30
<i>Haliotis tuberculata</i>	24	°C	0.40 - 1.45	ml/min/kg WW*	30
<i>Pleurobranchaea meckelii</i>	24	°C	0.57 - 0.60	ml/min/kg WW*	30
<i>Cepaea vindobonensis</i>	20	°C	0.85 - 2.08	ml/min/kg WW*	30
<i>Zebrina detrita</i>	23	°C	0.87	ml/min/kg WW*	30
<i>Cepaea hortensis</i>	20	°C	1.33	ml/min/kg WW*	30
<i>Chilostrema lapicida</i>	15	°C	1.60	ml/min/kg WW*	30
<i>Helicella candidans</i>	23	°C	3.00	ml/min/kg WW*	30
<i>Deroceras agreste</i>	23	°C	3.23	ml/min/kg WW*	30
<i>Littorina irrorata</i>	32	°C	5.17	ml/min/kg WW*	30
<i>Busycon canaliculata</i>	21-23	°C	1.17	ml/min/kg DW	31
Teleost					
<i>Seriola quinqueradiata</i>	19.2	°C	1.72	ml/min/kg TW	46
	20.4	°C	1.93	ml/min/kg TW	47
<i>Trachurus japonicus</i>	16.5	°C	1.47	ml/min/kg TW	48
<i>Cyprinus carpio</i>	15.2	°C	0.51	ml/min/kg TW	49
	25.0-25.9	°C	0.90 - 1.20	ml/min/kg TW	50, 51, 52
<i>Anguilla japonica</i>	9.1	°C	0.15	ml/min/kg TW	53
	25.8	°C	0.6	ml/min/kg TW	53
	33.5	°C	1.15	ml/min/kg TW	53
<i>Oreochromis niloticus</i>	25.0	°C	0.6	ml/min/kg TW	54

*Modified to expression at the same unit in present study. WT is water temperature. WW and DW are wet weight and dry weight of soft part of the body, respectively. In gastropoda, shell and operculum are excluded from the weight.

Table 3 . Oxygen utilization at the gills (U) of gastropoda and teleost.

Species	U	Reference
Gastropoda		
<i>Turbo (Batillus) cornutus</i>	42 - 94 %	Present study
<i>Haliotis tuberculata</i>	48 - 70 %	30
<i>Murex brandaris</i>	38 %	30
<i>Tritonium nodiferum</i>	71 - 90 %	30
<i>Doris tuberculata</i>	64 - 69 %	30
<i>Busycon canaliculatum</i>	50 - 90 %	31
Teleost		
<i>Seriola quinqueradiata</i>	78 %	46, 47
<i>Cyprinus carpio</i>	76 - 90 %	49, 50, 51
<i>Anguilla japonica</i>	60 %	53
<i>Oreochromis niloticus</i>	85 %	54

Table 4 . Ventilation volume (Vg) of the topshell *Turbo (Batillus) cornutus* and teleost.

Species	WT	Vg	Reference
Gastropoda			
<i>Turbo (Batillus) cornutus</i>	13	°C 86 - 88 ml/min/kg TW	Present study
		184 - 187 ml/min/kg WW	
	19	°C 169 - 182 ml/min/kg TW	
		398 - 453 ml/min/kg WW	
	28	°C 330 - 331 ml/min/kg TW	
		792 - 826 ml/min/kg WW	
Teleost			
<i>Seriola quinqueradiata</i>	19.2	°C 462 ml/min/kg TW	46
	20.7	°C 500 ml/min/kg TW	47
<i>Cyprinus carpio</i>	15.2	°C 104 ml/min/kg TW	49
	25.0-25.9	°C 110 - 296 ml/min/kg TW	50, 51, 52
<i>Anguilla japonica</i>	9.1	°C 50 ml/min/kg TW	53
	25.8	°C 350 ml/min/kg TW	53
	33.5	°C 450 ml/min/kg TW	53
<i>Oreochromis niloticus</i>	25.0	°C 100 ml/min/kg TW	54

WT was water temperature. TW was total weight of soft part under wet condition, shell and operculum. WW was total weight of soft part, excluded the weight of shell and operculum.

働きによるだけである。このような換水機構の違いで、サザエは換水量の増加率を魚類のように大きくできないと考えられる。

魚類では、換水量が増加すると酸素利用率は減少することが一般に知られている⁵⁹⁾。しかし、サザエでは、換水量の増加に伴って酸素利用率も上昇させている。これらのことから、サザエは、酸素飽和度が低下した水中から酸素を摂取する場合および水温の上昇に伴う代謝量の増加に対して酸素摂取量を増加させる場合には、換水量の増加率を魚類のように大きくできないことを補うため、換水量の増加と同時に鰓での酸素摂取の効率も上げて対応していると考えられる。

要 約

本研究では、サザエを用いて、酸素摂取量、酸素利用率、換水量および鰓の繊毛運動を調べることによって日周期性、これらに及ぼす低酸素および水温の影響を調べた。サザエは、酸素摂取量、換水量、鰓の繊毛運動および低酸素下において酸素消費量の減少が始まる酸素飽和度 (Pc) を日中 (13:00-15:00) 低下させ、夜間 (20:00-21:00) 増大させる日周期を示した。Pcは水温13℃で27%、19℃で42%、28℃で68%と水温の上昇に伴って増大させた。換水量および酸素利用率は酸素飽和度の低下に伴って増大させたが、鰓の繊毛運動は減少した。酸素消費量、酸素利用率、換水量および鰓の繊毛運動は飼育水温 (13, 19, 28℃) に関係なく水温が31℃に上昇するまで増大した。

引用文献

- 岡田弥一郎, 藤田正: 日本産サザエ類 (リュウテン属) の分布に就いて. *ピーナス*, 10, 101-103 (1933)
- 宇野寛: サザエの増殖に関する基礎研究, 特に生態と成長の周期性とに就いて. *東水大特別研報*, 6, 1-76 (1962)
- 網尾勝: サザエ. 大島泰雄, 須藤俊造, 花岡資, 猪野峻 (編), *浅海養殖60種*. 大成出版, 東京, 272-277 (1965)
- 松井佳一, 内橋潔: 日本サザエの棘の差違とその分布に就いて (第二報). *動雑*, 53, 121-122 (1941)
- 猪野峻, 亀高洋介: サザエ (*Turbo cornutus* Salander) の食糧と環境に依る形態の変化について. *日水誌*, 12, 113-118 (1943)
- 山田正興: 鳥羽産および加田産サザエ *Turbo cornutus* Salanderの棘について. *動雑*, 56, 5-9 (1944)
- 猪野峻: サザエ (*Turbo cornutus* Salander) の生態学的研究, I. 環境の相違による棘の消長. *日水誌*, 19, 410-414 (1953)
- 網尾勝: サザエ *Turbo cornutus* Salanderの成長並びに棘の消長に就いて. *農林省水講研報*, 4, 57-68 (1955)
- Ino T: Ecological studies of the top shell, *Turbo cornutus* Salander, II. Relation between diet and coloration of the shell. *Bull Tokai Reg Fish Res Lab*, 22, 33-36 (1958)
- 小林辰至: 九州東海岸産サザエ (*Batillus cornutus*) の形態変異. *貝雑*, 53, 229-239 (1994)
- 阿部襄: 飛鳥産サザエ *Turbo (Batillus) cornutus* Salanderの成長について. *日本化育水研創立三周年記念論文集*, 7-14 (1952)
- 阿井敏夫, 野中忠, 佐々木正: サザエの産卵と発生, I. 産卵の行動観察の1例. *日水誌*, 30, 828-830 (1964)
- 阿井敏夫: サザエの産卵と発生, II. 産卵誘発と幼生の発達. *日水誌*, 31, 105-112 (1965)
- 辻秀二, 西村元延: 浦入磯根漁場へのサザエ人工種苗放流実験. *京都海洋センター*, 3, 18-25 (1979)
- 山本哲生, 山川紘: サザエ *Turbo (Batillus) cornutus* Salanderの生殖巣成熟に関する研究. *日水誌*, 51, 357-364 (1985)
- 葭矢護, 和田洋蔵, 桑原昭彦, 浜中雄一: 放流サザエの成長と生残. *日水誌*, 52, 41-47 (1986)
- 葭矢護, 桑原昭彦, 浜中雄一: サザエ稚貝の成長と生残に及ぼす生息環境条件の影響. *日水誌*, 53, 239-247 (1987)
- 葭矢護, 桑原昭彦, 浜中雄一, 和田洋蔵: 京都府青島地先におけるサザエの食性. *日水誌*, 53, 1359-1366 (1987)
- 寺尾百合夫, 角田信孝, 中村達夫: サザエの種苗生産研究. *山口外海水試事報*, 24-27 (1970)
- 松岡祐輔: サザエの種苗生産研究 (I), 産卵誘発と産卵期について. *京都府水試報*, 132-139 (1975)
- 松岡祐輔: サザエの種苗生産研究 (II). *京都府水試報*, 199-201 (1975)
- 岡部三雄: サザエの産卵誘発方法について. *京都海洋センター*, 6, 1-5 (1982)
- 翠川忠康: サザエの種苗生産試験. *和山増試報*, 13, 45-49 (1982)

- 24) 翠川忠康：サザエの種苗生産試験. 和山増試報, 14, 69-74 (1983)
- 25) 岡部三雄, 藤田眞吾：サザエ種苗の大量生産技術について. 養殖, 9, 122-126 (1985)
- 26) Ghiretti F : Respiration. In : Wilbur K M and Yonge C M (eds) Physiology of Mollusca, Academic Press, New York and London, 175-208 (1966)
- 27) Crip M. : The effect of activity on the oxygen uptake of *Nassarius reticulatus* (Gastropoda, Prosobranchia). *Malacologia*, 18, 445-447 (1979)
- 28) Houlihan D F and Innes A J : Oxygen consumption, crawling speed, and cost of transport in four Mediterranean inter-tidal Gastropods. *J Comp Physiol*, 147, 113-121 (1982)
- 29) Newell R C, Johnson L G and Kofoed L H : Effects of environmental temperature and hypoxia on the oxygen consumption of the suspension-feeding Gastropod *Crepidula fornicata* L.. *Comp Biochem Physiol*, 59A, 175-182 (1978)
- 30) Hazelhof E H : Uber die Ausnutzung des Sauerstoffs bei verschiedenen Wassertieren. *Z vergleich Physiol*, 26, 306-327 (1939)
- 31) Mangum C P and Polites G : Oxygen uptake and transport in the prosobranch mollusc *Busycon canaliculatum*, I. Gas exchange and the response to hypoxia. *Biol Bull*, 158, 77-90 (1980)
- 32) Newell R C and Kofoed L H : The energetics of suspension-feeding in the gastropod *Crepidula fornicata* L. *J mar biol Ass U K*, 57, 161-180 (1977)
- 33) Mill P J : 無脊椎動物の呼吸 (落合威彦訳), 東興交易医書出版部, 東京 (1978) : Invertebrate respiration. Macmillan Press, London and Basingstoke (1972)
- 34) Yonge C M : The pallial organs in the aspidobranch gastropoda and their evolution throughout the mollusca. *Phil Trans B*, 232, 443-518 (1947)
- 35) 山元憲一, 河原邦昌, 嶋田誠, 藤井淳, 寺戸寛史 : 酸素飽和海水中で安静状態にあるサザエの鰓における酸素摂取. 水産大研報, 44, 89-95 (1996)
- 36) 山元憲一, 河原邦昌, 藤井淳 : サザエの酸素摂取と鰓毛運動に及ぼす水温の影響. 水産大研報, 46, 33-37 (1997)
- 37) 日本海洋学会 : 海洋観測指針. 中央气象台 (編), 田中幸和堂, 東京, 174-180 (1955)
- 38) Sander F : A comparative study of respiration in two tropical marine polychaeta. *Comp Biochem Physiol*, 46A, 311-323 (1973)
- 39) Herreid II C F : Hypoxia in invertebrates. *Comp Biochem Physiol*, 67A, 311-320 (1980)
- 40) Hopkins A E : Experiments on the feeding behavior of the *Oyster Ostrea gigas*. *J Exp Biol*, 64, 469-494 (1933)
- 41) Jorgensen C B : Efficiency of particle retention and rate of water transport in undisturbed lamellibranchs. *J Cons Int Explor Mer*, 26, 94-116 (1960)
- 42) Jorgensen C B, Famme P, Kristensen H S, Larsen P S, Mohlenberg P S and Riisgard H U : The bivalve pump. *Mar Ecol Prog Ser*, 34, 69-77 (1986)
- 43) Jorgensen C B, Larsen P S, Mohlenberg F and Riisgard H U : The bivalve pump : properties and modelling. *Mar Ecol Prog Ser*, 45, 205-216 (1988)
- 44) 山元憲一 : アコヤガイの呼吸に及ぼす水温の影響. 水産増殖, 48, 47-52 (2000)
- 45) 葭矢護, 桑原昭彦 : サザエの生態研究とその応用, ③ 成長. 海洋と生物, 54, 52-56 (1988)
- 46) Yamamoto K, Itazawa Y and Kobayashi H : Gas exchange in the gills of yellowtail, *Seriola quinqueradiata* under resting and normoxic condition. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 47, 447-451 (1981)
- 47) Yamamoto K : Increase of arterial O₂ content in exercised yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Comp Biochem Physiol*, 98A, 43-46 (1991)
- 48) 山元憲一 : マアジの酸素消費に及ぼす低酸素の影響. 水産増殖, 39, 399-402 (1991)
- 49) 山元憲一 : *Peridinium* 赤潮下におけるコイの呼吸. 水産増殖, 34, 31-35 (1986)
- 50) Yamamoto K : Effect of formalin on gas exchange in the gills of carp *Cyprinus carpio*. *Comp Biochem Physiol*, 98C, 463-465 (1991)
- 51) 山元憲一 : コイの鰓換水に及ぼす低酸素の影響. 水産増殖, 39, 37-40 (1991)
- 52) Yamamoto K : Relationship of respiration to body weight in the carp *Cyprinus carpio*. *Comp Biochem Physiol*, 100A, 113-116 (1991)
- 53) 山元憲一 : ウナギの鰓におけるガス交換に及ぼす低酸素の影響. 魚雑, 34, 368-372 (1987)
- 54) Yamamoto K : Relationship of respiration to body weight in the tilapia *Oreochromis niloticus*. *Comp*

- Biochem Physiol*, 103A, 81-83 (1992)
- 55) Fernandes M N and Rantin F T : Respiratory responses of *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) to environmental reductions of dissolved oxygen. *Bol Fisiol, S Paulo*, 11, 51-60 (1967)
- 56) Fernandes M N and Rantin F T : Respiratory responses of *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) to environmental hypoxia under different thermal conditions. *J Fish Biol*, 35, 509-519 (1989)
- 57) Holeton G F and Randall D J : The effect of hypoxia upon the partial pressure of gases in the blood and water afferent and efferent to the gills of rainbow trout. *J exp Biol*, 46, 317-327 (1967)
- 58) Watters K W Jr and Smith L S : Respiratory dynamics of the starry flounder *Platichthys stellatus* in response to low oxygen and high temperature. *Mar Biol*, 19, 133-148 (1973)
- 59) Shelton G : The regulation of breathing. In : Hour W S and Randall D J (eds) *Fish Physiology*. Academic Press, New York and London, 239-359 (1970)