

国立真珠研究所報告

18

昭和49年(1974)5月

Bulletin of the National Pearl Research Laboratory

18

May 1974

国立真珠研究所報告 18 (1974)

内 容

- 和田浩爾・藤貫 正 軟体動物の生理調整における貝殻の形成と溶解の生理
I 環境水-外套液-貝殻間の化学成分の分配関係からみ
た水棲軟体動物による微量成分の貝殻への濃縮について……………2085
- 町 井 昭 アコヤガイ外套膜の組織片培養……………2111
- 桑谷幸正・西飯 保・和田克彦 冬季保温飼育されたアコヤガイの成長と成熟……………2118
- 山口一登・蓮尾真澄 黄色真珠の出現と真珠漁場との関係について……………2132
- 船 越 将 二 アコヤガイの血球について……………2140

軟体動物の生理調整における 貝殻の形成と溶解の生理

I. 環境水—外套液—貝殻間の化学成分の分配関係からみた 水棲軟体動物による微量成分の貝殻への濃縮について*†

和田 浩爾・藤 貫 正
国立真珠研究所 工業技術院地質調査所

現在、水産増養殖の対象となっている主な軟体動物は、浅海に棲息する極く限られた斧足類および腹足類であり、そのうち養殖種はすべて斧足類で、入江ないし内湾に設置された設置物から垂下して養殖する垂下形態のもとで飼育される。入江ないし内湾にある養殖漁場の環境水の塩分濃度や温度は、海洋水の塩分濃度にみられるように温度と一定の関係をとりながら常にほぼ平衡な状態にあるのちがって、陸水および降水の流入の影響を受け易く、場合によっては短時日の間にかなりの範囲で激しく変動を示すのがむしろ特徴であると言えよう。したがって、環境水の塩分濃度が変化すると、それに応じて生ずる浸透圧の変化に対して軟体動物は体内の塩類濃度を環境水とほぼ同じ程度に調整し、あるいは抵抗して相対的には独立した化学組成と濃度を保ちながら、塩類濃度や浸透圧の変化に耐えて生活すると思われる。しかも、塩類濃度などの環境変化に耐え得る適応性なり抵抗性は種が異なると相違し、移動能力の小さい種にとってこうした適応性や抵抗性の強さが個体の生命の存続に直接関係する。しかし、軟体動物の環境に対する適応性や抵抗性を規定する生理機能が体のどの場所で、どんな機構で調整されているかはほとんどわかっていない。

軟体動物は、体表および体腔をおおう上皮細胞を通して環境水から種々の成分を体内に直接吸収し、体内に貯蔵したり、外套膜外面上皮細胞より分泌して貝殻を形成したり、ある組織から体外へ排出したりする (Bevelander, 1952; Fretter, 1953; Jodrey, 1953; Asano et al., 1956; 田中・波多野, 1956; 堀口, 1957, 1958, 1960; 渡部・他, 1957; Kado, 1960; 生田, 1967; Romeril, 1971)。このうち、貝殻形成における外套膜の分泌機構については、Ca は外套膜電位の極性と大きさに依存して、外套膜を横切って環境水↔外套液 extrapallial fluid 間を移動すると報告されているが (Istin and Kirscher, 1968),

* Koji Wada and Tadashi Fujinuki. Physiological regulation of shell formation in molluscs. I. Chemical composition of extrapallial fluid. With English summary, pp. 2107-2108. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 18: 2085-2110. 1974.

† 国立真珠研究所業績 No. 205 (国立真珠研究所報告 18: 2085—2110. 昭和49年 5月)

外套膜の組織呼吸や脱炭酸酵素活性を阻害すると貝殻形成が減退すること (Jodrey and Wilbur, 1955; Wilbur and Jodrey, 1955), 二枚貝の外套膜上皮細胞, 特に外面上皮細胞, に種々の酵素の強い活性が認められること (Bevelander and Benzer, 1948; 辻井・町井, 1953; Kado, 1954; Beedham, 1958; Bevelander and Nakahara, 1966; 和田, 1973) などから, 貝殻形成にともなう外套膜外面上皮細胞の分泌にはエネルギー代謝が共役していると考えられている。しかし, 外套膜外面上皮細胞の分泌機構や外套液からの貝殻鈣物の成長機構が, 生理調整の一環として, 外套液の化学組成との関連で生理化学的に検討されていないため, 貝殻の形成と溶解がもつ生理的意義は究明されていない。

ところで, 貝殻物質を通してその生物の生活と棲息していた環境を推定しようとの試みは, 古生物学や地球化学の分野で盛んにおこなわれている (Odum, 1951; Chave, 1954; Lowenstam, 1961; Dodd, 1965, 1967; Hallam and Price, 1968; 太田・他, 1972; 小西・他, 1973; Omura et al., 1973)。それによると, 貝殻物質中の微量元素含有量は, 生物種, 環境海水の温度やその微量元素濃度, 貝殻鈣物の結晶形や貝殻組織構造などによって規定され, また元素によっては貝殻組織中に不均等に分布することが明らかになってきた。しかし, 生物種, 生理状態, あるいは環境水が相違した場合, 外套膜外面上皮細胞から分泌される外套液の成分組成に具体的にどんな差異をもたらし, その差異が貝殻の鈣物化を通して貝殻組織中の微量元素含有量をどのように規定するかは, 生物の代謝過程から究明されていない。こうした視角から「真珠層の結晶の大きさ, 形態, 累積状態などは上皮細胞の Ca 代謝量や環境水の温度に単純に規定されるのではなく, 生理的履歴の方向と密接に関係する Ca 代謝の相違にともなっておくる結晶成長の変化によってもたらされる」との和田(1972)の報告を検討することが, 真珠の品質形成機構をさらに明確にするためにも必要である。

本研究設定の目的は, 水中に棲息する軟体動物が環境変化に対して個体の生理状態を体のどの場所で, どんな代謝を土台として調整し, 環境に対して種独特の抵抗性なり, 適応性なり, また独立性なりを示しながら生活しているのか, 貝殻の形成と溶解が生理調整の一環としてはたす役割などを明らかにし, 真珠の品質を養殖管理したり, 硬組織を使って個体の生活履歴や生活環境を推定したり, また微量元素が硬組織中に取り込まれる機構から貝殻鈣物化の生化学的機構を解析するための基礎的知見を得ることにある。本報告では, その第1段階として外套液の化学組成を明らかにし, 環境水—外套液—貝殻間の化学成分の分配関係から, 二枚貝が代謝を通して微量成分を環境水から貝殻物質中へ取り込む際に関与する生物学的因子と物理化学的因子を抽出することにある。

材料と方法

1. 実験材料の採集

Table 1 に示したように, 棲息地, 貝殻の組織構造と結晶形などを考慮し, 淡水産二枚貝としてイケチョウガイ *Hyriopsis schlegeli*, 海産二枚貝としてアコヤガイ *Pinctada fucata*, マガキ *Crassostrea gigas*, およびヒオウギ *Chlamys nobilis* を実験材料として選んだ。イケチョウガイは滋賀県琵琶湖にある滋賀県水産試験場の試験池(松原)より同試験

場の室内水槽(八坂)へ実験前日に移動しておいた5~6年生貝であり、海産種はすべて三重県英虞湾にある真珠研究所多徳島臨海実験場前の海に筏より海面下約2m層に垂下しておいた3年生貝であった。なお、貝殻物質の分析は、以上の4種類のほかに多徳島周辺の海で採集したハボウキガイ *Pinna attenuata* の貝殻についてもおこなった。

1) 環境水

イケチョウガイを入れた室内水槽に流していた汲み上げ湖水およびアコヤガイ、マガキ、ヒオウギなどの海産二枚貝を垂下していた水深の海水をそれぞれの外套液を採液した期間中に採水、湖水は遠心分離(15,000xg)した上澄みを、海水は孔径0.8 μ のミリポアフィルターで濾過したものを試料水とした。

2) 外套液

外套液 extrapallial fluid は1971年9月7日と8日にイケチョウガイについて、1971年9月30日より10月8日にわたってアコヤガイとヒオウギについて、また1972年3月8日より17日にわたってアコヤガイとマガキについて採液した。外套膜組織片、体液、あるいは環境水が混入しないように注意しながら、長い注射針を貝殻内面に沿わせて貝殻内層と外套膜中心部との間に挿入、そこに分泌されていた外套液を注射器で採液した(Fig. 1の矢印)。

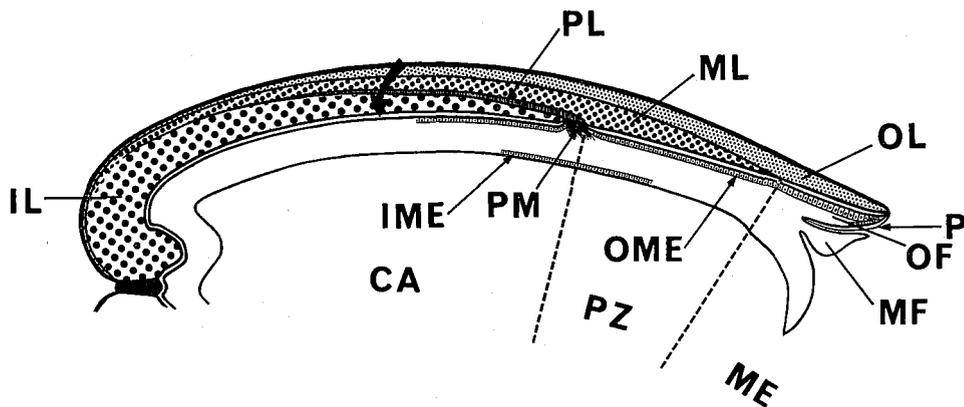


Fig. 1 Diagrammatic longitudinal section of mantle-shell preparation of bivalved molluscs showing the shell structural units. CA, central area, IL, inner layer; IME, inner mantle epithelium; ME, mantle edge; MF, middle fold; ML, middle layer; OF, outer fold; OL, outer layer; OME, outer mantle epithelium; P, periostracum; PL, pellucid layer; PM, pallial muscle; PZ, pallial zone.

外套液はそれぞれの種類について2本のポリエチレン試薬瓶に集め、一方の試料には試料水100mlあたり $H_2SO_4(1+1)$ 0.1mlを添加した。

3) 貝殻

試料貝殻はイケチョウガイ、アコヤガイ、マガキ、およびヒオウギについては外套液を採液した折に貝を殺して集め、ハボウキガイについては1968年夏に採集した。貝は清浄し、乾燥のち外套膜の位置と対応した各層に出来るだけ正確に分離し(Table 1)、それらを

粉末にした。すなわち、外層は外套膜縁部によって殻皮の内面に形成され、イケチョウガイ、アコヤガイ、ハボウキガイとマガキでは稜柱構造からなり、ヒオウギでは葉片構造からなる。中層は外套縁膜部によって外層と光輝層との間に形成される層で、イケチョウガイ、アコヤガイとハボウキガイでは真珠構造、マガキとヒオウギでは葉片構造からなる。外套膜中心部によって形成される内層は、外套筋痕と閉殻筋痕で取り囲まれた部分に、中

Table 1. Comparison of shell structure and crystal form of materials

Species	Locality	Material	Shell structure	Crystal form
<i>Hyriopsis schlegeli</i>	Lake Biwa	Middle layer Inner layer	Nacreous Nacreous	Aragonite Aragonite
<i>Pinctada fucata</i>	Ago Bay	Outer layer Middle layer Inner layer	Prismatic Nacreous Nacreous	Calcite Aragonite Aragonite
<i>Pinna attenuata</i>	Ago Bay	Outer layer Middle l. + Inner l.	Prismatic Nacreous	Calcite Aragonite
<i>Crassostrea gigas</i>	Ago Bay	Outer layer Middle layer Inner layer Chalky deposit	Prismatic Foliated Foliated Prism-like	Calcite Calcite Calcite Calcite
<i>Chlamys nobilis</i>	Ago Bay	Outer layer Middle layer Pellucid layer Inner layer	Foliated Foliated Prism-like Foliated	Calcite Calcite Aragonite Calcite

* Outer, Middle and inner layers are deposited in the order from outer to inner side of a shell, and respectively secreted by epithelium located on the outer surface of outer fold, pallial zone and central area of a mantle.

† The layer consisting of foliated structure was named 'calcitotraccum' by Kado (1953).

‡ Chalky deposit is very often formed in the foliated structure of *Crassostrea* shell.

|| Pellucid layer is formed at the position of muscle attachments and sandwiched between middle and inner layers.

層上に光輝層を挟んで形成される層で、本研究に使用した貝ではそれぞれ中層と同一の組織構造からなる。閉殻筋と外套筋が付着していた部分には光輝層が形成される。以上に述べた外套膜と貝殻各層との位置関係を Fig. 1 に図解した。なお、白墨質はカキ殻で屢々形成される白色の特殊な層で、多孔質の柱状構造を示す。

2. 分析方法

分析方法は原子吸光法、EDTA 滴定法、重量法、吸光光度法などによった。原子吸光法において、フレームは空気—アセチレンを用い、各元素の測定波長は次の通りである。

Ca	4226.7Å	Cu	3247.5Å	Fe	2483.3Å
K	7664.9Å	Li	6707.8Å	Mg	2852.1Å
Mn	2794.8Å	Na	5890Å	Sr	4607.3Å
Zn	2138.6Å				

なお、検量線は試料の組成と同じ標準溶液系列を用いて作成した。

1) 環境水(海水)

a. Na, Mg (原子吸光法) … 試料水を脱塩水で正しく200倍にうすめ、原子吸光分析装

置を用い、それぞれの波長における吸光度を測定し、同時に作成した検量線からそれぞれの含有量を求める。

b. K, Ca (原子吸光法) … 試料水を脱塩水で正しく100倍にうすめ、原子吸光分析装置を用い、それぞれの波長における吸光度を測定し、同時に作成した検量線からそれぞれの含有量を求める。

c. Li, Sr (原子吸光法) … 試料水をそのまま原子吸光分析装置を用い、それぞれの波長における吸光度を測定し、同時に作成した検量線から含有量を求める。

d. Fe, Mn (水酸化アルミニウム共沈分離—原子吸光法) … 試料水250mlをビーカー(300ml)に正しく分取し、約100mlになるまで濃縮する。これに精製した塩化アルミニウム溶液をAlとして約50mg加え、臭素水を滴加したのちアンモニア水で微アルカリ性として煮沸する。臭素水とアンモニア水の滴加と煮沸を繰返してFe, MnをAlと共に完全に沈殿させ、沓紙(5種A)で沓過し、温塩化アンモニウム溶液(2%, pH7)で洗浄する。沈殿を塩酸(1+9)10mlで溶解し、メスフラスコ(25ml)に移し入れ、脱塩水で定容とする。この溶液を原子吸光分析装置を用い、それぞれの波長における吸光度を測定し、同時に作成した検量線からそれぞれの含有量を求める。

e. Zn, Cu (イオン交換樹脂分離—原子吸光法) … 試料水500mlをキレート樹脂(Dowex A-1またはChelex 100)柱を毎分5mlで通じ、Zn, Cuを樹脂に吸着させる。これを脱塩水で洗浄後、硝酸(2N)30mlで溶離する。溶離液を水浴上で乾固し、塩酸(1+99)10mlに溶解し、原子吸光装置を用い、それぞれの波長における吸光度を測定し、同時に作成した検量線から含有量を求める。

f. Cl (硝酸銀滴定法) … 試料水5mlを白色磁器皿に正しく分取し、脱塩水でうすめ、クロム酸カリウム溶液(5%)を指示薬としてN/10硝酸銀標準溶液で滴定する。

g. SO₄ (硫酸バリウム重量法) … 試料水50mlをビーカー(200ml)に正しく分取し、脱塩水で約100mlにうすめ、塩酸(1+1)1mlを加え、60~70°Cに加温する。かき混ぜながら温塩化バリウム溶液(10%)5mlを滴加し、温所に数時間放置して硫酸バリウムの沈殿を熟成させて沓過し、脱塩水で充分洗浄する。沈殿を700°Cで強熱して重量をはかる。

h. P (モリブデン青吸光光度法) … 試料水25mlをメスフラスコ(50ml)に正しく分取し、モリブデン酸アンモニウム硫酸溶液2mlを加えて振り混ぜ、塩化第一錫溶液0.5mlを加えて振り混ぜて約10分間放置する。脱塩水で定容としたのち、一部を吸収セルにとり655nm付近で吸光度を測定し、あらかじめ作成してある検量線から含有量を求める。

2) 環境水(湖水)

a. Na, K, Ca, Mg (原子吸光法) … 試料水をそのまま原子吸光装置を用い、それぞれの波長における吸光度を測定し、同時に作成した検量線からそれぞれの含有量を求める。

b. Fe, Mn … 1) dと同じ。

c. Zn, Cu … 1) eと同じ。

d. Cl (チオシアン酸第二水銀吸光光度法) … 試料水25mlをメスフラスコ(50ml)に正しく分取し、チオシアン酸第二水銀アルコール溶液および硫酸第二水銀アンモニウム硝酸溶液各2mlずつを加え、よく振り混ぜる。15分間放置後脱塩水で定容とし、この一部を吸収セル

にとり、460nm付近で吸光度を測定し、あらかじめ作成してある検量線から含有量を求める。

e. SO_4 (クロム酸バリウム-酸懸濁吸光光度法)…試料水 5 ml を沈殿管に正しく分取し、クロム酸バリウム-酸懸濁液 2 ml を加えて振り混ぜる。2 分間放置後カルシウム含有アンモニア水 0.5 ml を加えて振り混ぜ、エチルアルコール 5.0 ml を加えて約 1 分間振り混ぜる。約 10 分間放置後遠心分離し、上澄み液を吸収セルに移し、370nm 付近の吸光度を測定し、あらかじめ作成してある検量線から含有量を求める。

f. P… 1) h に同じ。

3) 外套液

a. Na, Mg…淡水産種の場合は、Na は試料液を正しく 20 倍に、Mg は正しく 10 倍にうすめ、1) a と同様に行なう。海産種の場合は 1) a に同じ。

b. Ca, K…淡水産種の場合は、Ca は 1) b と、K は試料液をそのまま用い、1) b と同じ。海産種の場合は 1) b に同じ。

c. Li, Sr, Fe, Mn, Zn, Cu…試料液をそのまま原子吸光分析装置を用い、それぞれの波長における吸光度を測定し、同時に作成した検量線からそれぞれの含有量を求める。

d. Cl…淡水産種の場合は、試料液 10 ml を採取し、以下 1) f に同じ。海産種の場合は 1) f に同じ。

e. SO_4 …試料液 10 ml を正しく分取し、以下 1) g に同じ。

f. P…試料液 2 ml をビーカー (50 ml) に正しく分取し、硝酸 (1 + 1) 5 ml を加えて水浴上で蒸発乾固する。塩酸 2 ~ 3 ml を加えて蒸発乾固し、この操作を繰り返して硝酸を除く。脱塩水約 10 ml を加えて溶解し、メスフラスコ (50 ml) に移し入れ、以下 1) h と同様に行なう。

4) 貝殻

a. Ca (EDTA 滴定法)…試料 0.200 g をビーカー (100 ml) にはかりとり、塩酸 (1 + 4) 10 ml を加えて加熱分解する。冷後メスフラスコ (100 ml) に移し入れ、脱塩水で定容とする。これから 10 ml をビーカー (300 ml) に正しく分取し、脱塩水で約 150 ml にうすめ、トリエタノールアミン (1 + 2) 5 ml、シアン化カリウム溶液 (5%) 2 ml を加えたのち水酸化カリウム溶液 (25%) を加えて pH を約 13 に調節する。カルセインを指示薬として M/50 EDTA 標準溶液で滴定する。

b. Mg, Sr, Zn, Na, K, Li (原子吸光法)…試料 1.000 g をビーカー (100 ml) にはかりとり、塩酸 (1 + 1) 5 ml を加えて分解後、過塩素酸 5 ml を加えて加熱し蒸発乾固する。冷後塩酸 (1 + 1) 5 ml および脱塩水約 10 ml を加えて加温し、可溶性塩類を溶解する。もし残渣のあるときは沓紙 (5 種 B) で沓過し、温脱塩水で十分に洗浄する。冷後メスフラスコ (100 ml) に移し入れ、水で定容とする。原子吸光分析装置を用い、それぞれの波長における吸光度を測定し、同時に作成した検量線からそれぞれの含有量を求める。

c. Cl (チオシアン酸第二水銀吸光光度法)…試料 0.500 g をビーカー (100 ml) にはかりとり、硝酸 (1 + 1) 5 ml を加えて分解する (淡水産種の場合は、過酸化水素水 (1 + 9) 1 滴を加えて Mn イオンによる紫紅色を消す)。不溶解残渣を小形沓紙 (5 種 B) で沓過し、温

脱塩水で洗浄する。汙洗液をメスフラスコ(50ml)に移し入れ、脱塩水で定容とする。これから10mlを正しく試験管(30ml)に分取し、チオシアン酸第二水銀アルコール溶液および硫酸第二鉄アンモニウム硝酸溶液各2mlずつを振り混ぜ、約15分間放置する。残りの試料溶液を対照として460nm付近で吸光度を測定し、あらかじめ作成してある検量線から含有量を求める。

d. SO_4 (硫酸バリウム重量法)…試料1.000gをビーカー(200ml)にはかりとり、塩素酸カリウム0.5gを加え硝酸(1+1)10mlを加えて分解する。塩酸10mlを加えて蒸発乾固し、この操作を2回繰り返す。塩酸(1+4)5mlを加えて可溶性塩を溶解し、汙紙(5種B)で汙過し、温脱塩水で洗浄する。汙洗液はビーカー(300ml)に受け、脱塩水で約150mlにうすめ、60~70℃に加熱し、かき混ぜながら温塩化バリウム溶液(10%)5mlを滴加する。温所に数時間放置して硫酸バリウムの沈殿を熟成させて汙過し、脱塩水で充分洗浄する。沈殿を700℃で強熱して重量をはかる。

e. P (リンバナドモリブデン酸吸光度法)…試料1.000gをビーカー(100ml)に正しくはかりとり、硝酸(1+1)5mlおよび過塩素酸5mlを加えて蒸発乾固する。硝酸(1+1)10mlをほぼ正確に加え、可溶性塩類を溶解し汙過する。汙液はメスフラスコ(100ml)に移し入れ、バナジン酸アンモニウム溶液5mlとモリブデン酸アンモニウム溶液10mlを加え脱塩水で定容とする。15分間以上放置後440nm付近で脱塩水を対照として吸光度を測定し、あらかじめ作成してある検量線から含有量を求める。もしP量が200ppm以下のときは呈色液50mlを分液汙斗(100ml)に分取し、メチルイソブチルケトン10mlを正確に加えて約30秒間振り混ぜる。有機相を420nm付近でメチルイソブチルケトンを対照として吸光度を測定し、あらかじめ作成してある検量線から含有量を求める。

f. CO_2 の理論値…貝殻に含まれる CO_2 の理論値は、100ppm以上含まれるもので炭酸塩を形成すると考えられるものとして、淡水産種では、Ca, Sr, Mnについて、海産種ではCa, Mg, Srについて、次の計算式により求めた CO_2 を合計した値である。

$$\text{Ca} \times 1.0981 = \text{CO}_2$$

$$\text{Mg} \times 1.8102 = \text{CO}_2$$

$$\text{Sr} \times 0.5020 = \text{CO}_2$$

$$\text{Mn} \times 0.8011 = \text{CO}_2$$

なお、今回のデータは SO_4 およびPの補正をおこなっていない。

3. pH測定

外套液のpHは、採液ののち15分以内にガラス電極pHメーターを使用して測定した。外套液を多量に含むイケテウガイでは標準形の電極を用い、その他の貝では微量形の電極を用いてそれぞれ個体ごとに測定した。

4. 示差熱分析

貝殻物質の加熱による相変化を比較し、化学分析に供した試料相互の特性を知るために示差熱分析をおこなった。いずれの試料もそれぞれの化学分析用に作った粉末の一部を使用した。各試料は26~53mgの範囲で正確に秤量、標準試料には $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ を用い、卓上型示差熱天秤を使用して分析をおこなった。測定は Sensitivity of DTA 500 μV , Sensitivity

of TGA 20mg, Heating Rate 50°C/min. の条件のもとでおこなった。

5. X線回折

各貝殻物質の鈹物成分を解析するためにX線回折をおこなった。測定条件は Cu K α , 電圧30KV, 電流 15mA, Scanning speed 2°/min., Time constant 4sec., Slit 1°-1°-0.4° ないし0.2°であった。

結 果

1. 環境水の化学成分

実験員を取り囲む環境水の分析結果は Table 2 に示した通りである。

琵琶湖水の水質は今迄に多くの調査結果があり(根来,1957; 箕田・他,1967; 林, 1971), 湖水の水質は地点別,深度別あるいは季節別はかなり相違することが報告されている。1965年から1966年にかけて分析しているデータ(林, 1971)によると, Na, K, Ca, Mg, Cl の溶存濃度はそれぞれ 3.4~6.3mg/l, 0.93~1.87mg/l, 5.8~10.1mg/l, 1.3~6.4mg/l, 3.4~7.3mg/l の範囲にあり, 淡水真珠養殖漁場として使用されている内湖およびクリークの水は各元素とも約1.5~3.0倍の濃度を示す。従来測定値と Table 2 に示した琵琶湖水の測定値とを比較してみると, Pを除いて今回の測定結果は各元素ともおおよそ従来測定値の範囲内の濃度を示し, 採水した地点, 深度, 季節などの違いを考慮するならば, 琵琶湖水の化学組成の一般性を示していると考えてよからう。

英虞湾内海水の水質については, 栄養塩を除くと Ca と Cl 以外はほとんど測定されていない(井上・他, 1952; 菅原・他, 1953; 西飯・他, 1970; 関, 1972)。1967年から1969年(ただし, 各年とも12月から翌年3月までの冬期に測定されていない)にかけて真珠研究所多徳島臨海実験場前面の水深2m層から採水した海水の測定結果(西飯・他, 1970)によると, Ca, Cl, P の溶存濃度は年によってかなり相違し, 変動が少なく平均的な値を示した1968年ですら Ca量は340~407mg/l, Cl量は1633~1838‰, P量は0.00~2.83 μ g-atom/l の範囲で変動しており, Cl量は梅雨期の7月に最低を示すほか9月に若干低下する傾向がみられる。こうしたCl量の季節変化は英虞湾口近くの浜島浦奥部にもみられ, この地点ではCl量は冬期1~2月に最高値を示すほか, Ca量は2m層で364~437mg/lで, 一般に深い層ほど多く, Cl量と正の相関を示すことが指摘されている(関, 1972)。本研究で実験員を垂下しておいた真珠研究所多徳島臨海実験場前面の水深約2m層から採水した海水は, Ca, Cl, Pともに従来この地点で調査して得られている範囲内の濃度を示し, Feについても菅原・他(1953)が1952年秋に英虞湾内の12地点の海水を測定して得た0.06~0.17mg/lと良く一致する。1972年3月に測定したP量は菅原・他(1953)の測定値0.005~0.038mg/lに比べるとかなり高い値を示すが, 西飯・他(1970)の調査では1.00 μ g-atom/l以上の値が年に屢々現われ, 5.60 μ g-atom/lという高い値も記録している。またTable 2にみられるように, 1971年10月に採水した海水の塩分濃度が1972年3月に採水した海水の塩分濃度よりかなり低かったのは, 採水12日前に97.2mmの降水量をもたらした大雨の影響がひき続き残っていたものと考えられる。これらのことから判断すると, 本研究に使用し

Table 2. Ionic composition of the environmental waters where freshwater and marine bivalves were cultured (mg/l)

Location of environmental water	Date of experiment	Ion												
		Na	K	Li	Ca	Mg	Sr	Cu	Zn	Fe	Mn	Cl	SO ₄	P
Hatusaka in Lake Biwa (fresh water)	early September 1971	7.5	1.7	0.0	12.2	2.1	0.0	0.01	0.2	0.2	0.01	5.3	8.2	0.03
Tatoku in Ago Bay (sea water)	early October 1971	9600	467	0.05	370	1150	6.5	0.02	0.0	0.11	0.03	17445	2414	0.015
Tatoku in Ago Bay (sea water)	mid - March 1972	10400	370	0.18	398	1280	6.5	0.03	0.0	0.0	0.02	19040	2585	0.09

Table 3. Ionic composition of the extrapallial fluid of some bivalves (mg/l)

Species	Date of experiment	Ion												
		Na	K	Li	Ca	Mg	Sr	Cu	Zn	Fe	Mn	Cl	SO ₄	P
<i>Hyriopsis schlegeli</i>	early September 1971	585	4.3	0.0	200	18.4	0.8	0.0	3.52	0.44	1.44	510	485	2.98
<i>Pinctada fucata</i>	early October 1971	9300	515	0.07	340	1080	6.5	0.13	6.80	0.24	0.14	16239	2311	11.36
<i>Pinctada fucata</i>	mid - March 1972	9920	464	0.17	406	1266	5.7	0.16	6.5	0.10	0.10	19004	2301	11.20
<i>Crassostrea gigas</i>	mid - March 1972	9950	484	0.18	322	1280	6.4	0.50	8.1	0.77	0.28	19812	2375	9.24
<i>Chlamys nobilis</i>	early October 1971	8850	540	0.06	320	1040	6.3	0.13	0.97	0.22	0.11	15920	2350	16.96

Table 4. Concentration ratio of each ion in extrapallial fluid

Species	Ion												
	Na	K	Li	Ca	Mg	Sr	Cu	Zn	Fe	Mn	Cl	SO ₄	P
<i>Hyriopsis schlegeli</i>	78.0	2.53		16.39	8.76			17.6	2.2	144	96.23	59.15	102.76
<i>Pinctada fucata</i> *	0.97	1.10	1.4	0.92	0.94	1.0	6.5		2.18	4.67	0.93	0.96	757.33
<i>Pinctada fucata</i> †	0.95	1.25	0.94	1.02	0.99	0.88	5.33			5.0	1.00	0.89	124.4
<i>Crassostrea gigas</i> †	0.96	1.31	1.0	0.81	1.00	0.98	16.67			14.0	1.04	0.92	102.67
<i>Chlamys nobilis</i> *	0.92	1.16	1.2	0.86	0.90	0.97	6.5		2.0	3.67	0.91	0.97	1130.67

* The specimens were obtained in early October 1971.

† The specimens were obtained in mid - March 1972.

た実験漁場の塩分濃度は降水の影響を受けてかなりの範囲で変動し、その影響は降水量によっては長時日にわたる内湾の特徴を示しているといえよう。

2. 外套液の化学組成

Table 2 に示した塩類濃度の環境水に棲息していた淡水産二枚貝イケチョウガイと海産二枚貝アコヤガイ、マガキおよびヒオウギについて、外套膜中心部の外面上皮によって分泌されたと考えられ、この上皮と貝殻内層との間を充している外套液を分析した結果を Table 3 に示す。また各元素が生物体を通して環境水より外套液へ濃縮される率 (f) を $f = C_e/C_w$ (ここで、 C_e は外套液中のその元素の濃度、 C_w はその貝が棲息している環境水中のその元素の濃度) によって求め、その結果を Table 4 に示す。

淡水に棲息するイケチョウガイの外套液の塩類濃度は、環境水に対して著しく高く、相対的には独立性を示し、海産種の外套液の塩類濃度は、アルカリ金属、アルカリ土類金属および陰イオンの Cl と SO_4 については環境水とほぼ同じ程度の値を示す。これに対して、外套液の P は淡水産種で海産種の $1/3 \sim 1/6$ の含有量であるにもかかわらず、濃縮率では淡水産種も海産種とほぼ同じ程度であり、アコヤガイでわかるように外套液の P 濃度は環境水の P 濃度とは相対的に独立しており、むしろ生物種ごとに特徴を示しているように思われる。また環境水に含まれる重金属元素の濃度は琵琶湖水と英虞湾内海水の間で、Zn を除いて大差ないが (Table 2)、外套液に含まれる重金属元素の濃度は生物種間でかなりの差を生じ、生物種の特徴が濃縮率に現われている。例えば、淡水産種のイケチョウガイは海産種に比べて Mn を極端に濃縮し、海産種のマガキは他種に比べて重金属元素を非常に高率に濃縮する。

外套液の塩類濃度は、同じ生物種でも採液時期によって相違し (Table 3)、成分によっては見掛けの濃縮率も多少変動する徴候がある。1971年10月と1972年3月に採液したアコヤガイの外套液の塩類濃度をそれぞれの時期に採液したヒオウギやマガキの外套液の塩類濃度を考慮しながら比較すると、Na, K, Li, Mg, Cl, SO_4 などの成分はいずれも環境水のそれらの含有量に平行して単純に増減する傾向もうかがえる (Table 8 も参照)。一方、外套液の Ca 濃度は貝殻形成と関連して季節的に変化している可能性がアコヤガイから推測できる。

3. 外套液の pH

本研究で扱った二枚貝の外套液の pH について測定した結果を Table 5 に示す。外套液の pH はイケチョウガイについては1968年から1971年までの毎年9月ないし10月に個体ごとに測定し、海産種については1965年1月から9月まで毎月1回個体ごとに測定し、

Table 5. pH of extrapallial fluid of bivalved molluscs

Species	pH
<i>Hyriopsis schlegeli</i>	7.8 — 8.3
<i>Pinctada fucata</i>	7.0 — 7.9
<i>Crassostrea gigas</i>	7.1 — 7.7
<i>Chlamys nobilis</i>	7.2 — 7.7

Table 6. Chemical composition of shell of some bivalved molluscs

Species		-H ₂ O (%)	Ig. loss (%)	Theoreti- cal CO ₂ (%)	Ca (%)	Mg (ppm)	Sr (ppm)	Na (ppm)	K (ppm)	Li (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Cl (ppm)	SO ₄ (ppm)	P (ppm)
<i>Hyriopsis schlegeli</i>	Middle layer	0.32	45.87	42.10	38.29	50	420	3120	32	0.2	0.2	3.2	7.5	340	93	10	108
	Inner layer	0.38	45.43	42.00	38.18	0.47	278	3300	40	0.1	0.2	0.6	1.6	830	180	103	116
<i>Pinctada fucata</i>	Outer layer	1.01	47.52	39.94	35.37	5800	850	4250	76	1.3	3.3	24.6	39.5	35	78	8770	140
	Middle layer	0.50	46.12	41.30	37.54	180	840	7720	79	0.2	0.8	5.8	4.0	10	425	947	98
	Inner layer	0.54	46.00	41.66	37.86	200	1040	7720	76	0.2	0.0	9.6	7.0	4	475	1970	90
<i>Pinna attenuata</i>	Outer layer	0.54	45.26	40.60	37.43	3150	630	4250	84	0.1	0.0	3.2	3.0	2	305	7570	95
	Middle l. + Inner l.	0.28	44.86	42.12	38.29	150	980	8220	81	0.6	1.2	8.2	4.0	1	548	864	241
<i>Crassostrea gigas</i>	Outer layer	0.36	44.43	42.92	38.82	1420	825	6580	76	1.8	1.4	5.2	6.0	5	164	2140	279
	Middle layer	0.50	43.95	42.74	38.71	1080	810	5560	47	1.3	0.6	0.8	2.0	20	412	2630	646
	Inner layer	0.52	44.15	42.75	38.76	820	750	6240	56	1.4	0.2	4.4	5.0	12	378	2387	858
	Chalky deposit	0.55	46.34	40.89	36.59	3680	855	26300	790	2.2	0.8	4.8	26.5	35	27000	5556	517
<i>Chlamys nobilis</i>	Outer layer	0.26	44.03	42.90	38.61	2510	1040	5120	48	0.8	0.8	5.2	2.8	4	65	4116	388
	Middle layer	0.21	44.42	42.29	39.24	820	990	3540	32	0.6	0.8	3.8	4.0	3	98	987	484
	Pellucid layer	0.28	44.63	42.93	39.03	130	940	6580	40	0.4	0.6	5.8	7.0	0	150	740	112
	Inner layer	0.21	44.38	43.29	39.24	870	960	2620	25	0.0	1.2	8.8	5.5	3	73	1440	445

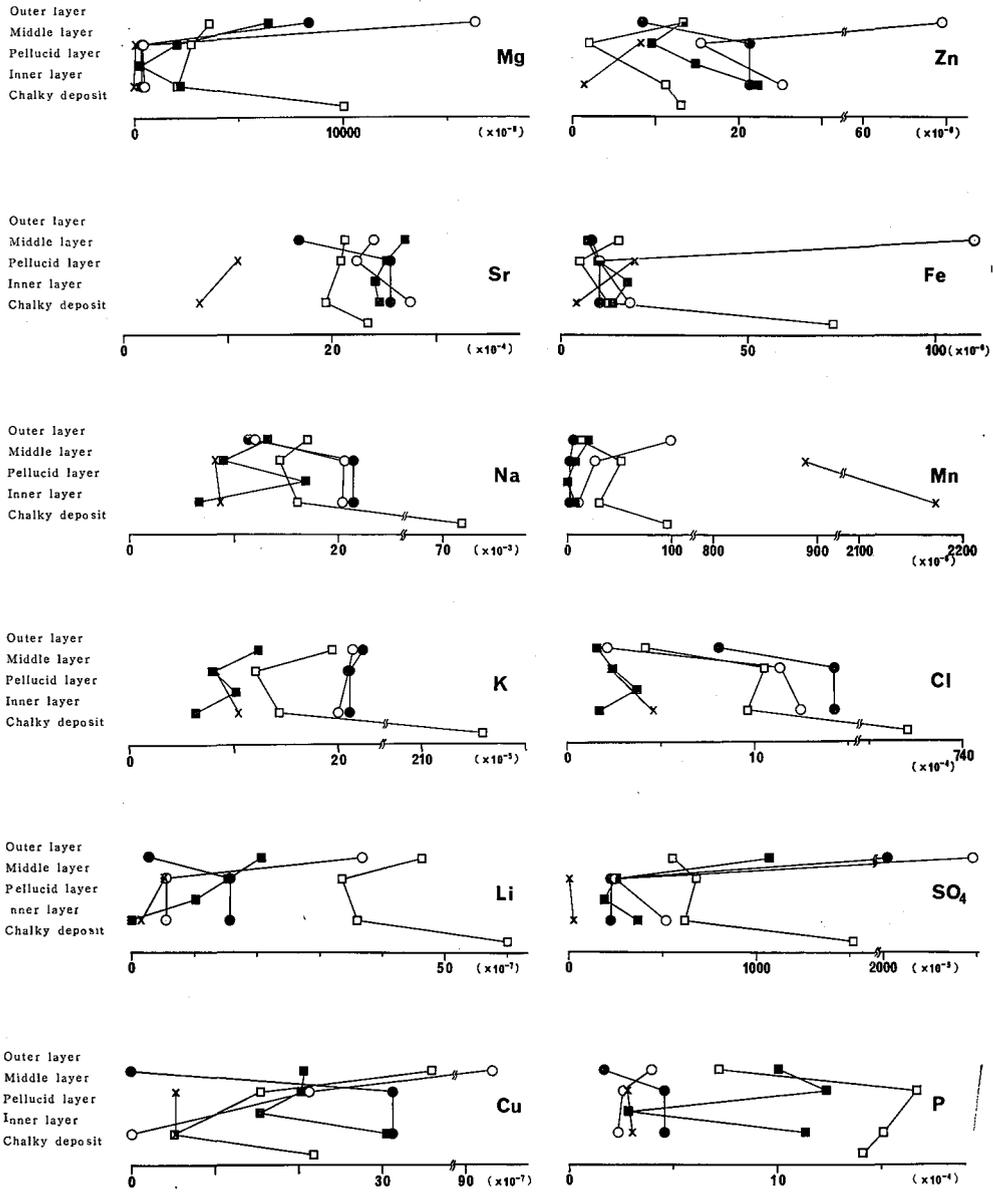


Fig. 2. Me / Ca ratio in different layers of a shell

- ×, *Hyriopsis schlegeli*
- , *Pinctada fucata*
- , *Pinna attenuata*
- , *Crassostrea gigas*
- , *Chlamys nobilis*

得られた値の変動範囲を Table 5 に示してある。

外套液の pH 値は、Wada (1961) がアコヤガイの外套液で指摘したように、同一種でも年間を通してみるとかなりの幅で変動するほか、測定日時が同じでさえも個体間でかなり相違し、Wilbur (1964) が論じたように小数点2ケタの位での誤差範囲で生物種ごとに一定したものではない。Table 5 からわかるように、淡水産二枚貝イケチョウガイの外套液の pH は7.8~8.3で海産二枚貝の7.0~7.9に比べて高い。一方、環境水についてみると、琵琶湖水の表層 pH は7.0~7.4の範囲にあり(根来, 1957; 林, 1971)、英虞湾多徳島周辺海水の水深2m層の pH 測定で得られている8.03~8.45の値(西飯・他, 1970)に比べて逆にかかなり低い。

4. 貝殻の化学組成

Table 6 は貝殻の外層、中層および内層の化学分析結果を実験員の間で比較し、Ca に対する各微量成分の重量比を貝殻層間で比較して Fig. 2 に図示してある。

外套液の塩類濃度と同様に、貝殻の微量成分含量も棲息地が淡水であるか海水であるかによってまず異なる。すなわち、同じ結晶形と組織構造とからなる貝殻層を比較しても、イケチョウガイの貝殻は多量の Mn によって特徴づけられ、海産種に比べ数10倍から数100倍の Mn を含むが、Mg, Sr, Na, Cl, SO₄ などの含量は海産種に比べて少ない傾向を示す。このうち、Mn, Mg, Cl については単にイケチョウガイの特徴ではなく、今回の結果と同じ傾向が数種の淡水産二枚貝で報告(堀口, 1959a, b, c) されていることから、淡水産種と海産種のそれぞれの特徴といえる。しかし、すべての元素についておおかれすくなかれいえることではあるが、例えば Cl 量はヒオウギでわかるように種の特徴を度外視しては論じ得ない。さらに、これら各成分は貝殻各層に均等に分布しているのではなく、同じ結晶形と組織構造とからなるにもかかわらず中層と内層とで含量が著しく異なる成分もある。

海産二枚貝間で比較してみると、調べた4種類のすべての貝殻で Mg, K は中層や内層より外層で多く、逆に Cl は中層や内層と比べて外層で少ないが、いずれの元素もその含量は生物種間でかなり相違する。一方、Sr, Na はマガキやヒオウギでは外層に多く、アコヤガイやハボウキガイでは外層に少ない。Cu, Zn はアコヤガイやマガキでは外層に多く、ハボウキガイでは外層に少ない。Li はアコヤガイやヒオウギでは外層に多く、ハボウキガイでは外層に少ない。Fe, Mn はアコヤガイでは外層に多いが、Mn はマガキで外層に少なく、その他の種類では3元素とも貝殻層間で差がない。

このように貝殻中の微量元素の含量は、棲息水が淡水であるか海水であるかによって相違するほか、同一地方で採集した海産二枚貝でも種が異なるとかなり相違し、また1個体でも貝殻各層間で著しく異なる。このうち Mg 量は白墨質やマガキとヒオウギの貝殻外、中、内層やアコヤガイとハボウキガイの貝殻外層のように calcite からなる層は、光輝層やアコヤガイとハボウキガイの貝殻中、内層のように aragonite からなる層に比べて多く、貝殻鈹物の結晶形と密接に関係することがわかる。Mg は SO₄ との相関係数を求めると $r=0.94$ と非常に強い正相関を示し、Mg/SO₄ の重量比は calcite 殻層が aragonite 殻層より大きく、calcite 殻層と aragonite 殻層とでむしろ別々の線が引けるが (Fig. 3)、こ

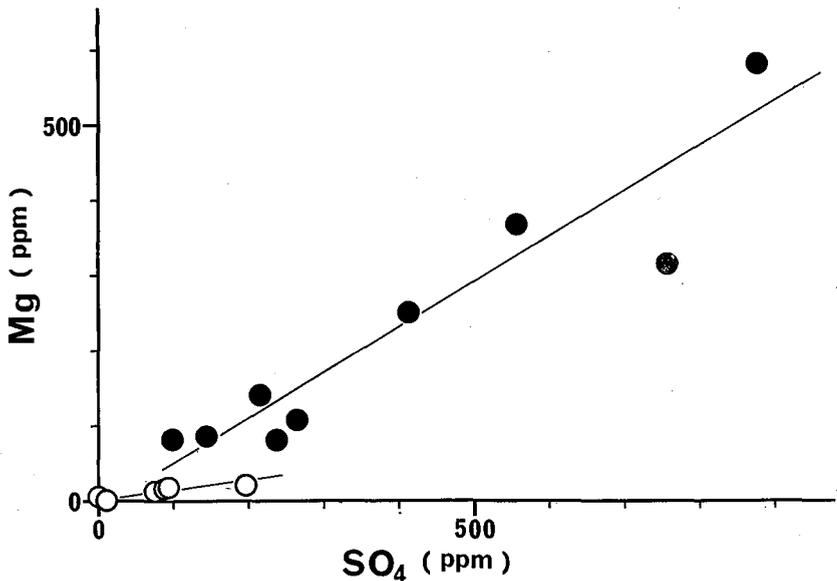


Fig. 3. Mg / SO₄ ratio in shell structural units.

●, calcitic shell layer; ○, aragonitic shell layer

これらの意味するところは不明である。このほか、Sr量と貝殻鉱物の結晶形との間に明瞭な関係は認められなかったが、Sr量は棲息温度によってかなり異なるとの報告 (Dodd, 1965) があり、今回の分析試料の解釈には注意を要する。また Mn量は海産二枚貝の各種ごとにみると、aragonite層よりも calcite層で多い傾向を示すが、淡水産種も含めて種間で比較すると、貝殻鉱物の結晶形に依存して決まる部分よりも棲息水の性質や種の代謝特性に依存して決まる部分がはるかに大きいと言えよう。

貝殻中に含まれる Naはマガキ貝殻白墨質では haliteとして結晶していることがX線回折によって証明された。しかし、白墨質中に含まれる Clの全量が Naと結合して NaCl結晶を生じたと仮定しても Na量は 8790ppmほど残り、これらの Naの一部は SO₄と結合していることも予想されるが他の殻層に含まれている Naと同様にその存在形態は不明である。

微量元素の中には灼熱減量中の有機物に相当する部分に関連して含有量を変えると考えられるものがある。Fig. 4からわかるように、貝殻の灼熱減量は主に CO₂の脱出に帰因する 800~900℃の吸熱ピーク (Table 6の CO₂の理論値)、-H₂Oの脱出に帰因する 200℃以下にみられる吸熱ピーク (Table 6の -H₂O値)と有機物の燃焼によってもたらされる 300~600℃の発熱ピーク (Table 6の灼熱減量から CO₂と -H₂Oを差し引いた値)とによるとみなされる (Wada, 1961)。この有機物に相当する減量と見掛け上関連して変化する微量元素として SO₄, Pおよび Mgとがある。SO₄/有機物は calcite殻層と aragonite殻層とで著しく異なるが、SO₄量は共に有機物量に比例して増加し、一部に有機物 SO₄が存在することを示唆する。同様に P/有機物は calcite殻層と aragonite殻層とでかなり異

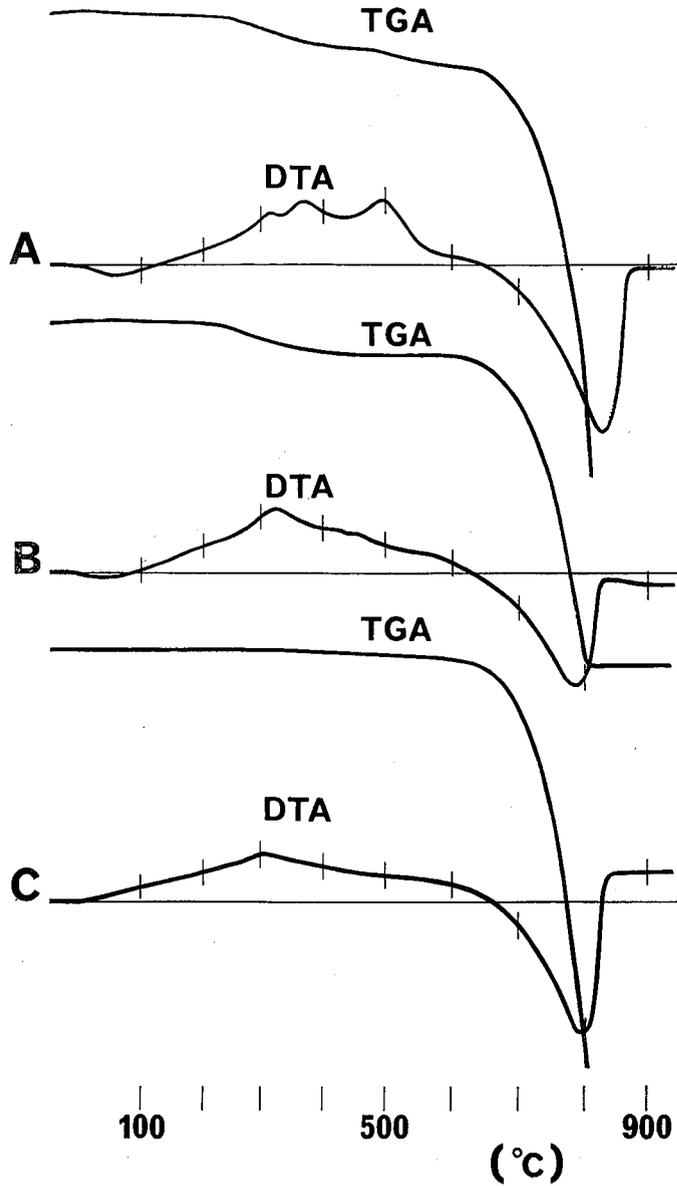


Fig. 4. Differential thermal analysis (DTA) and thermogravimetric analysis (TGA) curves of shell substances.

A...outer layer of the *Pinna* shell.

B...inner layer of the *Pinctada* shell.

C...middle layer of the *Chlamys* shell.

なる。P量は calcite 殻層では有機物量の増加にともなって減少するが、むしろ種と関連していると考えられ、マガキ、ヒオウギの葉片構造からなる calcite 殻層には少量ではあるが無機Pが存在する可能性がある。一方、Mg/有機物も calcite 殻層で aragonite 殻層より著しく大きく、Mg量は calcite 殻層では有機物量に比例して増加するかのように見えるが、aragonite 殻層では有機物量とは関係なく低く、すでに述べたようにMg量は貝殻層の結晶形と関連して変化することを示し、calcite 殻層では稜柱構造に葉片構造よりも多量に含まれる傾向がある。

考 察

貝殻物質は外套膜外面上皮細胞が分泌した外套液から生成する。外套液は体液の一種で、貝殻物質を構成する有機物や無機成分を含むといわれているが、外套液の化学組成と濃度は明らかでない。

貝殻形成に関する研究が、生物系における鉱物化の方向で研究され、また貝殻組織中にみられる成長線と同位元素を含む微量元素濃度分布パターンとを相補うことで貝の生理生態や棲息環境を推定しようとする古生物学や地球化学分野での研究手法を開発する中で、外套液の化学組成と濃度を明らかにすることはますます重要になってきた。しかし、外套液の採液にあたって組織液、血液あるいは環境水が混入する危険があるだけでなく、個体の生理や棲息環境の規則的あるいは不規則的変動にともなって外套液の化学組成と濃度に変化することが予測されるため、1個体から採液し得る量では分析困難な種属では、類似した活力をもっていると思われる個体を選ばねばならないなど多くの問題を含む。例えば、50mlの外套液を得るためには、イケチョウガイで2～5個体、アコヤガイで600～700個体、マガキで100～200個体、ヒオウギで90～150個体がそれぞれ必要であり、イケチョウガイのように小数個体で必要量がとれる場合個体差が大きいと影響が大きいため出来るだけ個体ごとに分析するのが望ましく、海産の3種では個体差を調べることは困難で常に平均値として分析することになる。また採集した外套液に30分前後で有機性の沈殿を生ずるイケチョウガイ、マガキ、ヒオウギなどや、採液直後は粘度の大きい塊が不均等に存在するアコヤガイもあり、試料を分取する際には注意しなければならない。さらに、その後の分析でわかったことではあるが、アコヤガイのように多量の有機物を含む外套液は、今回程度の処理では有機物を十分に分解できず、今回の結果はP量が実際よりかなり低い値にとどまっているなど、分析上で改良しなければならない問題もある。これらの事項に留意しながら、今回得られた結果を以下に考察する。

1. 外套液の化学組成とその濃度からみた生理

軟体動物は海水から淡水、陸上とその棲息範囲は頗る広く、体表は1列に並んだ上皮細胞でおおわれ、水中に棲息する軟体動物は色々の種類の環境の変化に対して生活上必要な体液調整をおこなう過程で体表を通してイオンを直接取り込み、大部分の種類は体の外側に炭酸塩殻を形成する。環境水の物理的・化学的性質の違い（淡水か海水か）あるいは変

化に対する軟体動物の適応の仕方や能力は、体液調整のメカニズム—(1)調整をおこなう場所、(2)調整に関与する因子、(3)それを支える土台の代謝—や特定のメカニズムへの依存度によって異なるであろう。

稀薄な電解質しか含まない淡水に住むイケチヨウガイでは、外套液の化学組成は棲息環境水と著しく異なり (Table 7), 外套液の各イオン濃度は環境水に比べて非常に高い (Table 4)。それゆえイケチヨウガイは無機イオンを体表を通して環境水より能動的に取り込み、外套膜外面上皮細胞の働きによって外套液のイオン組成と濃度を維持するようなメカニズムを体液調整の一環として備えていると考えられる。比較的濃厚な電解質を含む

Table 7. The comparison of relative ionic composition between the extrapallial fluid of *Hyriopsis schlegeli* (freshwater bivalve) and the environmental water around them (The Cl ion in all cases is taken as 100)

	Ion											
	Na	K	Ca	Mg	Sr	Cu	Zn	Fe	Mn	Cl	SO ₄	P
Extrapallial fluid	114.71	0.84	39.22	3.61	0.16		0.69	0.09	0.28	100	95.10	0.58
Fresh water (Hatusaka)	141.51	32.01	230.19	39.62		0.18	3.77	3.77	0.18	100	154.72	0.57

海水に住んでいる二枚貝では、外套液の主要元素は棲息環境水と本質的にはほとんど同じではあるが (Table 8), それらの濃度は完全には同じでない (Table 4)。Kイオンはいずれの種類でも外套液で環境水よりも高いが、Na, Mg, Cl, SO₄などのイオンはおおむね外套液で低いなど、外套液の組成と濃度はやはり体液調整の一環として外套膜外面上皮細胞によって必要な調節を受けていると考えられる。

環境水と外套液とのイオン組成と濃度を比較することにより、異なる種類のイオンの動きを推察してみると、異種イオンは互いに独立して体を通して外套液に取り込まれると考えられ、外套液のイオン組成や濃度は環境水の濃度変化にもなっておこる濃度差を少なくするような動きと (Table 8), 環境水温の変化および個体の生理変化ないし活性変化にもなる体表を通しての取り込み速度の変化および外套膜外面上皮細胞の分泌活性ないしその土台となっている代謝活性の変化に応じていると考えられる動き (Table 8; 著者ら未発表) とがみられる。これらの外的あるいは内的変化に対する細胞レベル、体表レベルないし個体レベルでの調整メカニズムないし調整能力の差が種属の特徴として外套液の組成や濃度に反映するといえよう。

2. 貝殻中における微量元素濃度分布パターンからみた生鉱物化の特徴

貝殻物質中の微量元素含有量は (1)棲息環境水の性質, (2)種属, (3)貝殻鉱物の結晶 (calcite か aragonite か), (4)貝殻組織構造, (5)貝殻中における位置 などによって規定されることが本研究からも推測できる。

比較的濃厚な電解質を含む海水に棲息する二枚貝の貝殻は、淡水に住むイケチヨウガイの貝殻に比べて Mg, Sr, Na, K, Cl, SO₄などを概して多量に含む。ところで、外套液のK

Table 8. Relative ionic composition of the extrapallial fluid of marine bivalves as compared with the variation of relative ionic composition of the environmental water around them (The Cl ion in all cases is taken as 100)

A													
Species	Ion												
	Na	K	Li	Ca	Mg	Sr	Cu	Zn	Fe	Mn	Cl	SO ₄	P
<i>Chlamys nobilis</i> *	55.59	3.39	0.0004	2.01	6.53	0.04	0.0008	0.006	0.001	0.0007	100	14.76	0.11
<i>Pinctada fucata</i> *	57.27	3.17	0.0004	2.09	6.65	0.04	0.0008	0.04	0.001	0.0009	100	14.23	0.07
<i>Pinctada fucata</i> †	52.20	2.44	0.0009	2.14	6.66	0.03	0.0008	0.03	0.0005	0.0005	100	12.11	0.06
<i>Crassostrea gigas</i> †	50.22	2.44	0.0009	1.63	6.46	0.03	0.003	0.04	0.004	0.001	100	11.99	0.05

B													
Sea water	Ion												
	Na	K	Li	Ca	Mg	Sr	Cu	Fe	Mn	Cl	SO ₄	P	
Tatoku (Ago Bay)*	55.03	2.68	0.0003	2.12	6.59	0.04	0.0001	0.0006	0.0002	100	13.84	0.00009	
Tatoku (Ago Bay)†	54.62	1.94	0.0009	2.09	6.72	0.03	0.0002		0.0001	100	13.58	0.0005	

* The specimens were obtained in early October 1971.

† The specimens were obtained from the same pearl farm in mid-March 1972.

イオン濃度がイケチヨウガイの約126倍、Clイオン濃度が約31倍で、他の海産種と比べて特に低いとはいえないヒオウギの貝殻物質中のK, Cl含有量は、イケチヨウガイと同レベルで、外套液中の濃度と単純な比例関係で貝殻物質中に濃縮されない元素がある。一方Mn濃縮率が大きく、外套液中のMnイオン濃度が海産種の5~14倍もあるイケチヨウガイの貝殻物質中のMn含有量は、海産種の10~830倍もあり、貝殻物質中でさらに大きく濃縮される元素もある。

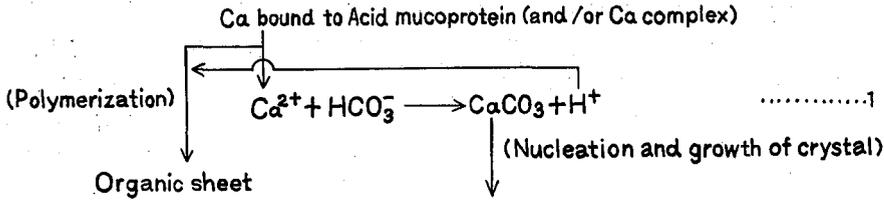
同一水域に棲息していても種属が違うと、元素ごとに濃縮される量は異なる。この場合、Mgのように貝殻鉱物の結晶形と密接に関連して含有量のレベルがまず規定される元素と、Mnのように貝殻鉱物の結晶形よりも種属それ自体に依存して含有量のレベルがまず規定される元素とがある。しかし、Mgのような元素でも calcite 殻層間で比較すると葉片構造よりも稜柱構造に多く、葉片構造から貝殻全体ができていないヒオウギでは外層に多く含まれ、Mn含有量も貝殻が calcite 層と aragonite 層とからなる海産種では calcite 層に多い傾向がみられる。

貝殻物質中の微量元素含有量は、いくつかの因子に依存して決まるが、特定の因子への依存度は貝殻物質中における元素の存在形態を規定すると考えられる。例えば、Mgのように含有量がCaCO₃の結晶形と関連する元素は固溶体(Ca, Mg)CO₃として主に存在すると考えられるが、Mnのように含有量がCaCO₃の結晶形よりも棲息環境水の性質や種属に依存する度合が顕著な元素は(Ca, Mn)CO₃以外の形、阿部(1973)がイケチヨウガイ貝殻真珠層について常磁性共鳴吸収スペクトルの測定によって明らかにしたように、マンガンの炭酸塩として大部分が存在する。またカキ殻に特異的に発達する白墨質に含まれる多量のNaとClは、大部分がNaCl結晶ないし動物が生存中は内部液として存在したと考えられ、Mg, K, Fe, Mn, SO₄なども多量に含む白墨質の形成が非常に特異的であることを示唆する。

以上の考察から示唆されるように、微量元素が貝殻物質中にどれだけ取り込まれるかは、生理的因子によって支配される部分と、元素の化学的挙動と生成する炭酸塩の性状との関係によって支配される部分とがある。すなわち、環境水の性質が全く違う淡水と海水とでは、体液調整の一環として決まる外套液の物理的・化学的性質はそこに棲息する軟体動物の間でまず2分される。さらに、特定の生理調整メカニズムへの依存度や環境水の変化に対する生理調整能力は種属によって異なるし、場合によっては外套膜外面上皮細胞の位置によっても異なると考えられるから、外面上皮細胞で産生される有機物や各元素の代謝量も異なり、外套液の性質は同じ場所に住んでいても種属が異なったり、1種属でも外套膜での位置で異なるであろう。その結果、貝殻物質中の有機基質の性状や貝殻鉱物の結晶形が決定され、微量元素含有量が規定されるであろう。

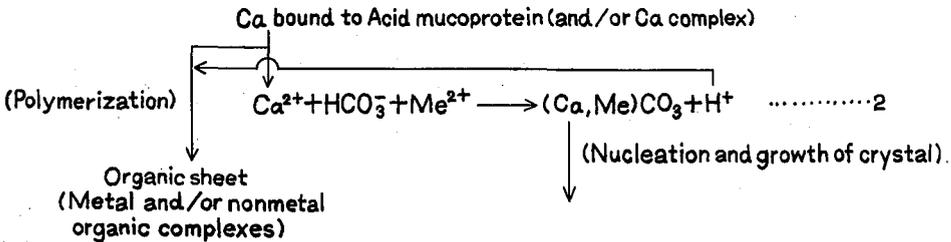
3. 貝殻鉱物の生成と溶解の生理

軟体動物の貝殻形成において、貝殻鉱物が外套液から生成する終局の反応系は、外套液のpHを考慮して



と仮定してみよう。

本研究からわかるように、現実にはこの反応系に2価陽イオン Me^{2+} が存在し、海産種の場合は Na^+ , Cl^- , SO_4^{2-} が多量に存在する。2価陽イオン Me^{2+} の分配を考慮すると1式は



と書きかえられる。

Me が環境水と外套液間ならびに外套液と貝殻物質間でどんな分配をし、環境水と貝殻物質間の直接の分配関係と比較することにより、外套膜を通過して外套液から貝殻へ取り込まれる過程での色々の種類の元素の挙動が考察できる。したがって、環境水—外套液—貝殻間の Me の分配定数を測定することは、外套膜外面上皮細胞が体の生理調整の一環としてどんな生理機能をはたしているかを推測する上で役立つ。こうした視角から、外套膜の生理機能を再検討することが、微量元素が貝殻物質中へ濃縮する機序を明らかにすると同時に、貝殻鉱物の生成と溶解の生理的意義を本質的に究明するのに必要である。

環境水と外套液間、外套液と貝殻物質間、および環境水と貝殻物質間の Me のみかけの分配定数 K_1 , K_2 , K_3 は、Fig. 5 の関係にあり、それぞれ次の式で書ける。

$$K_1 = \frac{(\text{Me}/\text{Ca})_{\text{extrapallial fluid}}}{(\text{Me}/\text{Ca})_{\text{water}}} \dots\dots 3 \quad K_2 = \frac{(\text{Me}/\text{Ca})_{\text{shell}}}{(\text{Me}/\text{Ca})_{\text{extrapallial fluid}}} \dots\dots 4$$

$$K_3 = \frac{(\text{Me}/\text{Ca})_{\text{shell}}}{(\text{Me}/\text{Ca})_{\text{water}}} = K_1 \times K_2 \dots\dots 5$$

ここで Me, Ca はそれぞれ微量元素および Ca の濃度である。

上の式を使って Table 2, 3 および Table 6 の内層 (分析に供した外套液と接していた層) の分析値から、各種属ごとに計算した Mg, Sr, Zn, Mn の K_1 , K_2 , K_3 を Table 9 に示す。 K_1 と K_2 の関係は、一般に $K_1 \gg K_2$ であり、Zn, Mn は $K_1 \gg K_2$ と特徴的で、実験室で作った化学反応系で求められた K (北野, 1967) から判断して、Zn, Mn は外套液中で極めて安定な形で存在すると考えられる。 K_2 と K_3 の関係では、Mg は淡水産種で $K_2 >$

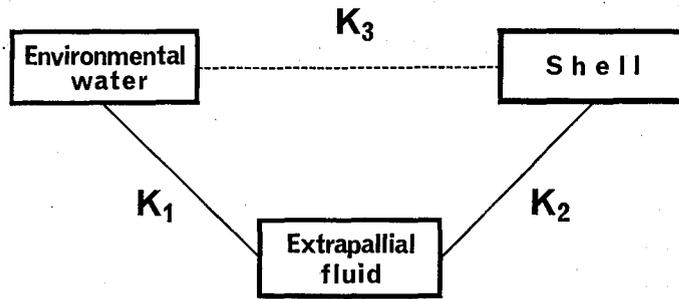


Fig. 5. Relations representing distribution coefficients of K_1 , K_2 and K_3 (refer to the equations 3, 4 and 5).

Table 9. Distribution coefficient of magnesium, strontium, zinc and manganese in molluscs

Species	Mg			Sr		
	K_1	K_2	K_3	K_1	K_2	K_3
<i>Hyriopsis schlegeli</i> *	0.53	1.3×10^{-5}	7.1×10^{-6}	0.81	0.18	0.15
<i>Pinctada fucata</i> †	0.97	1.7×10^{-4}	1.6×10^{-4}	1.17	0.17	0.20
<i>Pinctada fucata</i> ‡	0.97	1.7×10^{-4}	1.6×10^{-4}	0.86	0.20	0.18
<i>Crassostrea gigas</i> ‡	1.24	6.6×10^{-4}	8.2×10^{-4}	1.22	0.10	0.12
<i>Chlamys nobilis</i> †	1.01	6.8×10^{-4}	6.9×10^{-4}	1.21	0.12	0.15

Species	Zn			Mn		
	K_1	K_2	K_3	K_1	K_2	K_3
<i>Hyriopsis schlegeli</i> *	10.7	0.9×10^{-4}	9.6×10^{-4}	12.6	0.30	3.77
<i>Pinctada fucata</i> †	1592	1.3×10^{-3}	1.26	409.6	2.6×10^{-2}	10.48
<i>Pinctada fucata</i> ‡	1275	1.6×10^{-3}	2.01	245	4.3×10^{-2}	10.51
<i>Crassostrea gigas</i> ‡	2003	4.5×10^{-4}	0.90	865	3.6×10^{-2}	30.79
<i>Chlamys nobilis</i> †	241	7.4×10^{-3}	1.78	342	2.2×10^{-2}	7.59

* The specimen was obtained in early September 1971.

† The specimens were obtained in early October 1971.

‡ The specimens were obtained in mid-March 1972.

K_3 であるが、海産種ではほぼ一致する。Srは全種類で K_2 と K_3 の値は良く一致する。これに対して、ZnとMnは淡水産種で $K_2 < K_3$ 、海産種で $K_2 \ll K_3$ である。しかし、 K_1, K_2, K_3 ともに環境水の性質（淡水か海水か）による差が著しい。

今回得た海産種の K_3 値を、棘皮動物の calcite 殻および軟体動物の aragonite 殻で従来得られている K_3 値や実験室で求められた K 値と比較してみる（北野, 1967; 小西・他, 1973; Ueda et al., 1973）。Mgのaragonite殻層に対する K_3 は従来値（ $2 \sim 4 \times 10^{-4}$ ）と同じ程度であるが、calcite殻層に対する K_3 は棘皮動物の calcite 殻で得られている値（ 2.2×10^{-2} ）よりかなり小さいし、実験室で求められている値より小さい。Srのaragonite殻層および calcite 殻層に対する K_3 はともに従来値（aragonite殻に対して0.14~0.21、

calcite 殻に対して0.13~0.15, 実験室で0.2) とほぼ一致する。Zn の K_3 は棘皮動物の calcite 殻に対する $K_3=120$ よりかなり小さいが、実験室で求められた分配定数より僅か小さい程度であり、Mn の K_3 は棘皮動物の calcite 殻に対する $K_3=15$ や実験室で求められた値とほぼ近似ないしやや大きい値である。これらのことから、天然の生体における系 (K_2) は環境水における系 (K_3) や実験室で行なっている系 (K) とかなりの差があり、系に関与する因子が本質的に異なっているのではないかと推察される。また K_3 が軟体動物と棘皮動物の間でかなり異なることから、天然の生体における系 (K_1, K_2) とはいえ、生物種によって差を生ずると考えられる。分配定数の算出には、貝殻物質の分析値は分析に供した外套液に接する貝殻内層を使用した。分析した外套液に接した内層表面だけでなく、個体成長の数年間分についての平均値として得られており、その点で分配定数を今後補正する必要がある。また Mn がマンガンの炭酸塩鉱物として共沈していると考えられるイケチョウガイの真珠層では、Mn の分配定数は是正されていかねばならない。

以上の論議を通して、軟体動物における貝殻鉱物化の機構を化学平衡論的に考察してみる。貝殻鉱物が外套液から生成するという事実は、外套液の $[Ca^{2+}] \times [CO_3^{2-}]$ の濃度は局所的かもしれないが過飽和であり、1, 2式で反応が右へ進むことを意味する。結晶の生成と成長が貝殻成長面で継続しておこっている時は、反応が右へ進みつつけることであり、外套膜外面上皮細胞は過飽和になっている外套液に対して Ca^{2+} および HCO_3^- を放出することができるメカニズムを備えていると考えられる。そして鉱物化の速度は、外套液から $CaCO_3$ が結晶として失われる速度と外套膜によって $[Ca^{2+}] \times [CO_3^{2-}]$ が外套液へ補給される速度とによって決まる。したがって、外套液の塩類濃度は、外套膜からの補給がある時期では、貝殻鉱物との単純な平衡関係で過飽和になっているのではなく、動的な平衡関係で過飽和になっているに違いない。これに対して、外套膜からの補給がとまっている時期の外套液の塩類濃度は、貝殻鉱物とむしろ単純な平衡関係にあると考えられる。Wada (1961) によって指摘され、またアコヤガイ外套液の今回の分析結果からもうかがえるように、外套液の Ca 濃度が貝殻の成長時期より成長停止時期に大きいという一見矛盾した関係になるのは、こうした平衡関係のためではなからうか。

要 約

1) 生体系における鉱物化機構の特徴を明らかにするため、淡水産二枚貝と海産二枚貝の外套液の化学組成を調べ、貝殻鉱物はどんな化学組成と濃度をもった母液(外套液)から生成するか、外套液の化学組成や濃度はどんな因子によって決まるか、また異なる種類の元素は貝殻物質中へ取り込まれるまでにどんな挙動を示すかについて考察した。

2) 外套液の化学組成と濃度は、淡水産二枚貝と海産二枚貝との間で大きく異なる (Table 3)。イケチョウガイの外套液の塩類濃度は、環境水に対して著しく高く、相対的には独立性を示す。これに対し、海産種の外套液の塩類濃度は、アルカリ金属、アルカリ土類金属および陰イオンの Cl と SO_4 は、環境水とほぼ近似しているが、Kイオンはいずれの種属とも外套液で環境水よりも高く、Na, Mg, Cl, SO_4 などのイオンはおおむね外套液で

低い。

- 3) 淡水種のイケチョウガイは、海産種に比べ大量の Mn を濃縮する。
- 4) 外套液のイオン組成や濃度、特に重金属イオン、は種属によって特徴づけられる。
- 5) 異なる種類のイオンは互いに独立して体内へ取り込まれ、外套液のイオン組成や濃度は環境水との濃度差を少なくするような動きと、環境水温の変化および個体の生理変化ないし活性変化の影響による動きとがある。
- 6) 貝殻物質中の微量元素含有量は、棲息環境の性質（淡水か海水か）、種属、貝殻鉱物の結晶（calcite か aragonite か）、貝殻組織構造、貝殻中における位置などによって規定され、生理的因子によって支配される部分と、元素の化学的挙動と生成する炭酸塩の性状との関係によって支配される部分とがある。
- 7) 外套液と貝殻鉱物間における微量元素の分配定数 K_2 は、Mg や Sr のように K_1 で大きく濃縮されない元素では、環境水と貝殻鉱物間における分配定数 K_3 と近似しているが、Zn や Mn のように K_1 で大きく濃縮される元素では、環境水と貝殻鉱物間における分配定数 K_3 よりかなり小さい。
- 8) 生体における鉱物化の系 (K_2) は、環境水における鉱物化の系 (K_3) や実験室で現在おこなっている合成の系 (K) とかなりの差があり、系に関与する因子が本質的に異なっていると思われる。
- 9) 貝殻の成長期の外套液の塩類濃度は、貝殻鉱物との単純な平衡関係で過飽和になっているのではなく、動的な平衡関係で過飽和になっていると考えられるのに対し、貝殻の成長が停止している時期の外套液の塩類濃度は、貝殻鉱物とむしろ単純な平衡関係にあると考えられる。

謝 辞

稿を終るに臨み、研究の発表の機会を与えられた真珠研究所林知夫所長、並びに有益な助言と討論を下された名古屋大学理学部北野康教授、大阪大学理学部河合清三先生に謹んで感謝の意を表す。またイケチョウガイを提供下さり、実験に多大の便宜を下された滋賀県水産試験場内藤慎二場長、箕田冠一技師、末富寿樹前場長、並びにマガキを提供下さった的矢湾養蠣研究所佐藤忠勇先生に深謝する。なお実験動物の飼育管理は前田弘也所員夫妻にお世話いただいた。

Summary

This study is the first attempt to examine the chemical composition of extrapallial fluid from which shell minerals (calcite or aragonite) are crystallized, and must give us a new fundamental knowledge on biochemical and physicochemical rules of the concentration of ions in the fluid in the mineralization process of shells of freshwater and marine bivalved molluscs.

One freshwater and three marine bivalves were used in this study. The freshwater species *Hyriopsis schlegeli* of five or six years of age was kept in an outdoor farm pond of the Shiga Prefectural Fisheries Experimental Station in Hikone City, and the marine species *Pinctada fucata*, *Crassostrea gigas* and *Chlamys nobilis*, three years old in all species, kept in the pearl farm near the Tatokujima Station of National Pearl Research Laboratory in Ago Bay, Mie Prefecture. The extrapallial fluid was carefully collected with an injector inserted into the area shown by a thick arrow in Fig. 1, for *H. schlegeli* in September 1971, for *P. fucata* in September 1971 and March 1972, for *C. gigas* in March 1972 and for *C. nobilis* in September 1971, respectively.

The extrapallial fluid of the above species was analysed for calcium, chlorine, copper, iron, lithium, manganese, magnesium, phosphorus, potassium, sodium, strontium, sulfur and zinc by atomic absorption spectrometry, spectrophotometry and gravimetry.

Tables 3, 7 and 8 show chemical composition of the extrapallial fluid of the four species, indicating that the concentration and pattern of ions are remarkably different between freshwater and marine species. *H. schlegeli* secretes the fluid which is much high in concentration of ions than water of Lake Biwa (Tables 2 and 4) and is characterized by the shell which contains a large amount of Mn (Table 6). Marine species secrete the fluid which is very similar chemical composition and concentration to sea water of Ago Bay except P ion (Tables 2, 4 and 8). K and P ions are generally larger in the fluid than in sea water, and Na, Mg, Cl and SO_4 ions smaller in the fluid.

The amount of minor elements in shell substance appears to be individually varied in relation to (1) chemical and physical natures of environment (freshwater or sea water), (2) species, (3) crystal form (calcite or aragonite), (4) structure of shell layer, and (5) locality in a shell, as shown in Fig. 2 and Table 6.

Concentration ratio ($\text{Me}_{\text{extrapallial fluid}} / \text{Me}_{\text{water}}$) and distribution coefficient (refer to Fig. 5 and the equations 3, 4 and 5) are calculated for each species on the analytical data, and show in Tables 4 and 9, respectively.

The results obtained in this study suggest that the physiological and biochemical equilibrium of Ca^{2+} and HCO_3^- as well as such electrolytes as Na^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} etc. exists between extrapallial fluid and shell mineral, and that the equilibrium condition differs essentially from that between shell mineral and environmental water.

文 献

- 阿部修治 1973. 常磁性共鳴吸収法による天然炭酸カルシウム中のマンガンの存在状態の研究。「海洋の微量成分に関するシンポジウム」講演要旨集 pp. 17-21(東大海洋研).

- Asano, M., Ito, M. and Kumagai, T. 1956. Comparative biochemical studies on aquatic animals. I. Calcium turnover of the freshwater fish and shellfish. *Tohoku J. Agricult. Res.* **6**: 341—360.
- Beedham, G. E. 1958. Observation on the mantle of the lamellibranchia. *Quart. J. micr. Sci.* **99**: 188—197.
- Bevelander, G. and Benzer, P. 1948. Calcification in marine molluscs. *Biol. Bull.* **94**: 176—183.
- Bevelander, G. 1952. Calcification in molluscs. III. Intake and deposition of Ca^{45} and P^{32} in relation to shell formation. *Biol. Bull.* **102**: 9—15.
- Bevelander, G. and Nakahara, H. 1966. Correlation of lysosomal activity and ingestion by the mantle epithelium. *Biol. Bull.* **131**: 76—82.
- Chave, K. E. 1954. Aspects of the biogeochemistry of magnesium. I. Calcareous marine organisms. *J. Geol.* **62**: 266—283.
- Dodd, J. R. 1965. Environmental control of strontium and magnesium in *Mytilus*. *Geochim. Cosmochim. Acta* **29**: 385—398.
- Dodd, J. R. 1967. Magnesium and strontium in calcareous skeletons: A review. *J. Paleontol.* **41**: 1313—1329.
- Hallam, A. and Price, N. B. 1968. Environmental and biochemical control of strontium in shells of *Cardium edule*. *Geochim. Cosmochim. Acta* **32**: 319—328.
- Fretter, V. 1953. Experiments with radioactive strontium (^{90}Sr) on certain molluscs and polychaetes. *J. Mar. biol. Asoc. U. K.* **32**: 367—384.
- 林 一正 1971. 琵琶湖の真珠養殖. 滋賀県真珠養殖漁協編.
- 堀口吉重 1957. アコヤガイ及びイケチョウガイの生化学的研究—III. イケチョウガイ各器官の Ca^{45} 集積及び排出. *日水誌* **22**: 747—751.
- 堀口吉重 1958. アコヤガイ及びイケチョウガイの生化学的研究—IV. イケチョウガイによる ^{45}Ca の吸収と貝体内における移動. *日水誌* **23**: 710—715.
- 堀口吉重 1959a. アコヤガイおよびイケチョウガイの生化学的研究—VII. 貝殻の微量成分について(その1). *日水誌* **25**: 392—396.
- 堀口吉重 1959b. アコヤガイおよびイケチョウガイの生化学的研究—IX. 貝殻の微量成分について(その2). *日水誌* **25**: 397—401.
- 堀口吉重 1959c. アコヤガイおよびイケチョウガイの生化学的研究—X. 貝殻中の Mn の形態について. *日水誌* **25**: 675—679.
- 堀口吉重 1960. アコヤガイおよびイケチョウガイの生化学的研究—XIV. ^{32}P によるアコヤガイの P 代謝について. *日水誌* **26**: 716—720.
- 生田国雄 1967. 水棲生物の重金属蓄積に関する研究—I. カキの銅含有量について. *日水誌* **33**: 405—409.
- 井上義雄・小穴進也・小山忠四郎・森田良美・田中元治 1952. 真珠漁場改良に関する研究(第1報). 英虞湾の海水並に海底泥に関する化学的調査(予報). *三重県水試研報* **4**: 1—6.
- Istin, M. and Kirscker, L. B. 1968. On the origin of the bioelectrical potential generated by the freshwater clam mantle. *J. General Physiol.* **51**: 478—496.
- Jodrey, L. H. 1953. Studies on shell formation. III. Measurement of calcium deposition in shell and calcium turnover in mantle tissue using the mantle-shell preparation and Ca^{45} . *Biol. Bull.* **104**: 398—407.
- Jodrey, L. H. and Wilbur, K. M. 1955. Studies on shell formation. IV. The respiratory metabolism of the oyster mantle. *Biol. Bull.* **108**: 346—358.
- Kado, K. 1954. The distribution of alkaline phosphatase in mantle tissue of bivalves. *J. Sci. Hiroshima Univ., Ser. B.* **15**: 183—188.
- Kado, Y. 1960. Studies on shell formation in molluscs. *ibid. Ser. B.* **19**: 163—210.
- 北野 康 1967. 古代海水の化学組成と温度—貝殻物質からの推定—. *科学* **37**: 366—372.
- 小西健二・大村明雄・原田知子・中山千賀子 1973. 造礁性石サンゴとシヤコガイよりもとめたアラレ石・海水間の Sr^{2+} に関する分配定数. 昭和47年度文部省科学研究費補助金総合研究(B)化石硬組織の同位体, 44—55.

- Lowenstam, H. A. 1961. Mineralogy, O^{18}/O^{16} ratios and strontium and magnesium contents of recent and fossil brachiopods and their bearing on the history of the oceans. *J. Geol.* **69**: 241—260.
- 箕田冠一・村長義雄・吉原利雄 1967. 水底質汚濁に関する研究—Ⅲ 淡水真珠養殖漁場水中の ABS の分布及びその影響等について. 滋賀県水試研報 **20**: 175—195.
- 根来健一郎 1957. 琵琶湖の水質. 陸水学雑誌 **19**: 1—22.
- 西飯 保・桑谷幸正・植本東彦・山村 豊・和田克彦・前田弘也 1970. 真珠養殖漁場の海洋観測 (1967—1969)—三重県・英虞湾一. 国立真珠研資料 **1**.
- Odum, H. T. 1951. Notes on the strontium content of sea water, celestite radiolaria, and strontianite snail shells. *Science* **5**: 211—213.
- Omura, A., Konishi, K., Nakanishi, T. and Sakanoue, M. 1973. Heterogeneities of uranium distribution in fossil and present-day *Tridacna* shells and their implications to dating. *Jap. Jour. Geol. Geogra.* **XLIII**: 1—20.
- 太田直一・戸村健児・大森昌衛 1972. 現世および化石貝殻中のナトリウムおよびマンガン. 日化誌 **10**: 1860—1867.
- Romeril, M. G 1971. The uptake and distribution of ^{65}Zn in oysters. *Marine Biol.* **9**: 347—334.
- 関 政夫 1972. 養殖環境におけるアコヤガイ, *Pinctada fucata*, の成長および真珠品質に影響を及ぼす自然要因に関する研究. 三重県水試研報 **1**: 32—149.
- 菅原 健・小山忠四郎・井上義雄・森田良美・田中元治・内藤英夫 1953. 真珠漁場改良に関する研究 (第2報) 1952年秋に於ける英虞湾, 五ヶ所湾及びびの矢湾の調査. 三重県水試研報 **5**: 27—35.
- 田中正三・波多野博行 1956. ^{45}Ca を使用する真珠および貝殻形成の化学機構の研究. アイソトープ研究利用総覧. 307—311.
- 辻井 禎・町井 昭 1953. 真珠形成および貝殻形成時における Carbonic anhydrase の組織化学的観察. 科学 **23**: 148.
- Ueda, T., Suzuki, Y. and Nakamura, R. 1973. Accumulation of Sr in marine organisms — I. Strontium and calcium contents, CF and OR values in marine organisms. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **39**: 1253—1262.
- Wada, K. 1961. Crystal growth of molluscan shells. *Bull. Natl. Pearl Res. Lac.* **7**: 703—828.
- 和田浩爾 1972. 真珠袋の Ca 代謝機構と真珠の品質形成. 国立真珠研報 **16**: 1949—2027.
- 和田浩爾 1973. 外套膜の酵素組織化学による研究. 国立真珠研報 **17**: 2059—2074.
- 渡部哲光・吉井義一・岡田弥一郎 1957. Ca^{45} によるアコヤガイ *Pinctada martensii* (DUNKER) 稚貝の貝殻形成に関する研究—海水及び餌料よりの摂取の比較. 日水誌 **23**: 139—143.
- Wilbur, K. M. and Jodrey, L. H. 1955. Studies on shell formation. V The inhibition of shell formation by carbonic anhydrase inhibitors. *Biol. Bull.* **108**: 359—365.
- Wilbur, K. M. 1964. Shell formation and regeneration. in "Physiology of mollusca" (Academic Press) **I**: 243—282.

アコヤガイ外套膜の組織片培養^{*†}

町 井 昭

国立真珠研究所

真珠貝の外套膜の小片を同種の貝の軟体部組織中に内植すると、宿主の組織中でその殻側(外側)の上皮は再生して真珠袋を形成する。この真珠袋は真珠を直接包む1層の上皮細胞よりなる分泌組織で真珠を生成する機能をもっているが、この分泌機能が生成される真珠の品質に密接に関連しているため、その上皮の機能を追求することは真珠形成の研究では重要な問題の一つになっている。真珠袋上皮細胞の形態と分泌生成物の関係は組織学的観察によってこれまでに部分的に明らかにされた (Kawakami '52, '53, 町井ほか'57, 町井'68, 中原ほか'56, Ojima et al. '53, Tsujii'60)。

著者は真珠袋をつくる細胞、組織の性質をさらに追求するために外套膜の組織片培養を行い、原片とそれから遊出する細胞を容器内で四十数日間維持できることを報告した (町井'68)。今回の外套膜の組織片培養では原片を包む上皮が再生し、それより有機質が分泌されて原片の外面に沈着するのを肉眼ならびに顕微鏡的に確かめたので報告する。なお英文要約については城西歯科大学中原皓博士の校閲をいただいた。誌上を借りて厚く御礼申し上げます。

材 料 と 方 法

英真湾に産するアコヤガイ *Pinctada fucata* (Gould) の外套膜の縁膜部 (膜縁部も含めて) を眼科用鉗で带状に切り取りガラス板上で膜縁部だけを安全かみそりの刃で切り去った。ひも状にされた外套縁膜部を 500 γ /ml カナマイシンを含む Cameron の squid・clam 用塩類液を入れたシャーレにそれぞれ約3分間ずつ5回移しかえて洗い、これを塩類液で湿らせた汚紙 (東洋 No. 2) 上に置き、その上を汚紙 (塩類液で湿らせてある) で軽く押さえ粘液を除いた。次に新しい塩類液 (カナマイシンを含まない) で5回移しかえて洗い、その後ガラス板上で2mm角ないし3mm角に細切した。

液体培地の塩類組成はほぼ Cameron の squid・clam 用塩類液に準じ、アミノ酸など有機成分は培地 199 をうすめて $\frac{1}{10}$ 量にし、その他最終濃度0.5%となるようラクトアルブミン加水分解物 (NBC) を加え、血清成分としてアコヤガイ血液10%、仔牛血清10%を添加した。静菌は100 γ /1ml のカナマイシンによった。培地の組成を表に示す。

* Akira Machii. Organ culture of mantle tissue of the pearl oyster *Pinctada fucata* (Gould). With English summary, p.2116. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 18: 2111-2117. 1974.

† 国立真珠研究所業績 No. 206 (国立真珠研究所報告 18: 2111-2117. 昭和49年5月)

表1 培地の組成

組織培養用培地 199	10倍濃縮液 (千葉血清)	0.1ml
塩類補強液*		25.0ml
ラクトアルブミン加水分解物 (NBC) 10%液		5.0ml
アコヤガイ血液†		10.0ml
仔牛血清 (Difco)		10.0ml
カナマイシン (0.1g/1ml) 液		0.1ml
Na HCO ₃ 5%溶液		0.7ml
水		48.2ml
		100.0ml

* 塩類補強液 1l 中の組成

NaCl	102.4 g
KCl	1.8 g
CaCl ₂	5.1 g
MgCl ₂	11.8 g
MgSO ₄	16.7 g

水を加えて 1l とし高圧滅菌する。

† アコヤガイ血液の調製

- 1) 4年生アコヤガイの左殻を取り除き注射器で心臓穿刺により採血 (1個体当たり 0.5ml くらい) する。
- 2) 3,000rpm で30分間遠心。
- 3) 上澄液を前濾過: 沓紙 (東洋 No.2) をミリポアフィルターホルダーに装着して加圧濾過。
- 4) ミリポアフィルター (HA) で濾過滅菌 (10ml を濾過するためにはフィルターを3~4回かえる必要がある) する。

上記のようにして作った培地を用い組織片を鶏胚プラズマクロット法により23℃のもとで10%CO₂を含む空気を送りながら炭酸ガス培養器中で培養した。培地のpHは培養開始時7.2であったが1日後に7.6となりそれ以後安定した。培地は3日ごとに交換した。培養の生体観察は主として到立型顕微鏡により、普通光、位相差および必要に応じて偏光を使った。一定期間経過した培養はDavidson液で固定後パラフィン切片をつくり、エールリッヒ・ヘマトキシリン-エオジン染色、ハイデンハイン・アザン染色をほどこし観察した。

結 果

培養開始後数時間から細胞の遊出が始まった。このとき見られた細胞は短くて先のとがった仮足を伸ばし細胞質顆粒に富むもので細胞体の形は一般に変形している。18時間ないし36時間後には原片の周囲に押し出された細胞が舌状の細胞遊出帯を形成した。細胞の遊出の程度は培養片ごとに又同一片でも断端によって大きな差がみられたが円形ないしやや変形した円形で細胞質に富む上皮性と思われる細胞とこれより小さくて円く前者よりやや明るくみえる細胞が認められた。ある培養片では原片の断端に接して円くて透明なわずかに細胞質顆粒を含む細胞が単独または数十個遊出しているのを認めた。細胞が重なり合っている場所とくに原片近くでは繊維芽細胞様の形態をとるものは少なく、これらは細胞遊

出帯の外縁又は細胞遊出帯から離れた場所に見られた。細胞遊出帯の外縁部では繊維芽細胞様細胞が外縁に伸び出すように網目状組織を形成していることがあった。ある培養片では数秒から十数秒間隔で原片ので筋肉が伸縮運動をするのがみられ、この状態は長いもので7~8日間続いた。

培養開始後4~7日間に多くの培養において、原片の周囲に形成される細胞遊出帯が大きくなったが原片周辺では細胞は移動性に富み隣接する細胞同志の結合はゆるい。この時期以後に紡錘形、球形あるいはひも状の筋肉細胞ないし筋肉束が遊出した。それらは原片から外圍に向かって放射的に伸び出すが原片を離れたものは方向性はまちまちで器底に沈ん

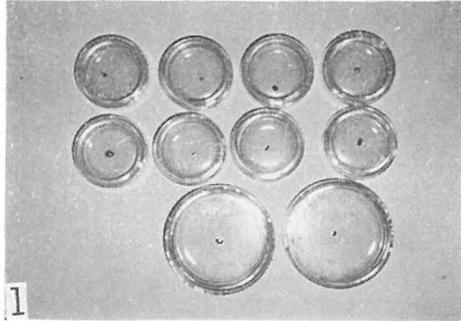


Figure 1. Fourteen day culture showing surface deposition of the secreted organic substance.

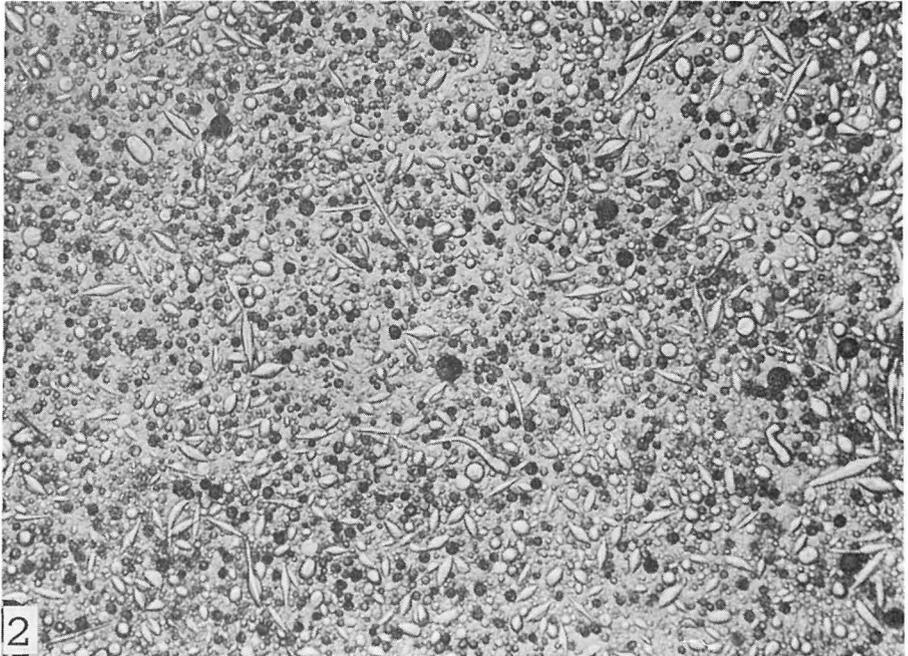


Figure 2. Cell sheet from the twenty-one day culture of the mantle tissue $\times 120$

であり、器面には強く付着せず培地が動かされるとゆれ動く状態にある。大きさは3~5 μ ×40 μ 前後のものが多いがさらに大きくてひも状に見えるものもある。いずれもよく観察すると長軸方向に縞模様になる数条のすじが見える。核はよく見えない。紡錘形のものもひも状のものも偏光下で載物台を回転すると消光する。球状のものは十字消光を示す。7日以後になるとシャーレ底面の周縁部を縁どるように帯状の細胞シートが形成された。これが大きくひろがった培養では約10mm巾でシャーレの周縁部を縁どっていた。この細胞シート中には円くて比較的明るく見える直径4~5 μ の上皮細胞、暗褐色に見える色素を含む上皮細胞、筋肉束ないし筋肉細胞及び血液細胞などが入りまじってシートを構成している。これら細胞は特にきわだった規則的の排列を示さないが細胞相互の間隙は小さく、器底によく付着しており、多くのものは培地を交換してもはげ落ちなかった (Fig. 1)。

しかしシャーレ周縁部に形成された細胞シートと原片との間は細胞によって埋めつくされなかった。

12日後にはすべての培養の原片の一部又は全面が瀰漫性にこげ茶色を帯びるに至り、その後2~3日で原片全体が黒褐色ないし黄褐色に変わるのを肉眼で確かめた (Fig. 2)。固定染色標本によると、原片の一部又は大部分を円柱上皮がおおっておりその外側を繊維状の分泌物がとりまいているのが認められた。ヘマトキシリン-エオジン染色によると分泌物はわずかに紫色に、アザン染色でも同様赤紫を帯びる程度にしか染まらず、こげ茶色の色調をとる。原片の周囲に再生した上皮を構成する円柱上皮細胞はエオジンに染まり、アザン染色で青、紫などに染まる大きな顆粒と赤紫に染まる小さい顆粒を多数含んでいるがこれら顆粒はいわゆる有機質真珠を生成する円柱上皮細胞にみられる細胞質顆粒 (中原ほか'59)と同じ染色性を示した。シャーレ周縁部にできた細胞シートを構成する細胞は四十数日後に萎縮脱離するものが多く、それ以後に細胞シートは破壊された。

考 察

Perkins et al. ('64)はアメリカガキ *Ostrea virginica* の, Gatenby et al. ('34)はカタツムリ *Helix aspersa* の外套膜片を懸滴培養し原片のまわりにアメーバ状細胞が遊出して網目状の組織をつくるのを認めているが、今回のシャーレによる培養では著しい網目状組織の形成よりは、円い細胞が多数重なるように集まってできる細胞遊出帯の方が目立った。しかし Chernin ('63)が *Australorbis glabratus* の心臓の培養で観察したような多角形になった上皮様の形態をとった細胞よりなる細胞シートの形成はみられなかった。また培養4日から現われた筋肉性の組織は大きいものは長軸方向に走る幾すじものすじが見え偏光観察によって消光することより平滑筋細胞が集まってできた筋肉束で、小さいものは筋肉細胞であろうと思われる。これらの現象については Gatenby, Perkins の外套膜培養において触れられてない。遊出した細胞の形態及び細胞遊出帯の違いは、懸滴培養とフラスコ培養という閉鎖的な環境下での結果に対して、シャーレ培養という開放系のもとで行われた培養条件の違いがもたらしたものであると考える。培地については今回は充分検討できなかったが、培地 199 及びその $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{100}$ 液に塩類を補強して作った培地の中では $\frac{1}{10}$ のも

のが細胞の遊出によい結果を得ているので*、培地199を希釈して $\frac{1}{10}$ としたものを基本として使った。これは Kitamura ('69) がトカゲ *Takidromus tachidromoides* の心、腎、肺、生殖器官などの培養に培地199の5倍希釈液に血清等を添加したのを使い成果を収めているのに対比して興味深い。また Kenny ('64) はカキ体液のアミノ酸分析を行った上で培地中のアミノ酸等の量を定めカキ心臓の組織片を培養し細胞の遊出増殖によい結果を得ているが、培地中のアミノ酸の量は培地199の数分の一ないし十数分の一となっていた。カキ血液の蛋白について矢後ほか ('59) は $234 \pm 74\text{mg}\%$ 、囲心腔液で $59 \pm 74\text{mg}\%$ であるとし、また糖については山口ほか ('59) は矢後らと同一材料の分析より加水分解物ヘキソースは血液中に $124\text{mg}\%$ 及び $127\text{mg}\%$ という値を得ていることより海産貝の培養のためには脊椎動物のための合成培地たとえば培地199などよりはるかに薄い有機成分を含む培地を用意すべきことを示唆しており、今回著者が培地199を $\frac{1}{10}$ にうすめて使用したことが大体妥当な方法であったと考える。アコヤガイ血液中の各アミノ酸の量比は培地199のそれとは一致しないから(未発表)培地199を単に希釈するだけでなく、アミノ酸、糖をはじめその他の必須成分の量も考慮に入れてアコヤガイ細胞維持用培地、器官培養用培地などを作成する必要がある。

今回は原片の外套膜外側上皮は *In vitro* で原片をおおう上皮を再生し、それより外側に向かって有機質を分泌することを確認したが、このことは開放系の炭酸ガス培養によって外套膜片が *In vitro* で不完全ながら器官培養の状態に保持され、変則的ではあるが再生上皮がその機能を発揮した結果であると判断する。すなわち、この手法を組織、器官の機能の追求を目指す研究に用い得ることを実証した。Bayne ('68) はその綜説で多くの研究例をあげて軟体動物の器官培養は形態形成、内分泌など種々の研究に有力な手法であることを述べている。今回の培養結果では原片から有機質だけが分泌される状態にある。一方外套膜片の内植後、その外側上皮の再生によって形成された真珠袋から分泌される有機質は移植片とそれに続く部位に比較的短期間みられることが多い (Kawakami '52)。この事実と今回の培養で原片の周囲に有機質の分泌がみられたのが同様の現象によるものかあるいは今回の培養では、培地や培養方法など培養環境が原片の機能を正常に保たせるためにはなお不完全であったため有機質の分泌だけがみられたものかを示す決定的な証拠はない。この点については、培養期間をさらに長くする、培養片を基質中に埋め込む、培地の組成、濃度を変えるなど種々の培養条件下で組織、細胞の機能、形態と分泌物との関連性などを追求するなかで明らかにしていくことができ、それによって組織細胞の機能の解析を *In vitro* でさらにすすめることができるようになるものと考えられる。

要 約

アコヤガイ *Pinctada fucata* (Gould) の外套膜の組織片培養を行った。

培養方法はガラスシャーレを用いたプラズマロット法により、炭酸ガス10%を含む空気を送りながら23℃のもとで培養した。

* 未発表

12日以後に原片の周囲に有機質が分泌されるのを肉眼ならびに顕微鏡によって確かめた。シャーレ周縁部に上皮性細胞、筋肉束ないしは筋肉細胞よりなる細胞シートが形成された。

Summary

Organ culture of the mantle tissue of the pearl oyster *Pinctada fucata* (Gould) was performed by plasma clot method using glass Petri's dish. Culture chamber was kept at 23°C in CO₂ incubator gassed with 10% CO₂ and air mixture.

After 4 to 7 days the tongue shaped mass of cells outgrew from the explant in most of the culture. At the same time, sheet like accumulations of a large number of migrated cells derived from the explant consisting of roundish epithelial cell, pigmented epithelial cell, spindle shaped muscle cell or string like muscle bund were observed on the periphery of the Petri's dish (Fig. 2). The cells in the sheet were randomly arranged, and placed in close contact with each other. In the 12 and over 12 day cultures, depositions of the organic substances secreted from the regenerated epithelia were clearly seen with unaided eye or microscope (Fig. 1).

文 献

- Bayne, C. J. 1968. Molluscan organ culture. *Malacol. Rev.* 1: 125-135.
- Chernin, E. 1963. Observations on hearts explanted in vitro from the snail *Australorbis glabratus*. *Jour. Parasitol.* 49: 353-364.
- Gatenby, J. B., J. C. Hill 1934. Improved technique for nonaseptic culture of *Helix aspersa*, with notes on molluscan cytology. *Quart. J. Micr. Sci.* 76: 331-352.
- Kawakami, I. K. 1952. Studies on pearl-sac formation. I. On the regeneration and transplantation of the mantle piece in the pearl oyster *Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ. Ser. E (Biol)* 1: 83-88.
- Kawakami, I. K. 1953. Studies on pearl-sac formation. II. The effect of water temperature and freshness of explant on pearl-sac formation. *Annot. Zool. Japon.* 26: 217-223.
- Kenny, M. T. 1964. The *in vitro* maintenance of oyster cardiac tissue in undefined and chemically defined media. University Microfilms Inc. Ann Arbor, Michigan
- Kitamura, S. 1969. Tissue culture of lizard organ. *Kobe J. Med. Sci.* 15: 131-135.
- LI, M. F., J. E. Stewart 1966. In vitro cultivation of cells of the oyster. *Crassostrea virginica*. *J. Fish. Res. Bd. CANADA* 23: 595-599.
- 町井 昭・中原 皓 1957. 真珠袋の組織学的研究Ⅱ. 季節による真珠袋形成速度の差異. 国立真珠研報2: 107-112.
- 町井 昭 1968. 真珠袋形成に関する組織学的研究. 国立真珠研報13: 1489-1539.
- 中原 皓・町井 昭 1956. 真珠袋の組織学的研究Ⅰ. 異常真珠と正常真珠の真珠袋の比較. 国立真珠研報1: 10-13.
- Ojima, Y., T. Watanabe 1953. Studies on pearl-sac in *Molluscs* I. Pearl-sac formation in Schlegel's fresh water mussel *Hyriopsis schlegeli*. *Ann. Studies Kwansei Gakuin Univ. Nat. Sci. Ser.* 1: 57-63.
- Perkins, F. O., R. W. Menzel 1964. Maintenance of oyster cells *in vitro*. *Nature* 204: 1106-1107.
- Tsujii, T. 1960. Studies on the mechanism of shell and pearl formation in *Mollusca*. *Journ. Fac. Fish. Univ. Mie* 5: 1-70.

- 矢後長純・永瀬金一郎・山口正弘・高槻俊一 1959. カキの体液の化学成分に関する研究 I. マガキ (*Gryphea gigas*) の血液及び囲心腔液に含まれる蛋白質. 動雑 68:8-11.
- 山口正弘・永瀬金一郎・矢後長純・高槻俊一 1959. カキの体液の化学成分に関する研究 II. マガキ (*Gryphea gigas*) の血液に含まれる糖類. 動雑 68:12-15.

冬季保温飼育された アコヤガイの成長と成熟^{*†}

桑谷幸正・西飯保・和田克彦
淡水区水産研究所 東海区水産研究所 国立真珠研究所

アコヤガイを陸上水槽で飼育することは、水槽実験のためなどの研究手法上、また養殖管理を一部陸上の制御された環境で行なうなどの応用面でも重要なことと思われる。

二枚貝を長期間陸上水槽で餌を与えて成長させる試みは多くの難点を含むためこれまであまり成功していないようである。ただ人工受精などのため貝を成熟させる目的で水槽飼育を試みた例はみられる (Loosanoff and Davis, 1950; 1951; 1952; Maurer and Price, 1968; Price and Maurer, 1971; Sastry, 1966)。また最近米国ではカキをふ化から収穫まで完全に水槽内で行なう試みもされつつある (Maurer, 1972)。

著者の一人桑谷はこれまでアコヤガイの水槽での飼育を試み、精白米粉末が餌料として使用し得ることをみてきた (桑谷, 1964a; 1964b; 桑谷・西飯, 1966a; 1967; 1968b など)。今回はこれまでの結果を踏まえてやや大型の装置 (水量約 0.8トンの水槽を 3個組み合わせたもの) を用いて、冬季に流水式の飼育を行ない、主として水中重量からみた成長や生殖腺の成熟と水温の関係をみた。飼育方法等にまだかなりの問題を含んでいるが、ここにその結果を報告し今後の参考に供したい。

報告に先だち発表の機会を与えられた当所林知夫所長また水質分析などに協力いただいた当所前田弘也技官およびいろいろと討議いただいた当所職員の方々に厚くお礼申し上げます。

材料 および 方法

飼育水槽 Fig. 1 に示したように 1 トン水槽 (100×100×100cm, 水量 0.8トン) 3個を 1組とし、一方より餌料の投与と給水を行ない他の一方より排水を行なった。注水側より第 1 槽 (No. 1), 第 2 槽 (No. 2), 第 3 槽 (No. 3) と呼称する。飼育水は第 1 槽と第 2 槽および第 2 槽と第 3 槽の間を 40ℓ/min. のケミカルポンプ (P) をもって循環させた。循環水は各槽の底より汲み上げつぎの槽の水面に撒布した。各槽の 4 角にエアパイプ・ストーンを沈め通気攪拌した。実験には 5 組の水槽を用い、それぞれに、14, 18, 22, 26 および 30℃±0.5℃に調整された海水を毎時約 400ℓずつ注入した。なお使用した海水は当所

* Yukimasa Kuwatani, Tamotsu Nishii and Katsuhiko Wada. Growth and maturation of Japanese pearl oyster reared in the tank in winter. With English summary, pp. 2127-2128. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 18: 2118-2131. 1974.

† 国立真珠研究所業績 No. 207 (国立真珠研究所報告 18: 2118-2131. 昭和49年5月)

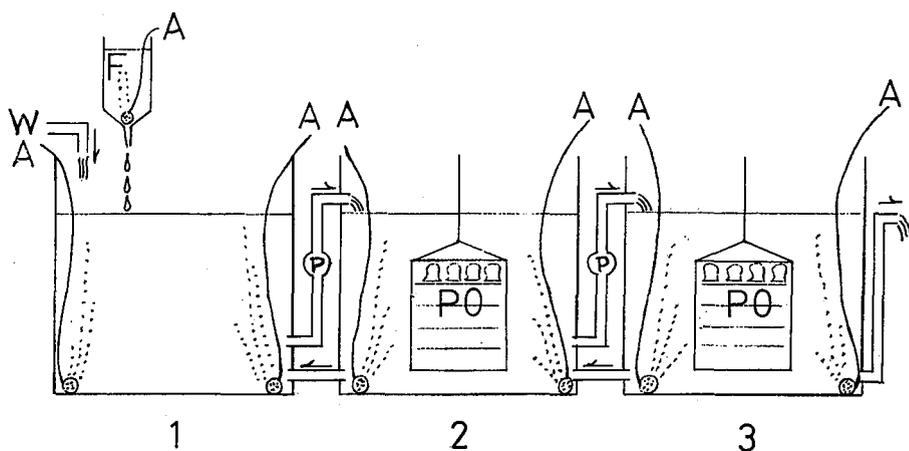


Fig. 1 Scheme of the apparatus used for rearing the pearl oyster. F: Food-supplying tank, A: Air, W: Temperature controlled water, P: Pump, PO: Test pearl oyster, 1, 2, 3: Rearing tank No. 1, 2, and 3.

多徳島臨海実験場地先から汲み上げて濾過はいっさい行なわれず、一担貯水槽(約8トン)に貯水されたもので、海水はそこから熱交換器で調温され、水温安定のための小型水槽(約0.2トン)を経て飼育槽に注入された。

飼育方法 満2年(通称3年貝)アコヤガイで大きさが比較的均等であり、外見的に健康であると思われる貝400個を選び、各組の第2槽および第3槽に40個ずつ化繊網籠に収容し垂下した。飼料として1昼夜以上淡水に浸漬した精白米10gをホモゲナイザーで粉末にし10ℓの淡水に懸濁させたもの(桑谷・西飯, 1968b)を各組第1槽に約22時間かかって滴下するようにした。投餌は毎日行ない、投与開始時間は原則として毎日14時とした。

実験期間および測定方法 貝の収容は1月14日に行ない1月16日に昇温を開始して1日約2℃昇温し1月28日に所定の温度となったので(Fig. 2), 各供試貝の水中重量を測定し(西飯, 1965; 桑谷・西飯, 1966b), その後10日間隔に飼育終了日の3月19日まで6回の測定を行なった。水中重量は1個体ずつ標識で区別してそれぞれについて測定し期間中の増加量を算出した。この間2月27日(第1回水中重量測定後30日目)に各槽試験貝40個のうち20個をとりあげ、全湿重量, 貝殻湿重量, 肉質湿重量, 貝柱湿重量, 貝柱乾燥重量および杆晶体重量を測定し、生殖腺の組織学的観察を行なった。なおとりあげた貝と同数の貝を補充した。ただし海水温10℃から急に高温水に入れられた貝は高い斃死率を示した(22℃: 1個, 26℃: 4個, 30℃: 10個)が、それらの補充は行なわなかった。また、補充群の諸測定および観察は他と同様に行なったが、データの解析には含めていない。飼育終了後、前述の中間とりあげと同様の供試貝についての諸測定および肉質乾燥重量を測定した。なお、その際の生殖腺の観察は各組第3槽のものに行ない、肉質乾燥重量は各組第2槽の供試貝について測定した。杆晶体重量は4個体分をまとめてトーションバランスで測定した。生殖腺はブアン固定を行ないパラフィン包埋したものを7μの切片とし、マイヤーのヘマラム・エオジン染色をして観察した。

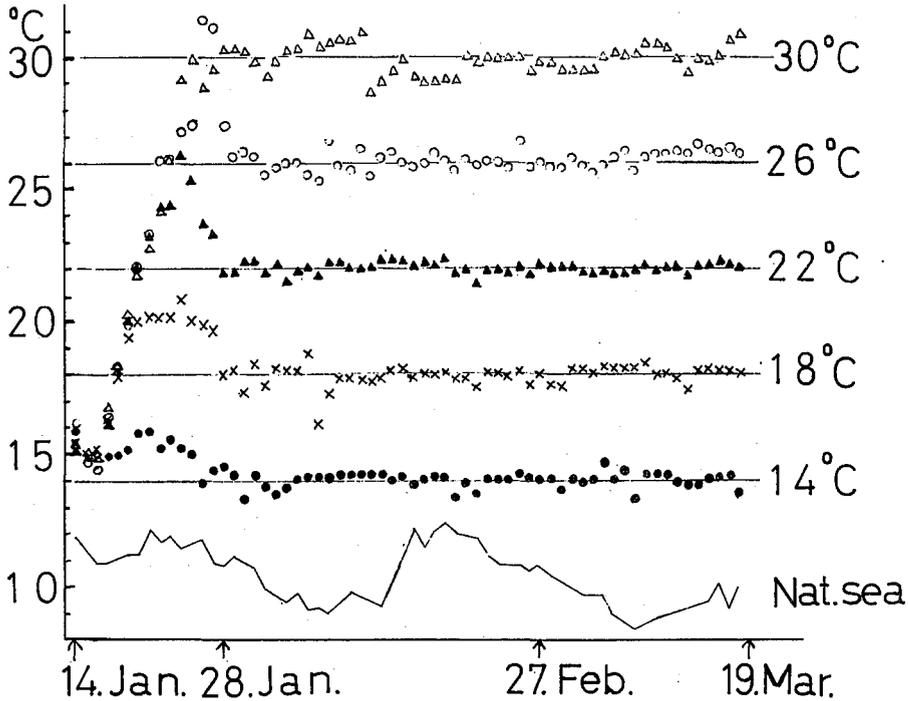


Fig. 2 Water temperature of rearing tank and natural sea.

水質調査 飼育期間中3回(1月29日, 2月18日, 3月6日)以下の項目について第2, 3両槽の飼育水について水質分析を行なった。分析の項目および方法はつぎのとおりである。塩素量は日本海洋学会編海洋観測指針にもとづいた。pHはC.R.を指示薬として標準緩衝液による分光光度計波長575nmの吸収曲線を描き, 供試海水の吸光度からpH値を求め塩誤差を補正した。アルカリ度の測定はルビン法でチオ硫酸ナトリウムにより滴定した。C.O.D.は強アルカリ性下における過マンガン酸カリの酸素消費量を沃度法により滴定した。アンモニア-N, 亜硝酸-N, 硝酸-NはStrickland and Parsons (1960)の方法に従った。磷酸-Pは海洋観測指針にもとづき呈色を700nmの吸光度で測定した。カルシウムは2-Hydroxy-1-(2-hydroxy-4-surf-1-naphthylazo)-3 naphthoic acidを指示薬として0.01 M EDTA-2Naにより滴定した。

結 果

以下測定, 観察項目別に述べるが, 水質分析の結果については一括してAppendix Table-Iに示した。

水中重量の変化 各組(水温区)別の1個体あたりの水中重量でみた増重の様子を示したのがFig.3である。水温が高い区程増重が著しく, 特に高温区では第3槽より第2槽の成長がよい。14°Cの区や第3槽の30°C区での40日以後には重量の減少がみられた。各測定

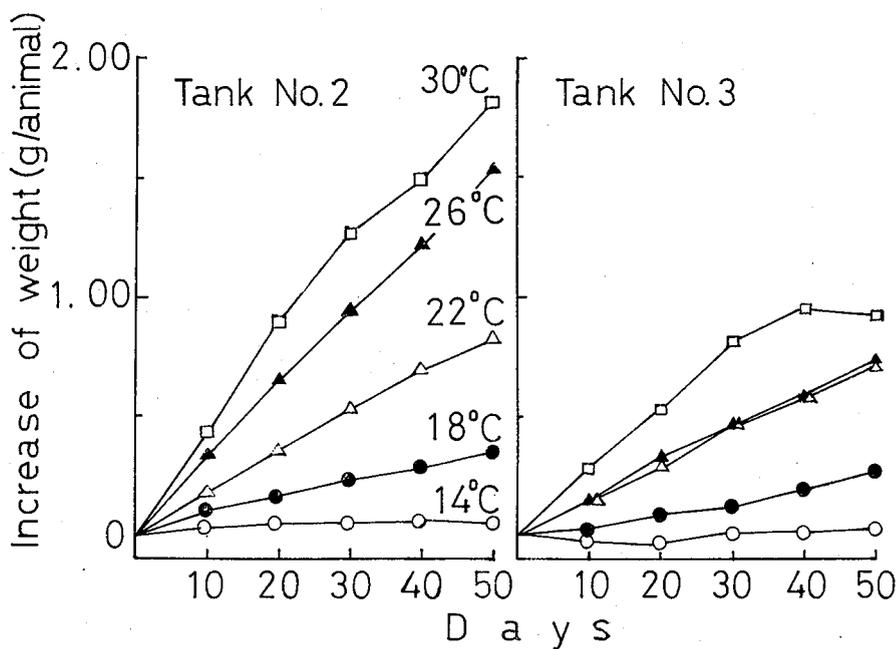


Fig. 3. Changes in cumulative increased underwater weight of pearl oyster during the rearing period

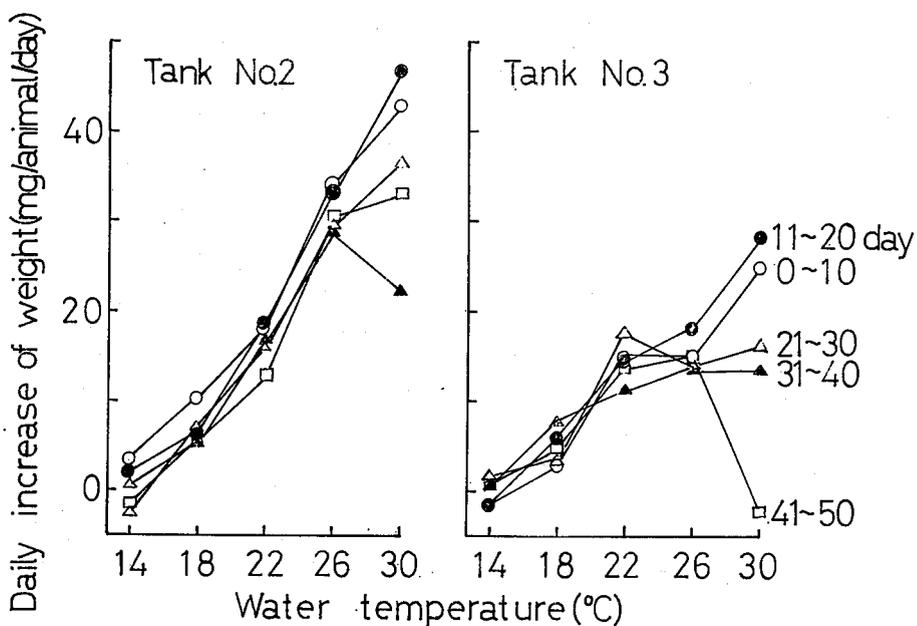


Fig. 4. Changes in daily increase of underwater weight of animals.

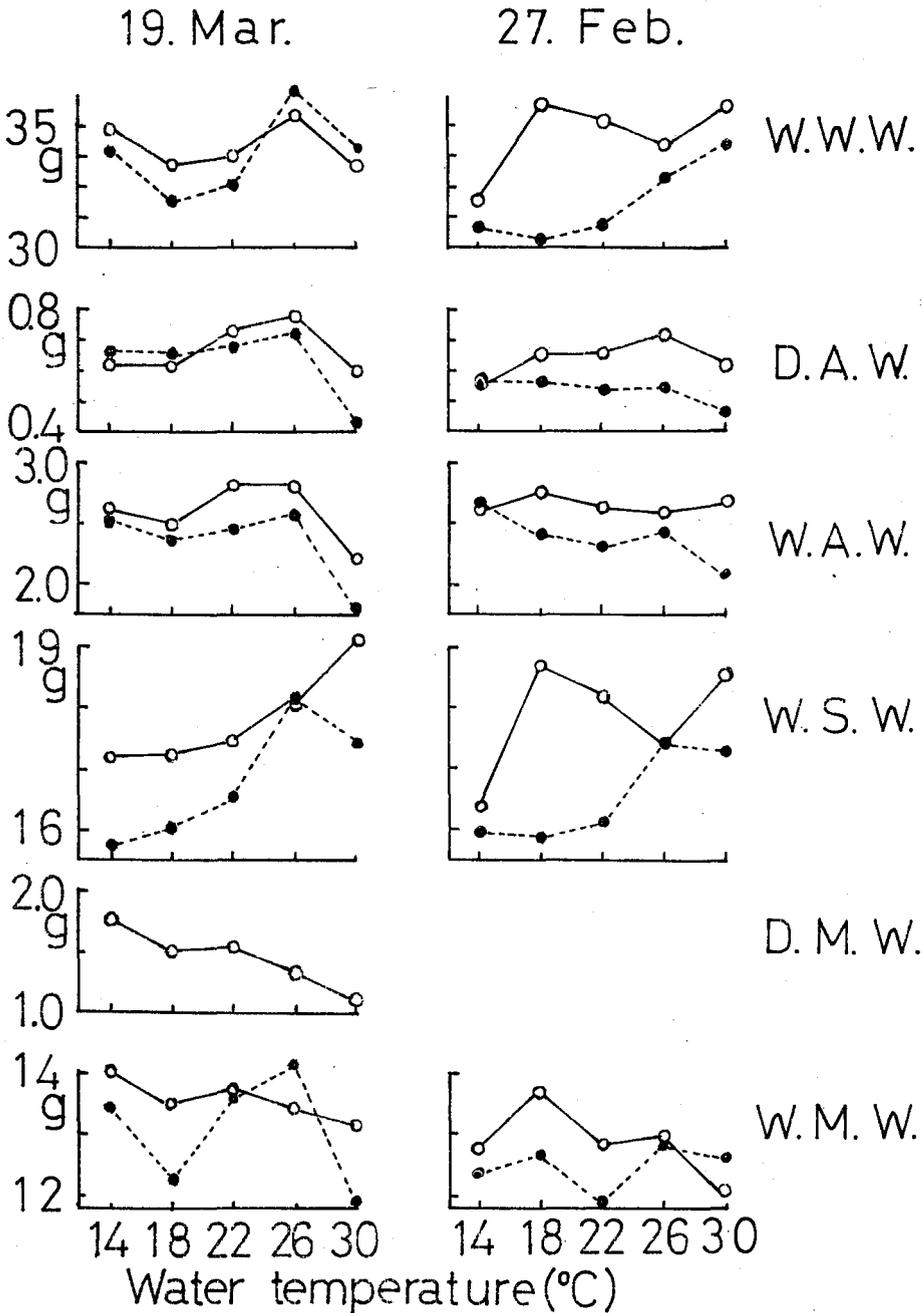


Fig. 5. Wet whole weight (W. W. W.), dry adductor muscle weight (D.A.W.), wet adductor muscle weight (W. A. W.), wet shell weight (W. S. W.), dry meat weight (D. M. W.) and wet meat weight (W. M. W.) of the test animals. Open circles : tank No. 2, Solid circles : tank No. 3.

日間の1個体あたりの日間成長量を各区別に計算してみると Fig. 4 のようになる。全般的に飼育後半には前半にくらべ少なくなっており、その傾向は特に高水温区の30℃区で著しい。

軟体部各種重量および貝殻重量 Fig. 5 に30日後と50日後の1個体あたり平均の全湿重量、貝殻湿重量、肉質湿重量、貝柱湿重量および貝柱と肉質の乾燥重量を示した。これらのデータは同一個体の継続測定結果ではないことや個体間のバラツキ (Appendix Table II 参照) が大きいわりには各水温区間の差があまりみられないことから、各水温区の貝の成長状態の差異をよく表わしているかどうかは明らかでないが、貝殻湿重量では高水温区ほど高い値を示し、肉質乾燥重量 (50日後第2槽のみ) ではその逆の関係がみられる。また、50日後の全湿重量、貝柱湿重量、乾燥重量が26℃区で大きい値を示しているのに30℃区では小さい値となっている。全般的に第3槽より第2槽の方が値が大きいことも注目される。

杆晶体重量 30日後と50日後に測定した1個体あたり杆晶体重量は Fig. 6 に示したと

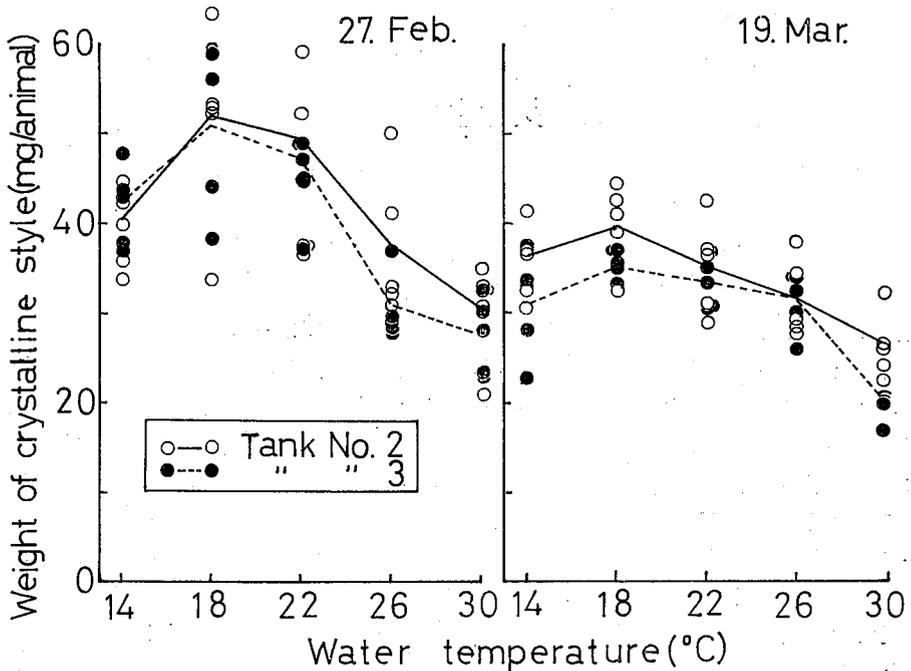


Fig. 6. Weight of crystalline style. Four styles were weighed in the lump.

おりであるが、両回とも18℃区が最も重い。他の水温区でも両回とも似た傾向を示しており、26℃、30℃と高温区程小さい値を示しているのが注目される。またバラツキは大きいですが、第3槽より第2槽が、50日後より30日後の方が大きい傾向がみられる。

生殖腺の組織学的観察 植本 (1958) にしたがって各個体を各成熟段階に分類し、各水温区ごとにその頻度を調べた。それらをまとめて Fig. 7 に示した。なお実験に用いたも

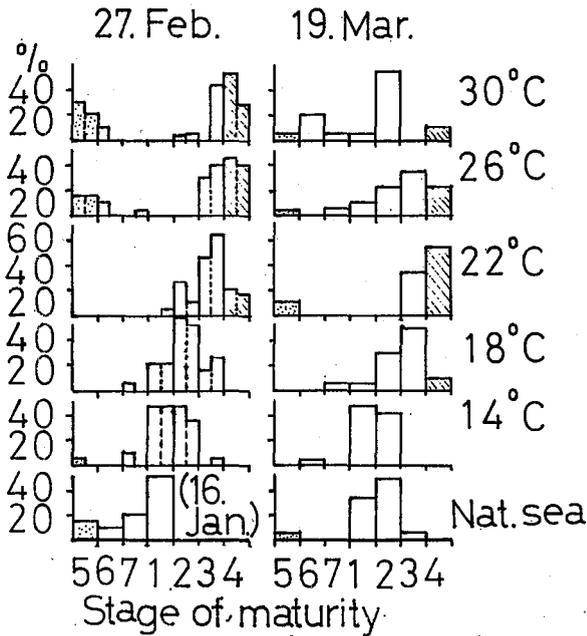


Fig. 7. Frequencies of the stage of maturity of pearl oyster reared at different temperature. Each stage was classified by histological observation after Uemoto (1958). The left part of the area of one stage in "27. Feb." represents the sample from the tank No. 2 and the right one from No. 3. All samples in "19. Mar." are from the tank No. 3.

のと同履歴の貝で多徳島臨海実験場海面約2m層で養殖してあったものを実験開始時（1月16日）と終了時（3月19日）に対照群として観察したが、それらの結果も同時に示してある。この図にみられるように実験開始時にはほとんどの個体が第1期（成長前期）か第7期（濾胞期）の段階であった。30日後の結果では水温が高い区ほど成熟の進んだ段階の個体の出現率が多くなる傾向が明瞭にみられる。生殖素の放出が最も盛んな第4期（放出期）は22°C区から出現し、26°C、30°C両区では第5期（放出後期）、第6期（濾胞前期）等も多く現われ、再び新しい生殖原細胞や生殖母細胞を形成している個体もみられた。次に50日後では14°C区と海の対照群はほぼ同じ傾向を示しほとんど成熟の進展はみられない。18°C区では成熟が進んでいる個体が出現しはじめており、22°C区で放出状態のものが数多いことがわかる。26°Cと30°C両区では第2期（成長後期）、第3期（成熟期）の個体がみられ、その組織像は一般に散漫で生殖細胞の数も少なかった。これらは一度産卵を終えて再び成熟してきた個体と思われる。また今回飼育されて成熟した個体の生殖腺は肥満度が低く、夏季天然の海で成熟したものに比べ生殖細胞の数が少なかった。

考 察

成長について 養殖場でのアコヤガイの水中重量における増重量は、例えば植本（1970）

によれば、満2年貝を英虞湾の各漁場に5月～11月において測定した場合、1個体あたり日間成長量でほぼ20～50mgと報告されている。今回の陸上水槽での飼育結果のうち成長の良好な群もこれによく似た値を示した (Fig. 4)。上記報告と今回の実験における供試貝の大きさに相違はあると思われるが、両者ともに満2年の貝を用いているので、今回の実験での水中重量は養殖場での値とほぼ同じ程度のものと判断される。水中重量はほとんど貝殻重量で占められている (西飯, 1965) から、今回の水中増重量の大部分は貝殻の増重量であると考えられる。このことは50日間飼育した貝の貝殻湿重量と肉質乾燥重量の測定結果からもうかがわれ、前者は高水温程大きい値を示して水中増重量と同じ傾向を示しているのに、後者は逆に高水温群の方が小さい値となっている。また、貝柱の湿重量、乾燥重量ともに50日後では30℃区が特に小さい値を示した。このように、貝殻や軟体部の測定結果からみると、高水温区程貝殻の成長量は大きかったが、軟体部については、おそらく成熟・産卵および栄養物質の貯蔵・消費などに関連して複雑な変化をしたのではないかと推察される。また、これらのことは貝殻の成長と軟体部の成長では水温からの影響のされ方が異なることを示している。軟体部については生殖腺の成熟などに関連させて後述の部分で再び考察したい。

水中重量の蓄積増重量は高水温区程大きかったが、特に30℃区では飼育後半に日間増重量がそれまでに較べ減少した。さらに杆晶体重量はバラツキは大きいものの18℃を最高にしてそれよりも高水温区程小さい値を示し、また飼育終了時には中間の30日後よりも全般に小さくなっていった。これらのことから高水温区で飼育されたアコヤガイでは、飼育当初は蓄積栄養を消費して高水温に対応した貝殻重量の増加や生殖腺の肥大が続いたが、高水温のもとでの高い代謝率に見合う栄養補給の不足や高水温による代謝阻害などのため飼育後半にはそれらも減退したのではないかと想像される。なお高水温区で飼育された貝群ほど外套膜の透明な個体が多くみられたが、このことは高水温での外套膜グリコーゲンの消費とその供給不足を示唆している。これらの栄養不足の他に成長阻害要因として水質が考えられるが、Appendix Table I にみられるように今回測定された項目の範囲内では極端に悪い現象はみられなかった (桑谷・西飯, 1996a; 1968a; 1969a, b; 桑谷・西飯・磯貝, 1969; 桑谷・西飯・和田, 1970; 西飯他, 1970; 関, 1972)。しかしこの他の何らかの水質要因が影響をおよぼした可能性については不明である。

次に全ての水温区で第3槽より第2槽の方が水中増重量や貝殻および軟体部諸重量が大きかった原因について考えてみると、この場合もやはり餌料と水質の差が考えられる。水質については前述したように、今回の測定の範囲内では、特に第3槽が悪い項目は見あたらな。しかしこの場合も他の水質要因については不明である。餌料については、水槽内での分布状態を調べていないが、今回用いた飼育装置では第1槽から第2槽、第2槽から第3槽への循環の途中に懸濁された精白米粉末は沈殿や捕食のために濃度が減少していくことが考えられる。したがって第3槽内の餌料濃度が第2槽より少なかったことが考えられよう。

成熟について 二枚貝を産卵期でない時期に陸上水槽で成熟させる試みは *Crassostrea virginica* (Loosanoff and Davis, 1952; Maurer and Price, 1968), *Venus mercenaria*

(Loosanoff and Davis, 1950) および *Aequipecten irradians* (Sastry and Blake, 1971) などで行なわれており、それらによれば適当な水温のもとで十分な餌料を与えて飼育すれば生殖腺を成熟させることができるという。アコヤガイではこのような試みをした報告はみあたらない。今回飼育された貝を組織学的に観察した結果では成熟して産卵したと思われる個体が多くみられた。すなわち22℃区では30日後に約20%、50日後では55%が完熟し生殖細胞の放出が盛んな成熟段階である放出期(植本, 1958)に達しており、50日後の10%が放出後期の様相を呈していた。さらに26℃、30℃と水温が高くなるほど生殖腺の成熟した個体の出現率が高くなり、成熟に要する日数が短くなる傾向がみられ、18℃、14℃の低水温区では、成熟の進展が遅かった。このような水温と成熟の関係は Loosanoff and Davis (1952) や Price and Maurer (1971) が *C. virginica* についてよりくわしく観察して、水温と成熟に要する日数の関係を求めている。また、*Aequipecten irradians* でも生殖腺特に卵巣の発達と外圍環境の関係について調べられており、餌料と水温がそれらをコントロールしていると報告されている (Sastry, 1963; 1966; 1970a; 1970b; Sastry and Blake, 1971)。

今回は供試貝の産卵誘発および放出生殖素の受精率、発生率のチェックは行なわなかったものでこれら成熟放出された生殖素が正常に受精して発生するかどうかは不明であるが、少なくとも組織学的観察によるかぎり高水温区ではほとんどの個体が成熟生殖素を放出したと思われる。今回の飼育方法で十分冬季にアコヤガイを成熟させることができるとされる。しかしながら、人工受精による受精率・発生率のチェックや生殖細胞の数が少なかったことなど今後に残された問題点も多い。放出される卵の質や量の問題は Loosanoff and Davis (1952) や Sastry and Blake (1971) などが述べているようにグリコーゲンなどの栄養補給がおおいに関係していると考えられる。今回の観察結果でも前述したように飼育終了時特に高水温区ほど軟体部の重量が小さかったことや外套膜の透明化現象がみられた。また生殖腺も組織学的には成熟していても全体をみると特に測定はしなかったが肉眼での所見では天然での産卵期にみられるほど肥大しなかった。さらに一度産卵して再び生殖細胞を形成しているとみられる個体の生殖腺組織像は散漫で生殖細胞数が少なかった。これらのことから今回飼育されたアコヤガイでは生殖腺の成熟の場合も既に蓄積されていた栄養物質をほとんど一方的に消費しておこなわれ、特に高水温区ではそれらを消費しつくしてしまうともはや補給が少ないため成熟機能が低下減退したのではないかと想像される。飼育終了時の肉質乾燥重量が高水温区ほど小さい値を示したのはこれら蓄積栄養物の消費と補給不足および生殖素放出さらに新しい生殖細胞再形成の停滞などの結果と説明されそうである。

以上述べたように、今回の飼育方法は、成長の成熟のおおまかな観点から考察しても、まだ問題点が多いようである。それらは主として①栄養補給と②不明であるが何らかの水質要因、に大別できそうである。前者については、今回用いた精白米の餌料価値が栄養要求を十分満たし得るかどうかの疑問が残っているし、さらに精白米を与える場合でも水温や貝の収容密度および流水量などに対応する投餌料や投餌方法を決定する必要がある。また水質要因についても特に流水量(換水量)が収容密度、投餌料および水温などと関連

させて検討されなければならない。

要 約

1. 水量0.8トンの水槽を3個連結した装置を用い、流水式で米粉末を餌料とし、満2年アコヤガイを冬季約50日間種種の水溫で保温飼育した。水溫は14, 18, 22, 26, 30°Cの5段階ではぼ一定の状態を保った。供試貝の水中重量の増重量を10日間隔で測定した。また30日後と50日後に軟体部の各種重量を測定し、生殖腺の組織学的觀察を行ない、これらをもとに貝の成長と成熟の模様を推察した。

2. 水中増重量は水溫が高い区程多く、1個体あたり日間増重量は22°C以上の区で10mg~40mgとなり、自然海面養殖場での夏から秋にかけての値にはぼ匹敵する量となった。しかし飼育終了時の貝殻重量は水中増重量と同じ傾向を示したが、軟体部についてはその傾向がみられなかった。すなわち貝柱を除いた肉質の乾燥重量は水中増重量とは逆に水溫が高い程小さい値を示し、貝柱重量は25°C区が大きく、30°C区が最低の値を示した。また杆晶体重量は30日後、50日後ともに18°Cが最大であった。これら軟体部の変化は水溫差と関連して成熟産卵現象ならびに栄養の補給と消費のバランスなどによって起ったと推察された。

3. 生殖腺の組織学的觀察によれば、30日後には22°Cで既に成熟個体がみられ、26°C, 30°Cでは放卵、放精後の個体が出現し、今回の飼育方法で冬季成熟個体を得られることがわかった。しかし受精率、発生率などの卵の質や生殖細胞数としての量の問題は今回調査されなかったので今後の実験で究明すべき点として残している。

Summary

1. This paper deals with the rearing experiment in the tanks of Japanese pearl oyster fed with diet of rice powder in winter. Five series of three tanks (Fig. 1) were supplied with the water (400l/hr) of different temperature (14°C, 18°C, 22°C, 26°C and 30°C, Fig. 2). Running sea water was circulated between the tank No. 1 and No. 2 and also between No. 2 and No. 3 by pump (40l/min.). Forty test animals held in the tank No. 2 and No. 3 respectively were fed with rice powder dropped into the tank No. 1 (10g/day).

2. The test animal gained more growth of underwater weight in the high water temperature tank than in the low one (Figs. 3, 4). The daily increase of underwater weight per animal in the tanks of 22°C, 26°C and 30°C nearly corresponds to that in natural sea water from summer to autumn. The change of the meat weight, however, was complicated probably because it is related to maturation and spawning.

3. With the results of the histological observation of gonads of test animals, mature or spawned individuals were observed in the higher water temperature tanks (Fig. 7). Although induction of artificial spawning and fertilization were not

conducted, gonad development of pearl pyster for artificial spawning might be induced by this method in winter.

文 献

- 桑谷幸正 1964a. *Skeletonema costatum* を餌料とするアコヤガイの飼育について, 日水誌30(2): 104-113.
- 1964b. 人工餌料によるアコヤガイの飼育について, 国立真珠研報 9: 1135-1142.
- ・西飯 保 1966. アコヤガイの水槽飼育にともなう水質の変化と貝の成長について, 国立真珠研報11: 1308-1333.
- 1966b. アコヤガイの成長測定法, 各種測定法の検討および水中重量の測定法とその応用について, 全真連技術会報54: 52-69.
- 1967. 水槽飼育アコヤガイの成長におよぼす米粉未投与量の影響について, 国立真珠研報12: 1409-1431.
- 1968a. 水槽飼育アコヤガイの成長におよぼす各種緩衝試薬の影響について, 国立真珠研報13: 1597-1616.
- 1968b. アコヤガイの飼育餌料としての米粉末について, 日水誌34(3): 191-204.
- 1969a. 水槽内飼育アコヤガイの成長におよぼす収容密度と換水率の影響について, 国立真珠研報14: 1748-1764.
- 1969b. アコヤガイの成長におよぼす飼育水の pH の影響について, 日水誌 35(4): 342-350.
- ・磯貝文男 1969. アコヤガイの成長におよぼす飼育水中の nitrate の影響について, 国立真珠研報14: 1735-1747.
- ・和田克彦 1970. アコヤガイの生理および成長におよぼすアンモニアの影響について, 国立真珠研報15: 1874-1899.
- Loosanoff, V. L. 1973. Maintaining adult bivalve for long periods on artificially grown phytoplankton. *Veliger*, 16(1): 93-94.
- and H. C. Davis 1950. Conditioning *Venus mercenaria* for spawning in winter and breeding its larvae in laboratory. *Biol. Bull.* 98: 60-65.
- and ——— 1951. Delaying spawning of lamellibranchs by low temperature. *J. Mar. Res.* 10: 197-202.
- and ——— 1952. Temperature requirements for maturation of gonads of northern oysters. *Biol. Bull.* 103: 80-96.
- Maurer, D. 1972. The development of closed system oyster culture. *Bull. Amer. Malac. Union Inc.* (1972): 18-20.
- and K. S. Price 1968. Holding and spawning delaware bay oysters (*Crassostrea virginica*) out of season. I. Laboratory facilities for retarding spawning. *Proc. Nat. Shell. Assoc.* 58: 71-77.
- 西飯 保 1965. アコヤガイを測定するために用いた水中重量についての検討. 国立真珠研報10: 1264-1282
- 西飯 保・桑谷幸正・植本東彦・和田克彦・山村 豊・前田弘也 1970. 真珠養殖漁場の海洋観測(1967-1969) 三重県・英虞湾, 国立真珠研資料1: 1-38.
- Price, K. S. and D. Maurer 1971. Holding and spawning delaware bay oysters (*Crassostrea virginica*) out of season. II. Temperature requirment for maturation of of gonads. *Proc. Natl. Shell. Assoc.*, 61: 29-34.
- Sastry, A. N. 1963. Reproduction of the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. Influence of temperature on maturation and spawning. *Biol. Bull.* 125: 146-153.
- 1966. Temperature effects in reproduction of the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. *Biol. Bull.* 130: 118-134.
- 1968. The relationships among food, temperature and gonad development of the bay

- scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. *Physiol. Zool.* **41**: 44-53.
- 1970a. Environmental regulation of oocyte growth in the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. *Experientia* **26** (12): 1371-1372.
- 1970b. Reproductive physiological variation in latitudinally separated populations of the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. *Biol. Bull.* **138**: 56-65.
- and N. J. Blake 1971. Regulation of gonad development in the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. *Biol. Bull.* **140**: 274-283.
- 関 政夫 1972. 養殖環境におけるアコヤガイ, *Pinctada fucata*, の成長および真珠品質に影響を及ぼす自然要因に関する研究. 三重水試研報 **1**: 32-149.
- Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons 1960. A manual of sea water analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Canada* **125** (Nitrate): 61-70.
- 植本東彦 1958. アコヤガイ *Pinctada martensii* (Dunker) の生殖腺に関する研究. II. 周年変化及び卵抜き作業中の変化についての組織学的観察. 国立真珠研報 **4**: 287-307.
- 1970. アコヤガイの成長と生理的指標について. 国立真珠研報 **15**: 1863-1873.

Appendix Table I. Data on qualities of culture water.

Date	water temperature °C	Tank No.	Chlori- nity ‰	pH	Alkali- nity mN	C.O.D. O ₂ mg/l	NH ₃ -N μg-at./l	No ₂ -N μg-at./l	No ₃ -N μg-at./l	Po ₄ -P μg-at./l	Ca mg/l
29. Jan.	30	2	19.11	8.17	2.35	1.23	5.32	0.09	0.56	0.24	409
		3	19.23	8.19	2.28	1.44	3.64	0.09	0.56	0.21	408
	26	2	19.08	8.20	2.33	0.91	2.56	0.08	0.52	0.17	406
		3	19.10	8.21	2.29	0.93	2.92	0.09	0.56	0.21	404
	22	2	19.26	8.18	2.27	1.14	2.84	0.10	0.62	0.13	408
		3	18.97	8.20	2.26	1.03	2.48	0.08	0.46	0.18	408
	18	2	19.23	8.19	2.33	1.44	1.12	0.08	0.47	0.19	408
3		19.11	8.17	2.32	1.20	2.21	0.07	0.60	0.17	411	
14	2	19.00	8.14	2.32	1.28	2.50	0.06	0.47	0.17	411	
	3	19.16	8.14	2.28	1.06	2.44	0.08	0.46	0.17	409	
Stock*		19.18	8.19	2.35	0.77	3.82	0.07	0.50	0.20	411	
Sea		19.01	8.23	2.28	1.25	3.08	0.04	0.45	0.26	409	
12. Feb.	30	2	18.64	8.20	2.23	0.58	2.98	0.19	0.67	0.24	416
		3	18.71	8.20	2.26	0.77	2.14	0.18	0.83	0.19	418
	26	2	18.71	8.21	2.31	0.68	2.02	0.16	0.78	0.25	404
		3	18.75	8.20	2.26	0.87	3.42	0.16	0.75	0.25	404
	22	2	18.81	8.19	2.28	0.91	1.94	0.13	0.60	0.28	404
		3	18.53	8.20	2.25	1.13	2.78	0.12	0.65	0.24	405
	18	2	18.63	8.16	2.20	0.80	1.86	0.11	0.48	0.26	400
3		18.70	8.17	2.34	1.01	3.64	0.11	0.42	0.28	402	
14	2	18.76	8.17	2.25	1.99	5.56	0.09	0.60	0.32	394	
	3	18.81	8.16	2.23	1.16	3.30	0.10	0.47	0.29	398	
Stock*		18.76	8.19	2.30	1.27	4.72	0.11	0.50	0.30	402	
Sea		18.70	8.17	2.23	1.13	2.18	0.09	0.43	0.27	403	
6. Mar.	30	2	18.67	8.16	2.19	0.34	1.35	0.59	1.85	0.51	411
		3	18.71	8.21	2.32	0.60	1.24	0.62	1.75	0.39	412
	26	2	18.72	8.24	2.28	1.06	1.46	0.50	1.75	0.43	407
		3	18.78	8.17	2.32	1.13	1.10	0.51	1.70	0.47	406
	22	2	18.67	8.18	2.24	0.77	3.26	0.32	1.50	0.46	405
		3	18.78	8.19	2.29	0.58	1.48	0.32	1.50	0.41	404
	18	2	18.48	8.18	2.26	0.84	0.94	0.23	1.30	0.41	402
3		18.75	8.15	2.31	0.74	1.10	0.22	1.35	0.39	404	
14	2	18.62	8.14	2.20	1.18	3.24	0.22	1.35	0.52	407	
	3	18.57	8.14	2.29	1.21	6.65	0.26	1.25	0.57	410	
Stock*		18.47	8.19	2.29	0.90	0.88	0.28	1.45	0.43	389	
Sea		18.84	8.22	2.27	0.71	0.68	0.19	1.20	0.39	391	

*, Water of water-supplying tank

Appendix Table II. Whole, shell, meat and adductor muscle weight (g) of the test pearl oysters.

Temperature °C	Tank No.	Wet whole weight		Wet meat weight		Wet adductor muscle Weight	
		27. Feb.	19. Mar.	27. Feb.	19. Mar.	27. Feb.	19. Mar.
30	2	35.75±6.12	36.82±6.21	12.04±2.58	13.19±3.18	2.67±0.67	2.22±0.50
	3	34.22±3.12	34.08±5.48	12.60±1.61	11.98±2.47	2.08±0.42	1.60±0.40
26	2	34.10±4.51	35.43±5.92	12.97±2.37	13.48±2.58	2.56±0.56	2.79±0.60
	3	33.79±3.85	36.42±3.58	12.83±1.80	14.17±1.67	2.43±0.42	2.59±0.28
22	2	35.12±3.81	33.73±2.93	12.80±1.87	13.73±1.34	2.60±0.48	2.80±0.42
	3	30.68±3.23	32.63±4.12	11.84±1.84	13.60±2.46	2.33±0.56	2.44±0.51
18	2	35.63±3.64	33.31±3.89	13.70±1.78	13.53±1.45	2.74±0.44	2.50±0.26
	3	30.25±5.36	31.99±4.56	12.66±2.19	12.23±2.10	2.67±0.53	2.39±0.39
14	2	31.78±3.63	34.79±4.58	12.74±1.45	14.09±1.96	2.59±0.37	2.61±0.49
	3	30.75±4.34	32.04±3.51	12.38±1.79	13.50±1.97	2.65±0.58	2.52±0.42

Temperature °C	Tank No.	Dry adductor muscle weight		Wet shell Weight		Dry meat weight	
		27. Feb.	19. Mar.	27. Feb.	19. Mar.	27. Feb.	19. Mar.
30	2	0.61±0.16	0.60±0.15	18.49±2.93	19.10±3.35	—	1.10±0.26
	3	0.47±0.11	0.43±0.10	17.21±2.09	17.41±2.87	—	—
26	2	0.71±0.16	0.78±0.16	17.37±2.89	18.09±2.84	—	1.35±0.25
	3	0.55±0.09	0.74±0.08	17.37±2.00	18.23±2.35	—	—
22	2	0.65±0.13	0.73±0.11	18.16±2.41	17.48±1.73	—	1.54±0.20
	3	0.53±0.14	0.69±0.13	16.04±1.47	16.54±2.37	—	—
18	2	0.65±0.11	0.62±0.08	18.61±2.41	17.20±2.08	—	1.51±0.21
	3	0.56±0.15	0.65±0.13	15.82±1.82	16.09±2.19	—	—
14	2	0.55±0.09	0.62±0.11	16.31±1.99	17.16±2.19	—	1.79±0.28
	3	0.56±0.12	0.66±0.09	15.92±2.25	15.73±2.19	—	—

黄色真珠の出現と真珠漁場との 関係について*†

山口一登・蓮尾真澄
国立真珠研究所

一般に真珠の価値評価は、巻き、色、光沢、質およびきずの有無などの要素を総合して決めるものであるが、これらの要素は養殖過程におけるいくつかの要因に直接または間接的に影響を受け支配されると考えられている。例えば、母貝の性状、ピース貝の性状、挿核技術の手法や養殖環境の条件などがそれである。現在までに、それらの支配要因と生産される真珠の品質面との関連付けについては、数多くの研究がなされてきている。しかしながら、まだ真珠の品質とくに巻きや色の管理面に対しての養殖技術体系を確立させるまでには不十分な点が多い。

従来から、黄色真珠の発現は漁場の環境条件による影響がかなり強いといわれてきたが、和田(1969)は、黄色真珠の生成発現は黄色色素を合成分泌する性質を遺伝的に具えた上皮細胞が真珠袋に含まれていたかどうかによって決定的に規定されると述べている。

そこで、今回真珠の色とくに黄色真珠の発現と漁場との関連を検討するため、ピース貝を貝殻真珠層の色によって選択し、それぞれのピース貝からとったピースを用いて挿核手術をしたアコヤガイを、漁場別に養成して、生成された真珠の色の発現について比較を行ない、二三の知見を得たので報告する。

報告に先だち、試験貝の管理などに協力いただいた猪股真珠、針尾真珠、浜口真珠の方々に心から感謝の意を表す。さらに、養殖管理の労をわずらわした真珠研究所大村支所村上悦男、出口安隆両技官に深謝する。

方 法

養殖試験は1970年と1971年の2年にわたって2回実施した。

試験に使用したアコヤガイ *Pinctada fucata* は、'70試験は高知県で採苗、1969年5月から1970年5月まで長崎県鹿町で育成した通称3年貝である。また、'71試験は愛媛県で採苗、1970年5月から1971年5月まで鹿町で育成した通称3年貝である。

ピース貝の一応の選択は、挿核手術の約10日前に行なった。すなわち、貝殻を開口器で約1.5cm開き、外套膜をヘラでめくり、貝殻真珠層の色を肉眼によって観察し、(1)白色

* Kazuto Yamaguchi and Masumi Hasuo. Relation between occurrence of yellow pearls and pearl culture grounds. Bull. Natl. Pearl Res. Lad. 18: 2132-2139. 1974.

† 国立真珠研究所業績 No. 208 (国立真珠研究所報告18:2132-2139. 昭和49年5月)

系（黄色の実体色を含んでいないもの）。(2) 淡黄色系（黄色の実体色を含み、その程度が弱いもの）。(3) 濃黄色系（黄色の実体色を含み、その程度が強いもの）の3群に分類した。さらに、挿核手術時ピースを切りとる際に、左右の貝殻の真珠層色に著るしい違いのないもの、白色系真珠層には黄色部分が全くないもの、真珠層全面にほとんど色むらのないものといった点に充分留意して再確認を行ない選択に慎重を期した。

挿核手術は'70試験は7月21日から23日まで、また'71試験は7月7日から9日まで、それぞれ行なった。挿入した核は直径約3.8mm、重量85~87mgのものである。ピースは1個体のピース貝の片側の外套膜より15片、両側より計30片を切りとり、母貝1個体に1個の核をフクロに挿入して、同一ピース貝の外套膜より切りとったピースで30個体の母貝に手術を行なった。この30個体の母貝を無作為に3等分し、1試験地点に10個体あて配分した。同色系のピース貝を使用しての手術貝は1地点について300個体として、1地点の試験貝総数は900個体である。

養殖試験地点は、蓮尾・他（1962）の結果から判断して、白色系真珠の出現率が高い大村湾内に、湾奥の西彼杵郡琴海町地先（St. A）と湾口の佐世保市宮津町地先（St. B）の2地点、また比較的黄色系真珠の出現率が高いとされている外海に面した佐世保市船越町地先（St. C）に1地点の計3地点を設けた（第1図）。



第1図. 試験地点

試験貝の養成は、5段網籠の1段ごとに同一ピース貝から切りとったピースを移植した手術貝10個体を入れ、1籠に50個体を収容して、筏から海面下約2m層に垂下した。養成期間は'70試験は8月下旬に各試験地点に配分し、12月下旬に真珠を採取するまでの約4か

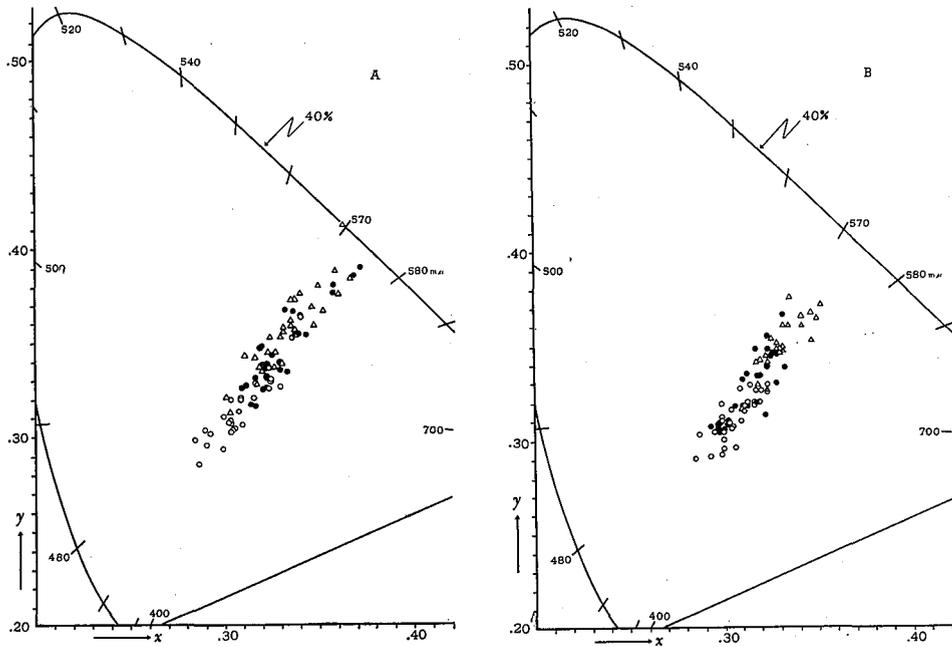
月, '71試験では7月下旬に配分, 12月中旬の真珠採取までの約4.5か月である。その期間中 '70試験は10月上旬と11月中旬の2回, '71試験は9月上旬と10月下旬の2回貝掃除を実施した。

採取した真珠は試験地点別に, またピース貝の貝殻真珠層色別に分類し, 異常真珠を取り除き, 半球以上に真珠層が巻いているものについて, 日本電色工業KK製 MMP-1型微小平面曲面光度計で測色した。測色は, 真珠の最も黄味の強い部分について, 直径0.5mmのスリットを通して三色刺激値 X, Y, Z, を測定した。

結 果

ピース貝の貝殻真珠層の色

肉眼的観察によって分類されたピース貝の貝殻真珠層の色点は CIE 色度図上では第2図のような分布を示す。



第2図. ピース貝の貝殻真珠層の色を示す CIE 色度図表。

A, '70試験. B, '71試験.

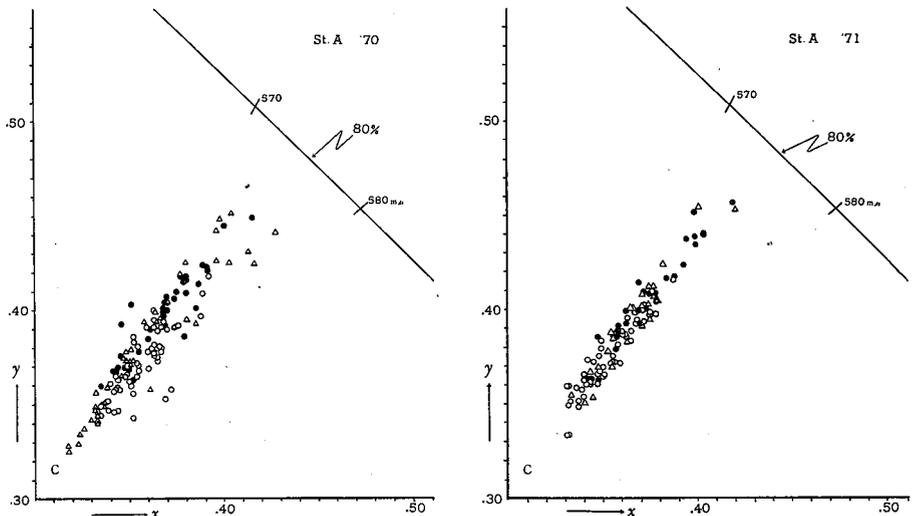
○, 白色系貝殻真珠層. ●, 淡黄色系貝殻真珠層. △, 濃黄色系貝殻真珠層.

第2図にみられるとおり, 白色系の貝殻真珠層の色点の占める色領域は白色点を中心に, かなりまとまった範囲内に分布しており, 淡黄色系では, 白色点付近より570mμの波長域の黄色領域に分布する。また, 濃黄色系の占める色領域は淡黄色系よりもさらに黄色度の強い領域に分布している。このように, '70試験, '71試験の2回の結果とも, 白色

系、淡黄色系および濃黄色系の特徴を CIE 色度図上で群に分けることができるので、ピース貝の貝殻真珠層の色は肉眼による観察で、一応分類することができる。しかしながら、本試験の結果の検討において、第2図より、色純度6%以内の範囲に分布する貝殻真珠層をもつピース貝を白色系とし、10~20%の範囲にあるものを淡黄色系、また20%以上の範囲にあるものを濃黄色系として、それぞれの範囲に分布するピース貝から切りとったピースを移植して生成された真珠のみをとりあげて検討を試みた。

真珠の色

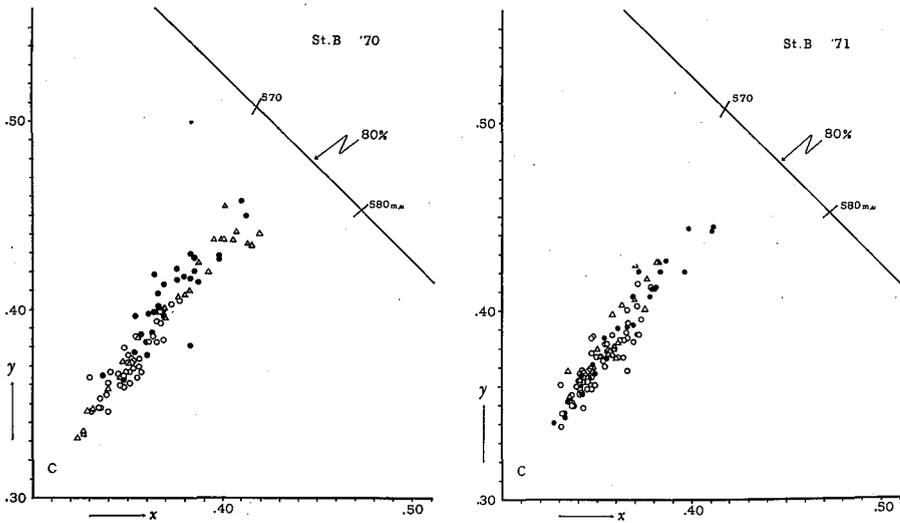
試験地点別に真珠の色点を CIE 色度図上に示したものが第3図である。



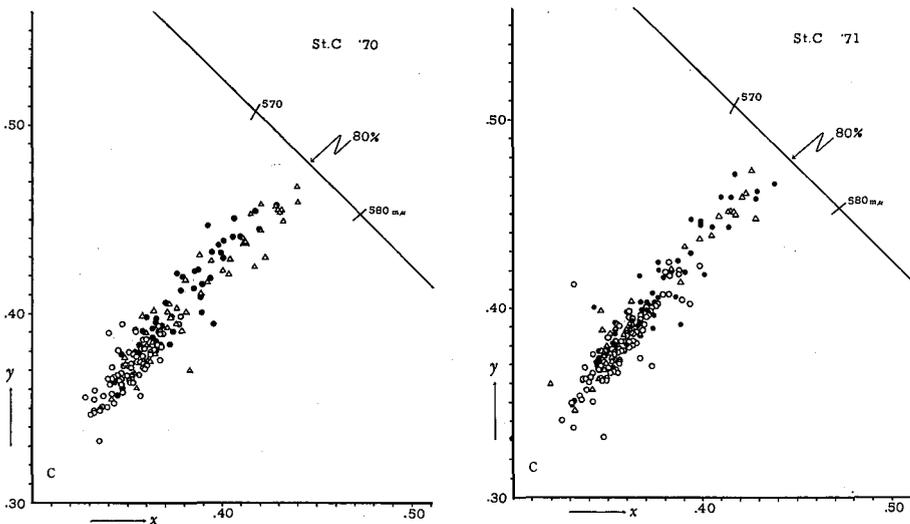
第3図 (1). 各色系の貝殻真珠層をもつピース貝から切りとったピースを移植して生成された真珠の色を示す CIE 色度図表 (St. A).
○, 白色系. ●, 淡黄色系. △, 濃黄色系.

第3図において、白色系貝殻真珠層をもつピース貝から切りとったピースを移植して生成された真珠の色点は、'70試験の場合は各試験地点とも $0.330 < x < 0.370$, $0.340 < y < 0.400$ の範囲にその大部分のものが集中して分布しており、また、'71試験の場合は、St. A および St. B では $0.330 < x < 0.370$, $0.340 < y < 0.410$ の範囲に、St. C では前2地点よりも、やや分布範囲が広く、 $0.330 < x < 0.400$, $0.350 < y < 0.430$ の範囲内に大部分の真珠の色点が分布している。すなわち、試験地点によって、真珠の色点の分布状態にはほとんど差異はみられない。

また、淡黄色系の貝殻真珠層をもつピース貝から切りとったピースを移植して生成された真珠の色点は'70試験、'71試験ともいわゆる白色系真珠の色点の分布範囲よりも黄色度の強い領域にまで広がり、各試験地点とも分布の範囲がかなり広がっている。しかしながら、St. C においては、St. A および St. B に比べて、さらに黄色度の強い領域にまで分布の範囲が広がっている傾向がみられる。



第3図 (2). 各色系の貝殻真珠層をもつピース貝から切りとったピースを移植して生成された真珠の色を示す CIE 色度図表 (St. B).
○, 白色系, ●, 淡黄色系, △, 濃黄色系.



第3図 (3). 各色系の貝殻真珠層をもつピース貝から切りとったピースを移植して生成された真珠の色を示す CIE 色度図表 (St. C).
○, 白色系, ●, 淡黄色系, △, 濃黄色系.

つぎに、濃黄色系の貝殻真珠層をもつピース貝から切りとったピースを移植して生成された真珠の色は、CIE 色度図上で白色域から黄色域にかけてかなり広い範囲に分布しているが、試験地点によって分布の状態に差異がみられ、St. C においては、St. A および St. B に比べて黄色度の強い領域にやや片寄った分布状態を示している。

以上の結果から、白色系の貝殻真珠層をもつピース貝から切りとったピースを移植して生成された真珠は、試験地点に関係なくそのほとんどが白色系の真珠となる。また、黄色系（淡黄色系と濃黄色系を含めて）の貝殻真珠層をもつピース貝より切りとったピースを移植して生成された真珠は、黄色度の強い真珠の出現率が高い傾向がはっきりとかがえるが、試験地点によって、黄色度の強さにある程度の差異が認められる。

考 察

和田（1969）は白色系真珠層の貝殻をもつ貝より切りとった外套膜小片を宿主の生殖腺に移植すると、白色系真珠が必ず生成し、黄色系真珠層の貝殻をもつ貝より切りとった外套膜片を宿主の生殖腺に移植すると非常に高い出現率で黄色系真珠が生成し、宿主の性質、栄養状態、成長状態および移植片の移植部位などは、真珠袋上皮細胞の黄色色素合成および分泌機能の消長に対して黄色真珠の出現率を変えるほどには影響しないし、また塩分、光、水温などの環境条件は黄色真珠の生成発現に対して、外套膜外面上皮細胞の有する性質よりも強く働くとは考えられないと報告している。

今回、和田（1969）の方法によって、ピース貝を貝殻真珠層の色によって、白色系、淡黄色系および濃黄色系の3種類に選択し、それぞれより切りとったピースを用いて挿核手術を行ない、環境条件の異なると思われる3か所の真珠養殖漁場で養殖試験を実施し、採取された真珠について、真珠の色の発現と漁場との関連について比較検討を試みた。その結果、白色系真珠の貝殻をもつピース貝より切りとったピースを移植して生成された真珠は、3漁場ともそのほとんどが白色系であり、漁場によって出現率に差は認められない。つまり、白色系真珠の出現は移植したピースを切りとったピース貝の外套膜の性質によって決定され、養殖環境の条件などの影響を受けないと考えられる。これがもし環境条件の影響を受けるならば、白色系真珠層の貝殻をもつピース貝を使った場合でも、漁場によっては黄色系真珠が出現してもよいはずである。しかるに、本試験において、そのような結果があらわれないのは、黄色色素の合成分泌はピース貝の外套膜外面上皮細胞に固有の機能であって、これは遺伝的なものと考えられ、この機能は養殖環境の条件などによって変えられることはないと考えられる。

つぎに、黄色系真珠層の貝殻をもつピース貝から切りとったピースを移植して生成された真珠は、3漁場とも黄色系真珠の出現率が高い。しかしながら、漁場によって黄色度の強さにやや差異が認められるようであり、大村湾内の2地点に比較して、湾外にあるSt. Cでは黄色度の強い真珠の出現率が高い傾向がみられた。ここで、本試験を実施した1970年および1971年の大村湾の夏季の環境条件を考えてみると、アコヤガイの大量斃死がみられた時期であって、本試験で養成中の貝も1970年の斃死率は、St. Aでは50.22%、St. B, 63.13%これに対してSt. C, 36.11%、また、1971年にはSt. A, 54.11%、St. B, 50.33%およびSt. C, 16.11%を示しており、両年を通じて大村湾内の環境は湾外に比べて悪かったものと思われる。このことは真珠の巻き面にも影響が大きくあらわれている。'70試験についてみると、和田（1972）の換算式によって、真珠の増重量から真珠層の巻き厚さを算

出して、試験地点別に平均値であらわすと、大村湾内の St. A では0.194mm、St. B では0.180mmであるのに対して、湾外の St. C では0.217mmとなっていて、St. C において生成された真珠の巻きは湾内2地点の巻きよりも良好であった。和田(1969)は、真珠袋のCa代謝は宿主の生理状態および外界の条件の影響を受けやすく、したがって真珠の巻きおよび表面色は宿主個体、季節および漁場などによって変化し、黄色真珠の色印象に影響すると述べている。このことから推察すれば、3地点のなかで、とくに St. C において黄色度の強い真珠の出現率が高い傾向がみられるのも、真珠層の巻きの厚さの違いによるものと考えられる。また、いわゆる薄巻き真珠の場合には測色に際して、核の白色が測定値に反映してくるため、St. A、St. B においては黄色度が弱くなっていることも考えられる。さらに、大量斃死が起きたような環境条件の悪い漁場で生産された真珠は、真珠層の結晶の成長と溶解との関係によって光学的な散乱層が生じて光沢が悪くなっており、真珠層の単位体積あたりに含まれる黄色色素の量が同じであっても、実際の黄色度よりも弱くあらわれることが当然予測される。以上述べたようなことを考慮すると、漁場による黄色真珠の出現傾向に生じた差異は、黄色色素の分泌代謝が漁場環境条件の違いによって変化したためとは断定できない。すなわち、黄色真珠の発現は白色真珠の生成と同様に移植するピースを切りとったピース貝の外套膜の外面上皮細胞の性質によって規定されるものであって、黄色色素の合成分泌の機能が環境条件の影響を直接受けて変わるようなことはほとんどないものと思われる。

以上、黄色真珠の実体色は養殖環境にほとんど影響されることはなく、主にピース貝の選択によって調節することができ、とくに経済的に価値が低いとされている黄色真珠の出現をおさえることも可能であると考えられる。

摘 要

- 1) ピース貝を貝殻真珠層の色によって選択し、それぞれのピース貝からとったピースを用いて挿核手術をした貝を3漁場で養成し、生成された真珠の色と漁場との関係を検討した。
- 2) 白色系貝殻真珠層をもつピース貝からとったピースを移植して生成された真珠は、漁場に関係なく白色系となる。
- 3) 黄色系貝殻真珠層をもつピース貝からとったピースを移植した場合、生成される真珠には黄色系の出現率が非常に高い。しかしながら、漁場によって黄色度の強さにある程度の差異がみられる。
- 4) 漁場による黄色度の強さの差異は、環境条件による真珠の物性的差異による可能性が強く、黄色色素の合成分泌の機能が環境条件の影響によって変わったとは本研究だけでは結論できない。
- 5) 黄色真珠の実体色の発現はピース貝の性質で規定され、その性質は遺伝的なものである可能性が大きい。

文 献

- 蓮尾真澄・阪口清次・山口一登・村上悦男 1962. 長崎県下真珠養殖漁場において生産された真珠品質
およびアコヤガイの成長度の比較に関する研究・国立真珠研報 8:920-947.
- 和田浩爾 1969. 黄色真珠の生成に関する実験生物学的研究・国立真珠研報 14:1765-1820.
- 和田浩爾 1972. 真珠袋のCa代謝機構と真珠の品質形成・国立真珠研報 16:1949-2027.

アコヤガイの血球について*†

船 越 将 二

国立真珠研究所

軟体動物の体液は、血リンパ液とよばれ、その中に浮遊する血球は消化 (Owen⁹⁾)、貝殻形成のための Ca 輸送 (Wagge¹³⁾) および排泄 (WAGGE¹³⁾) に関与し、また、外部からの侵襲に対しては、食作用または encapsulation (包囊) により生体防衛の役割をはたすことが知られている (FENG²⁾, SINDERMANN¹⁰⁾)。

脊椎動物では、生体の生理的および病理的変化を反映して、血液細胞の量的ならびに質的な変化が起ることが知られており、これが臨床診断にあたって重要な指標として用いられている。しかし無脊椎動物では、これらに関する知見は少ない。したがって貝体の生理的ならびに病理的状态を血液細胞をつうじて知ろうとすればその形態学的ならびに生理化学的研究等に基づく分類と機能の追求がまずが必要となる。

弁鰓類の血球については、DREW and CANTAB¹⁾, TAKATSUKI¹¹⁾, OHUE⁸⁾, FENG et al.³⁾, FOLEY and CHENG⁴⁾ および NARAIN⁷⁾ の報告がある。アコヤガイの血球に関しては、川本・中西⁵⁾ および田中¹²⁾ がそれぞれに主として塗抹標本の観察にもとづく分類を試み、また町井⁶⁾ は位相差顕微鏡を用いて観察を行なっている。しかし弁鰓類の血球についての分類法および命名法についての統一されたものはない。

著者は今回アコヤガイの血リンパ液中に通常出現する血球について主として位相差装置を用いて生きた状態で形態および食作用について観察するとともにその細胞質にみられる顆粒の性質を超生体染色、種々の固定液に対する安定性および染色態度の観察などにより調べ、2, 3 の知見を得た。

材料および方法

大村湾の国立真珠研究所大村支所前の海面下 1.5m で垂下養殖中の愛媛県産満 2 年および 3 年のアコヤガイ *Pinctada fucata* (Gould) を使用した。血リンパ液は皮下 23G の注射針をつけた注射筒で心室から採取し次の方法で観察した。

1) 生体観察

スライドガラスの上に血リンパ液を数滴とり、ただちにカバーガラスをかけ、その周囲をパラフィン・バルサムで封じ、位相差装置日本光学 BM, DM および DLL を用いて観察した。

* Shoji Funakoshi. hemocytes of the pearl oyster, *Pinctada fucata* (Gould). Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 18:2140—2147. 1974.

† 国立真珠研究所業績 No. 209. (国立真珠研究所報告 18:2140—2147. 昭和 49 年 5 月)

2) 固定染色標本による観察

スライドガラスの上に血リンパ液を数滴とり、5分間放置して血球をスライドガラスに附着させ、その上に2.5%グルタルアルデヒド海水液を滴下して固定し、次いで95%エチルアルコールで洗い、ギムザ染色またはマイヤーのヘマトキシリン-エオシン染色を行ない観察した。また、核および細胞体の大きさを測定する場合は、遠心沈澱管中で血リンパ液と5%グルタルアルデヒド海水液の等量を混合して固定後遠心し(3,000rpm, 5分間)、上澄液をすて、0.1%ニュートラルレッド溶液を加えて核染色し、接眼マイクロメーターではかった。

3) 食作用の観察

スライドガラスの上で血リンパ液3滴と墨粒液1滴をよく混合させたのち、試料のついた面を下にして湿室中に1時間放置する。つぎにその1滴を別のスライドガラスにとり、2.5%グルタルアルデヒド海水液を1滴加えて固定し、カバーガラスをかけて細胞内への墨粒のとり込みの有無を観察した。

4) 細胞質顆粒の超生体染色

スライドガラスの上に血リンパ液を2滴とり、そのまま5分間放置して血球をガラス面に附着させ、余分の液をすて染色液を2滴加えてカバーガラスをかけて周囲をパラフィン・バルサムで封じ、1~5分後に観察した。染色液としてはニュートラルレッド(1/100,000~1/150,000)、ブリリアントクレシールブルー(1/40,000)、メチレンブルー(1/50,000)およびナイルブルーサルフェート(1/30,000)を海水に溶解させて使用した。

5) 細胞質顆粒の試液に対する安定性

スライドガラスの上に血リンパ液を2滴とり、そのまま5分間放置して、血球をガラス面に附着させる。次いでその上に巾5mmに切ったカバーガラスをかけ、油浸下で位相差観察しながら、カバーガラスの一方の側に接して試液を滴下し、他側に汚紙を置く。そうするとスライドガラスとカバーガラスの間に汚紙に向かって試液の流れができ、血球は試液に接する。顆粒の安定性については血球が試液に接してから30分間観察した。ただし5%ホルマリン海水液、2.5%グルタルアルデヒド海水液および5%アクロレイン海水液については3時間後まで観察した。試液に接触しない顆粒が30分以内に消失するようなことはなかった。用いた試液は蒸留水、希釈海水(海水:蒸留水=1:1)、純メチルアルコール、純エチルアルコール、エーテル、アセトンおよび次に示す9種の固定液すなわち5%ホルマリン海水液、1%クロム酸海水液、Helly液、Susa液、Bouin液、Champy液、昇汞飽和海水液、2.5%グルタルアルデヒド海水液および5%アクロレイン海水液である。

結 果

血球の観察および分類

血球は細胞質中に顆粒を含まないか、または少数含む無顆粒血球と細胞質中に密に顆粒を含む顆粒血球に大別できた。またその細胞質顆粒の大きさによって顆粒血球をさらに粗大顆粒血球と微小顆粒血球に区別した。

I) 無顆粒血球

この型の血球は血リンパ液中に浮遊する細胞の85%以上を占める。その形態は円形やなす型のものがみられたが、多くはアメーバ状を呈し、数方向に偽足を出している。胞体はBM位相差下では膜状で暗く見え、細胞質顆粒は明るくみえる。細胞の大きさは直径5—13 μ (表1)で、核の位置は一般的にやや偏在し、その形態は円形、楕円形およびそれらの一側に陥凹のあるものが多く観察された。ギムザ染色で核は赤紫色—濃紫色に、細胞質は淡桃色—灰色に染まる。また少数の血球には1—3個の核小体が認められた(図3)。細胞質中には無色で0.5—1 μ の大きさの屈折率の高い顆粒が数個含まれていたり、まれにはこれらが10—数10個の集団となって存在するのが認められた。

この血球にはスライドガラスの上で進行方向に向かって葉状の偽足をだし比較的活発にアメーバ運動を行なうもの(図1)と、細長く時には分岐した原形質突起をだして細胞体は扁平となり、ガラス面によく付着し、最初は動くが時間がたつと動かなくなる2つの型のものが観察された。

直径約7 μ 以下の血球(図2)には食作用は認められなかったが、それより大きな血球には顆粒血球より強い食作用が認められた。また、核細胞体比は概して小さい血球ほど大きく、大きな血球ほど小さかった。

表1 血球の大きさ

血球の種類	測定値(μ)				核の長径×短径 細胞体の長径×短径
	細胞体		核		
	長径	短径	長径	短径	
無顆粒血球					
平均値	8.4	7.3	4.6	3.3	0.27
変化範囲	5-14.5	4.8-11	3-7	2-5.1	0.11-0.67
標準偏差	±1.65	±1.40	±0.69	±0.54	±0.10
粗大顆粒血球					
平均値	10.6	9.8	4.0	3.5	0.13
変化範囲	8.8-13.5	7.3-12	3.3-5.3	2.2-4	0.08-0.20
標準偏差	±1.00	±1.08	±0.33	±0.40	±0.02
微小顆粒血球					
平均値	7.4	6.3	4.1	3.0	0.26
変化範囲	6-10.3	5-7.8	3.3-5	2-4.3	0.15-0.42
標準偏差	±0.79	±0.56	±0.54	±0.53	±0.06

II) 顆粒血球

1 粗大顆粒血球

粗大顆粒血球の出現率は、通常1—5%で多いときで16%以下である。細胞の大きさは7—13 μ (表1)で、核は円形または楕円形でその位置は偏在するが形態の変化は少ない。ギムザ染色で核は赤紫色に、細胞質は淡桃色—淡灰色に染まる。葉状の偽足をだして活発に運

動し、強い食作用をもっている。細胞質中には無色—淡黄色で直径 $0.7-2\mu$ の球形の粗大顆粒が密に含まれている。この顆粒はBM位相差下で明るくみえる(図4, 5)。この種の血球のあるものは粗大顆粒のほかに直径 $0.3-0.5\mu$ の微小な顆粒を小数ながら含むものがあり、直径 1μ くらいの屈折率の高い顆粒(図4)を含むものもあった。また粗大顆粒のほかに微細な顆粒と屈折率の高い顆粒をともに含んでいるものも認められた。

微小な顆粒は、その大きさは $0.3-0.5\mu$ であり、2.5%グルタルアルデヒド海水液と5%アクロレインで固定され、ヘマトキシリン—エオシン染色で濃赤色に、ギムザ染色で赤橙色に染まることから、微小顆粒血球の細胞質中に密に含まれている微小顆粒と同じ性質のものと考えられる。屈折率の高い顆粒はBM位相差下で明るく輝いて見え(図4)、その形態は円形または楕円形のものが多いが、ひし形や長方形などのものも観察された。核細胞体比は無顆粒血球および微小顆粒血球にくらべて小さい(表1)。

2 微小顆粒血球

微小顆粒血球の出現率は通常1—3%で、多いときでも9%以下である。細胞の大きさは直径 $6-9\mu$ (表1)で、核は円形または楕円形で偏在する。細胞質中にはギムザ染色で赤橙色—濃桃色に、またヘマトキシリン—エオシン染色で濃赤色に染まる $0.3-0.5\mu$ の球形の微小顆粒(図5, 6)が密に充満しており、そのために核が見えにくいことが多い。この顆粒にはまれに微細桿状のものも観察された。BM位相差下で偽足は暗く、細胞質中に充満している微小顆粒は明るく光って見え(図5)、DM位相差下では微小顆粒は黒く見える(図6)。葉状の偽足をだして比較的活発なアメーバ運動を行うが、粗大顆粒血球ほど活発ではない。墨粒子は細胞質内に摂取されなかった。核細胞体比は同じ大きさの無顆粒血球のものと同程度である。

細胞質顆粒の性質

顆粒血球の細胞質中に含まれている顆粒には粗大顆粒、微小顆粒および屈折率の高い顆粒が認められる。このうちで、粗大顆粒と微小顆粒について調べた。

1) 細胞質顆粒の超生体染色

顆粒は、ニュートラルレッド、ブリリアントクレシールブルー、メチレンブルーおよびナイルブルー—サルフェートでよく超生体染色され、粗大顆粒と微小顆粒は異なる色調に染まった。すなわちニュートラルレッドにより粗大顆粒は赤味がかかった橙色に、微小顆粒は桃色に染まった。ブリリアントクレシールブルー、メチレンブルーおよびナイルブルー—サルフェートによって粗大顆粒は青—紫色に微小顆粒は緑—青緑色に染まった。

ニュートラルレッドにより超生体染色された色調から、粗大顆粒のpHは7.1—7.5と考えられる。

2) 細胞質顆粒の試液に対する安定性

蒸留水および希釈海水(海水：蒸留水=1：1)
粗大顆粒および微小顆粒はただちに崩壊消失する。

純メチルアルコールおよび純エチルアルコール

メチルアルコールおよびエチルアルコールの顆粒に対する影響に差異は認められない。

微小顆粒はただちに溶解消失するが、粗大顆粒は30分後でも変化はみられなかった。

エーテルおよびアセトン

微小顆粒は急速に溶解消失し、粗大顆粒は一部で融合しながら徐々に溶解消失する。

固定液

1%クロム酸海水液、Helly 液、昇汞飽和海水液、Susa 液、Bouin 液およびChampy 液では粗大顆粒および微小顆粒はともに短時間で溶解消失する。5%ホルマリン海水液で血球を固定した場合、その粗大顆粒および微小顆粒は、固定液に3時間放置しても形態に異常が認められなかったが、その後徐々に消失した。2.5%グルタルアルデヒド海水液および5%アクロレイン海水液により微小顆粒を固定することができた。しかし粗大顆粒は5%ホルマリン海水液と同様、固定液中において3時間までは形態に異常が認められなかったが、その後徐々に消失した。

考 察

弁鰓類の血球の分類は、研究者によって相違があるが、一般に、細胞質中に顆粒を含まないかまたは少数含む無顆粒血球と、顆粒を密に含む顆粒血球とに大別されており (TAKATSUKI¹¹⁾、川本・中西⁵⁾、OHUE⁸⁾、田中¹²⁾、FENG et al.³⁾)、この報告においてもこれに従って無顆粒血球と顆粒血球に分類した。

無顆粒血球とは細胞質中に顆粒を含まないかまたは少数しか含まない血球を総称したものであり、アコヤガイのそれについては、主として塗抹標本の観察によって川本・中西⁵⁾はさらにこれを3種に、田中¹²⁾はR型とS型の2種に分類している。

今回の観察によると無顆粒血球のうち約7 μ 以下の小さいものには食作用がなく、核細胞体比が大きいなどのいわゆるリンパ球的特徴を認めたが、細胞が大きくなるほどこの特徴は弱まる。一方7 μ 以上のものでは食作用があり、それは細胞が大きいほど強く、核細胞体比は細胞が大きいほど小さくなる傾向がみられる。またギムザ染色の結果では形態や染色性に明瞭な差異を認めがたかったことなど無顆粒血球に二つのタイプのあることを示唆するとともに種々の成長過程にある血球が血リンパ液中に同時にまじって存在していることを表わしている。

FENG et al.³⁾はギムザ染色により *Crassostrea virginica* の顆粒血球の細胞質顆粒について、桃色に染まる顆粒、濃青色に染まる顆粒および屈折率の高い顆粒の3種類を観察し、顆粒血球にはこれらの内で1種類が含まれていたり、2種または3種類の顆粒がともに含まれていることを報告した。その後、FOLEY and CHENG⁴⁾も同様の観察を行ない、このことについて再確認し、顆粒が1種類のみ含まれていたり、混合して含まれていることについては、顆粒血球の成長段階のちがいでによって認められる形態的差異と考え、これらは別の種類に分類されるべきものではなく、1種類のものとしている。アコヤガイにおいても、顆粒血球には粗大顆粒、エオシン好染の微小顆粒および屈折率の高い顆粒の3種類が観察され、粗大顆粒血球には粗大顆粒のみが含まれているもの、粗大顆粒のほかにも少数ではあるが微小顆粒および屈折率の高い顆粒のいずれかまたは両方が含まれているものがある。しかし微小顆粒血球には微小顆粒が含まれているのみで他の2種類の顆粒が含まれて

いない。また、粗大顆粒血球は $9.8\sim 10.6\mu$ で微小顆粒血球 ($6.3\sim 7.4\mu$) より大きいこと(表1)、および粗大顆粒血球は強い食作用を示すが微小顆粒血球にはこれが認められない。これらの諸点よりアコヤガイにおいては、粗大顆粒血球と微小顆粒血球は機能的に異なる細胞とみなす方が妥当と考える。

Ostrea edulis の顆粒血球に含まれている顆粒は、蒸溜水中では少なくとも30分間は変化なく安定して存在し、また脂肪溶媒であるエーテルにも溶解しない (TAKATSUKI¹¹⁾) が、それにくらべてアコヤガイの粗大顆粒および微小顆粒はともに蒸溜水中ではただちに崩壊消失し、エーテルに溶解する。このように同じ弁鰓類に属する種の間にも、その顆粒血球に含まれている顆粒には性質のちがいが認められる。また、アコヤガイの粗大顆粒と微小顆粒に与えるアルコールおよび固定液の影響には差異が認められ、このようなことは顆粒血球の機能を細胞学的に考えるにあたり留意すべきことであろう。

摘 要

1. アコヤガイの血球は無顆粒血球と顆粒血球に大別でき、顆粒血球をさらに粗大顆粒血球と微小顆粒血球に分けることができる。それらの主な性質を示すとつぎのようになる。

無顆粒血球：細胞の大きさは直径 $5\sim 13\mu$ で、細胞質中に顆粒を含まないか少数含み、比較的発活なアメーバ運動を行なう。直径約 7μ 以下のものには食作用が認められないが、それより大きな血球には顆粒血球より強い食作用が認められる。

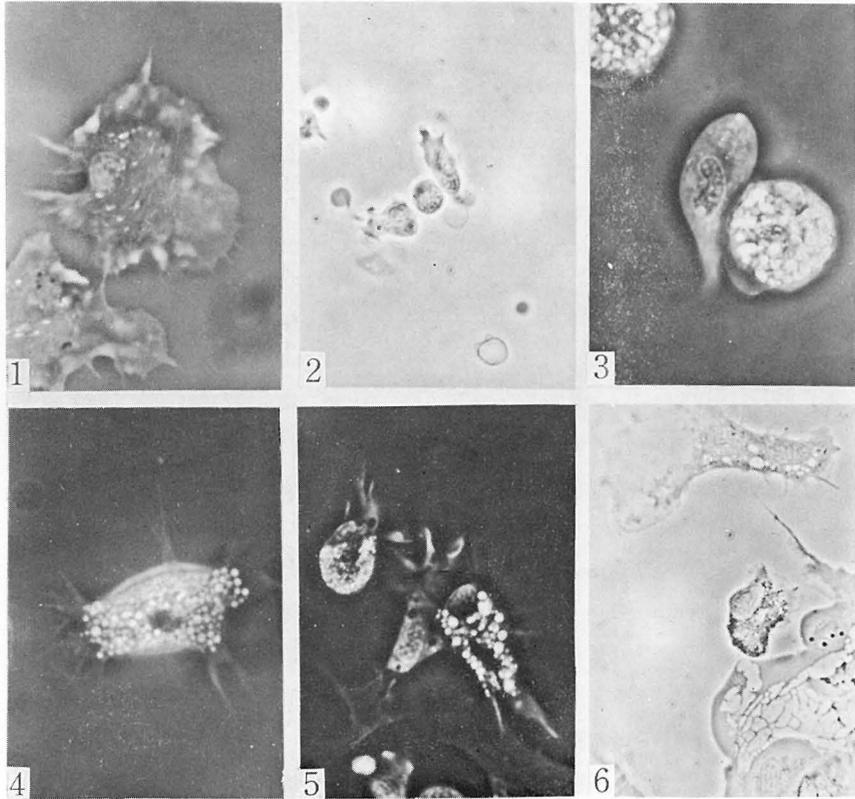
粗大顆粒血球：細胞の大きさは $7\sim 13\mu$ で、その細胞質中に粗大顆粒を密に含む。また粗大顆粒のほかに少数の微小顆粒を含むものと屈折率の高い顆粒を含むものおよび微小顆粒と屈折率の高い顆粒をともに含む血球もある。活発なアメーバ運動と食作用がある。

微小顆粒血球：細胞の大きさは $6\sim 9\mu$ で、その細胞質中には微小顆粒をもつ。比較的活発なアメーバ運動を行なう。食作用は認められない。

文 献

1. Drew, G. H. and B. A. Cantab 1910. Some points in the physiology of lamellibranch blood-corpuscles. Quart. J. Microscop. Sci. 54: 605-621.
2. Feng, S. Y. 1967. Responses of molluscs to foreign bodies, with special reference to the oyster. Federation Proc. 26 (6): 1685-1692.
3. Feng, S. Y., J. S., Feng, C. N. Burke and L. H. Khairallah 1971. Light and electron microscopy of the leucocytes of *Crassostrea virginica* (Mollusca: Pelecypoda). Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 120: 222-245.
4. Foley, D. A. and T. C. Cheng 1972. Interaction of molluscs and foreign substances: The morphology and behavior of hemolymph cells of the american oyster, *Crassostrea virginica* in vitro. J. Invertebrate Path. 19: 383-394.
5. 川本信之・中西捨吉 1957. アコヤガイ血球の顕微鏡的観察. 国立真珠研報 3: 201-205.
6. 町井 昭 1968. 真珠袋形成に関する組織学的研究. 国立真珠研報 13: 1489-1539.
7. Narain, A. S. 1972. Formed elements of the blood of the fresh water mussel, *Lamellidens corrianus*. J. Morph. 137 (1): 63-70.
8. Ohue, T. 1938. On corpuscles in the body fluids of some invertebrates. General considera-

- tions on the results obtained by the preceding investigation. Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ., Ser. 4, **13** : 359-380.
9. Owen, G. 1966. Digestion. in "Physiology of Mollusca" (Academic Press.) **II** : 53-96.
 10. Sindermann, C. J. 1970. Internal defense mechanisms in marine animals. in "Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish" (Academic Press.) : 258-326.
 11. Takatsuki, S. 1934. On the nature and functions of the amoebocytes of *Ostrea edulis*. Quart. J. Micr. Sci. **76** : 379-431.
 12. 田中小治郎 1964. アコヤガイの血球の種類と形態. 実用貝類血液学 (上田書店) 第1部, 第II編 : 8-9.
 13. Wagge, L. E. 1955. Amoebocytes. Int. Rev. Cytol. **4** : 31-78.



- 図1. スライドガラスの上で活発にアメーバ運動をしている無顆粒血球。BM位相差×1000
 図2. 小さい無顆粒血球。DM位相差×1000
 図3. 無顆粒血球と粗大顆粒血球。無顆粒血球の核の中に1個の核小体が認められる。5%ホルマリン海水液固定。BM位相差×1000
 図4. 活発にアメーバ運動をしている粗大顆粒血球。細胞質の中には多くの粗大顆粒にまざって屈折率の強い顆粒が認められる。BM位相差×1000
 図5. 活発に運動している無顆粒血球、粗大顆粒血球および微小顆粒血球。BM位相差×1000
 図6. スライドガラスの上に伸展した微小顆粒血球。DM位相差×1000

正 誤 表

頁	行	誤	正
2087	下 2	貝は清浄し,	貝殻は清浄し
2091	上 1	■脱塩水で	脱塩水で
2094	上 6	結果を■	結果を
2096	左側下から 2 番目の図	inner layer	Inner layer
2097	下 3	Mg は SO ₄ との	Mg と SO ₄ との
"	下 2	aragonite 殻層	aragonite 殻層
2108	上10	for calcium, chlorine,	for calcium, chloride
"	上12	sulfur	sulfate
"	下 4	equilibrium of Ca ²⁺	equilibrium of Ca ²⁺
2119	上 1	一旦貯水槽	一旦貯水槽
"	下 9	生殖腺の組織学的	生殖腺の組織学的
2125	下8~9	見あたららない	見あたららない
2126	下13	生殖腺組織像は散漫で	生殖腺組織像は散漫で
"	下 6	成長の成熟の	成長と成熟の
2127	上19	残されている。	残されている。
2128	上 1	Pearl pyster	Pearl oyster
2130	上 1	Apperdix Table I.	Appendix Table I.
2132	脚註下 2.	Natl. Pearl Res. Lad.	Natl. Pearl Res. Lab.
2140	上 1	Owen	OWEN
"	上 2	Wagge	WAGGE
"	上 9	追求がまずが必要	追求がまず必要
"	脚註上 1	hemocytes of the pearl oyster	Hemocytes of the pearl oyster
2143	上 9	屈折率	屈折率
"	下15	屈折率	屈折率
2145	文献下11	Feng, S. Y., J. S., Feng	Feng, S. Y., J. S. Feng,
"	下 6	virginica in Vitro	virginica, in Vitro

昭和49年5月1日印刷
昭和49年5月5日発行

三重県志摩郡阿児町賢島

発行所 **国立真珠研究所**

発行者 林 知 夫

印刷者 山 形 健 雄

大阪市東住吉区桑津町4-58

印刷所 アテネ出版印刷株式会社

Bulletin of the National Pearl Research Laboratory

18

May 1974



CONTENTS

Wada, K. and Fujinuki, T.	Physiological regulation of shell formation in molluscs. I. Chemical composition of extrapallial fluid.....	2085
Machii, A.	Organ culture of mantle tissue of the pearl oyster <i>Pinctada fucata</i> (Gould)	2111
Kuwatani, Y., Nishii, T. and Wada, K. T.	Growth and maturation of Japanese pearl oyster reared in the tank in winter	2118
Yamaguchi, K. and Hasuo, M.	Relation between occurrence of yellow pearls and pearl culture grounds.....	2132
Funakoshi, S.	Hemocytes of the pearl oyster <i>Pinctada fucata</i> (Gould)	2140

National Pearl Research
Laboratory
Kashikojima, Ago-cho, Shima-gun
Mie Prefecture, Japan