国立真珠研究所報告

13

昭和43年(1968) 7月

Bulletin of the National Pearl Research Laboratory

13

July 1968

国立真珠研究所報告　13　(1968)

内　　容

町井　昭　真珠袋形成に関する組織学的研究……1489
和田浩爾　アコヤガイの殻皮形成に関する電子顕微鏡的観察……1540
和田浩爾　真珠層の成長機構……1561
桑谷幸正・西飯　保　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……1597
植本東彦　アコヤガイの酸素消費量と水温との関係について……1617
水本三朗　アコヤガイ貝殻の病害に関する研究
Ⅲ. *Polydora ciliata* によるアコヤガイ貝殻疾病の季節的発症経過について…1624
阪口清次　アコヤガイに寄生する吸虫の生活史ならびにその病害について……1635
澤田保夫・谷口宮三郎　真珠養殖漁場の養殖海洋学的研究
Ⅴ. 老化漁場における底泥の有機物量およびフェオフィチン量の季節的変化について……1689
澤田保夫・谷口宮三郎　真珠養殖漁場における水中障害物の爆破除去に関する研究(第2報)
Ⅳ. 水中障害物除去による漁場改良効果について……1703
澤田保夫・谷口宮三郎・若園吉一・小川輝繁・中野雅司　爆薬を利用した真珠養殖漁場の底質改良に関する研究……1712

学会誌発表論文

桑谷幸正・西飯　保　アコヤガイの飼育飼料としての米粉末について
植本東彦　真珠養殖技術における仕立作業の意義とその効果に関する研究（要約）
和田浩爾　Calcitostracum の渦巻成表

記　　事

アコヤガイの学名記載変更について

真珠袋形成に関する組織学的研究*,†

町　井　　昭
国立真珠研究所

目　　次

Ⅰ　緒　言……1490
Ⅱ　謝　辞……1491
Ⅲ　真珠袋形成の組織学的観察……1491
1.　材料と方法……1491
2.　観　察……1492
1）　外套膜片移植手術直後における移植片ならびにこれをとり囲む周囲の宿主組織像……1492
2）　移植片の外側（殻側）上皮細胞の形態変化と真珠袋上皮の形成……1493
3）　結合組織および遊走細胞の真珠袋形成時における行動……1493
4）　移植片の内側上皮細胞および筋肉細胞の退化的行動……1495
5）　真珠袋上皮細胞の形態と機能……1495
i　真珠層を生成する真珠袋……1496
ii　稜柱層を生成する真珠袋……1496
iii　有機質を生成する真珠袋……1496
6）　第二次移植（真珠袋の移植）によって形成される真珠袋……1497
3.　小　括……1497
Ⅳ　In-vivo における真珠袋形成の観察……1499
1.　まえがき……1499
2.　材料と方法……1500
3.　観　察……1500
1）　外套膜移植片による生体観察……1500
2）　真珠袋移植片による生体観察……1502
3）　押しつぶし染色標本による観察……1503
4.　小　括……1503
Ⅴ　In-vitro における真珠袋形成の観察……1505

---

* Akira Machii. Histological studies on the pearl-sac formation. With English summary, p. 1513. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 13: 1489-1539. 1968.
† 国立真珠研究所業績 No. 165.（国立真珠研究所報告 13：1489—1539. 昭和43年7月）

1. まえがき……1505
2. 材料と方法……1506
3. 観察……1507
4. 小括……1508
VI 総括……1508
VII 考察……1509
VIII 要約……1512
IX Summary……1513
X 文献……1521

I 緒言

真珠の成因の研究は古くから行なわれているが，1858年 von Hessling によって真珠のまわりに上皮細胞の袋のあることが発見され，そして1902年に Jameson によって，1903年には Strassen, Boutan によって真珠袋が外套膜上皮より形成されることが明らかにされて以来，真珠形成を解くために真珠袋の研究が Herdman (1906)，Rubbel (1911) らにより引き続いて進められた（松井1960，林1938より）。

一方，日本では1893年御木本幸吉による半円真珠の生産が始まり，1907年に見瀬辰平による真円真珠の形成法が発明された。また同年西川藤吉によって外套膜片を移植する現行の方法の原理が考案され，養殖真珠生産技術の基礎が確立されたようである（丹下1965）。

真珠袋形成については近年 Kawakami (1952, '53, '54)，Ojima and Watanabe (1953)，青木 (1956)，町井・中原 (1957)，中原・町井 (1957)，Tsujii (1960)，藤岡・立石 (1960, '61) らによって詳細に報告されている。このように真珠袋の形成は多くの人によって追究されてきているにもかかわらず，真珠袋の形成過程において移植外套膜片の外側上皮細胞をはじめ結合組織細胞および遊走細胞等において細胞の増殖像を発見することはきわめてまれであり，わずかに Ojima and Watanabe (1953) および藤岡・立石 (1960, '61) らによって移植片の上皮細胞ならびに結合組織において細胞増殖の起こっていることが軽く触れられているにすぎない。Kawakami (1952-'54)，青木 (1956)，町井・中原 (1957)，中原・町井 (1957)，Tsujii (1960) の報告では上皮細胞が挿入核面あるいは宿主組織の傷面をおおう過程が比較的詳しく述べられているが，細胞の増殖についてはまったく触れられておらず，一方これを裏づけするかのごとく Perkins and Menzel (1964) によってカキ *Crassostrea virginica* の外套膜の組織培養において，植片縁に形成される細胞遊出帯にみられる細胞はすべて植片からの移住によるものであるということが述べられている。

しかし今回の研究では真珠袋の形成過程をさらに詳しく解明するために，従来行なわれてきた切片標本による真珠袋形成の断面像の観察に加えて，カバーグラス法 (Wada 1961, '62) による表面からの生体観察ならびにカバーグラス法によって得られた材料の押しつぶし染色標本の観察および外套膜の組織培養による観察等をあわせて行なった結果，移植外套膜片から細胞が遊離遊走して真珠袋を形成する過程において，上皮細胞，遊走細胞お

よび結合組織細胞等の一部のものに細胞増殖像が観察された。また外套膜の細胞の培養が短期間ではあるが可能となったことは，真珠形成機構を追究するための有力な手段が得られ，さらには試験管内での真珠形成の手がかりが得られたものと考えられる。

Ⅱ 謝　辞

この研究は国立真珠研究所，高山活夫初代所長のご指示のもとに始められ，太田繁前所長のもとに引き続きすすめられた。

本研究にあたり，終始ご指導をたまわり，本論文の校閲をいただいた九州大学農学部，三宅貞祥教授に厚くお礼申し上げる。また九州大学農学部加藤嘉太郎教授，同花岡資教授，同塚原博教授，東海大学海洋学部岡田弥一郎教授，三重県立大学水産学部辻井禎助教授より本研究をまとめるにあたり数かずのご指導と助言をいただいた。組織培養の技法については国立遺伝学研究所黒田行昭博士よりご教示を，また細胞増殖の判定に関しては関西学院大学理学部小島吉雄教授，同高山奨助教授，同前木孝道助教授ならびに三重県立大学医学部伊豆津公作教授よりたいへん貴重なご教示と批判をいただいた。英文 Summary は愛知県立女子大学太田英雄教授より細部にわたり校閲をいただいた。また，無核真珠の真珠袋形成観察のためのイケチョウガイは，滋賀県野洲郡守山町浦谷真珠株式会社より提供していただき，国立真珠研究所水本三朗技官ならびに滋賀県水産試験場小林吉三技師のご好意によって固定材料を得たものである。ここに記して各位に心よりお礼申し上げる。

Ⅲ 真珠袋形成の組織学的観察

1. 材料と方法

有核真珠における真珠袋形成の観察材料は，英虞湾に産するアコヤガイ *Pinctada fucata* (Gould) を用い，パラフィン核および通常真珠養殖に使用される核を通常の挿核手術方法により生殖腺中に挿核し，真珠研究所多徳島臨海実験場前の筏から海面下 2m 層につり下げ適時固定した。

固定材料は常法によりパラフィン切片を作り，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・鉄ヘマトキシリン-オレンジ-G染色，ハイデンハイン・アザン染色等をほどこし観察した。手術時期，固定液等を一括して示すと表1のとおりとなる。

無核真珠の真珠袋形成の観察には琵琶湖産イケチョウガイ *Hyriopsis* (*Limnoscapha*) *schlegelii* (v. Martens) を用いた。移植外套膜片は外套縁膜部を帯状に切り取り，これを外側（殻側）上皮細胞の面を上にしてまな板上にのせ，ピンセットでつまんで上皮をはぎとり（真珠養殖業者間でこれを〝おもてはぎ〟と呼んでいる）メスで約 5mm 角に切ったものを用いた。手術方法は無核真珠生産のために行なわれる通常の方法に従い，外側上皮の側を上にしてまな板に置かれた移植片の中央をピンでつきさし，移植片を二つ折りにした状態で宿主の外套腔部に挿入した。手術後は網籠に入れて滋賀県野洲郡守山町浦谷真珠株式会社にて養殖した。手術時期と固定時期は表1のとおりである。固定は10%中性ホル

マリンにより，脱灰を要するものは固定後5％トリクロル酢酸で脱灰し，パラフィン切片を作ったのち，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-ライトグリン染色またはエオジンによる二重染色，ハイデンハイン・アザン染色をほどこし観察した。

表 1　真珠袋形成観察のために用いた材料の挿核手術時期，固定時期，染色法など。

手術時期 年 月 日	固定時期	固定液	染色法	目的等
1955. 8. 4 〃 9.20 1956. 4.17 〃 5.14 〃 6. 8 〃 7. 9 〃 8. 1	手術後 1,2,3,5 7, 9,12 14,17,21 25,30,45 60日後	10％ホルマリン緩衝液 (KH_2PO_4, Na_2HPO_4 で pH 7.0 に調整)	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	アコヤガイ有核真珠の真珠袋形成の観察
1958. 9. 8	1,2,3,5,8,11 16,21,31,54日	ツエンカー液	エールリッヒ・ヘマトキシリン-エオジン染色 アザン染色	アコヤガイ真珠袋の第二次移植
1960. 9.14 〜9.21	1〜10日 15,20,24,35日	チアチオ液	鉄ヘマトキシリン-オレンジG染色 アザン染色	アコヤガイ外套膜内側上皮の行動
1960. 6.30 〃 12.29 1961. 4. 7 〃 4.30 〃 5.30 〃 6.19 〃 〃 〃 〃	1961. 6.29(1年) 〃 〃(6か月) 〃 〃(8か月) 〃 〃(2か月) 〃 〃(1か月) 〃 〃(10日) 〃 6.24(5日) 〃 6.19(0日)	10％中性ホルマリン	鉄ヘマトキシリン-ライトグリン染色 アザン染色	イケチョウガイ無核真珠の真珠袋形成の観察 1か月以後の材料は5％トリクロル酢酸で脱灰

2. 観　察

1)　外套膜片移植手術直後における移植片ならびにこれをとり囲む周囲の宿主組織像

アコヤガイ有核真珠の場合，移植片はその外側（殻側）上皮の側を挿入核面に向け，内側上皮の側を宿主の組織に向けて挿入核面の一部を占めるように生殖腺組織中に挿入されている。移植片の外側上皮の中には多数の円柱状上皮細胞が並び細胞質はヘマトキシリンでうすく染まり，核は細胞のほぼ中央にあって核内には若干の染色質とエオジンに染まる1〜2個の仁が認められた。上皮細胞の基底部はエオジンでうすく染まりアザン染色で青く染まる結合組織につづいている。内側上皮細胞のはげ落ちた部分では結合組織または筋肉が裸出し，これが宿主の組織に直接とりまかれているが，ある場合には移植片の内側上皮細胞は少し残っているのが認められた。筋肉はやや収縮し筋束間に間隙を生じている。挿入核をとりまく宿主の組織は圧平されており，挿入核面ならびに宿主組織内，移植片の結合組織内に遊走細胞が正常の状態におけるよりもやや多く観察された（図1）。

イケチョウガイの無核真珠の場合は移植外套膜片はその外側上皮の側が内側になるよう二つ折りにされた状態で宿主の外套膜結合組織中に挿入されており，移植片の外側上皮細胞はほとんど無傷の状態で残っている（図2）。上皮細胞の細胞質は低倍率ではライトグリンにうすく染まってみえるが，やや拡大すると鉄ヘマトキシリンに染まる微細な顆粒が

認められ，核内には小数の染色質と1～2個の仁が認められた（図3）。移植片の上皮細胞下の結合組織および筋肉は宿主の外套膜結合組織によって囲まれており。移植片に接する部位の宿主の結合組織内にはエオジン，ライトグリン等に染まり，アザン染色で紫色に染まる円い顆粒をもった遊走細胞が正常の状態におけるよりやや多く観察された。

2)　移植片の外側（殻側）上皮細胞の形態変化と真珠袋上皮の形成

アコヤガイでは手術後1日ないし2日を経過した材料において，移植片の外側上皮細胞は円形から扁円形になり，細胞間の結合がゆるくなって基底膜から離れ，あるものは葉状，針状などの仮足（偽足）をもった不規則な形態となり，挿入核面と宿主組織または宿主組織の傷面に形成された遊走細胞シートとの間を挿入核面を包みながら遊出する（図4）。

この時期には，組織標本においてその縦断面からみるとみかづき状にみえる移植片の縁辺に続く場所に，細胞が密に並んでできた一層のへん平な上皮が形成されているのがみられた（図5，6）。上皮細胞の分布状態は移植片から離れるにつれてまばらとなり，その形態もへん平化し，遊走細胞の間にまじってところどころに認められる程度になる。4月水温が16°Cくらいで手術が行なわれた場合，14日後になお挿入核面の一部が真珠袋上皮細胞によっておおわれていないものが観察されたが，17日後にはすべての材料において上皮細胞が挿入核面を包み真珠袋が形成されていた。また夏季水温が28°Cくらいのときには，はやいもので3日，おそいもので7日を要するが，Kawakami (1953) によって報じられた結果と同様，6日後の材料の大多数において真珠袋が形成されていた。形成後間もない時期の真珠袋においては，同一真珠袋内でも形態の異なる上皮細胞の存在することが多く，もと移植片のあった部位においては円柱状上皮細胞が並び，移植片の縁辺より外方にひろがった部位ではへん平な上皮細胞より成る部分と円柱状の上皮細胞より成る部分の両者がみられる場合が多い。

イケチョウガイでは6月に手術を行なった場合，手術後4時間と5日の材料において円柱状の上皮細胞が観察され，19個体中15個体において真珠袋が形成されており，Ojima et al. (1953) の観察結果とよく一致した（図7）。

また10日後の材料ではすべての個体において移植片の外側上皮細胞は手術によって生じた傷面をおおい，円柱状上皮細胞より成る真珠袋が形成され（図8，9），わずかながら有機質の沈着が起こっているものも認められた。このようにして形成された真珠袋の上皮細胞中には，ヘマトキシリンによく染まる染色質と1ないし2個の仁を含む核が存在し，細胞質中にはライトグリンに可染，アザン染色でうす赤から紫色に染まる小さな顆粒が分布するのが認められた。また生成された有機質はライトグリン，エオジン等に染まり，アザン染色で赤く染まっていることより，これらの顆粒成分は分泌されて有機質を構成する成分になることが推測される。1か月後の真珠袋はいずれもへん平上皮細胞より成り，真珠層の沈着が認められ（図10），観察された19個の真珠袋のうち2個において若干の稜柱層の沈着の起こっているのが観察された。

3)　結合組織および遊走細胞の真珠袋形成時における行動

アコヤガイでは挿核手術後数時間ないし1日経過すると，移植片ならびに挿入核をとり囲む宿主の組織中に顆粒をもった遊走細胞と無顆粒遊走細胞が多数現われるのが観察され

た。これらの遊走細胞は宿主の組織に起源をもつものと移植片に由来するものがまじっていると思われるが，これらの細胞の起源についての区別はつけ難かった。挿入核面に多数現われた遊走細胞の多くは Takatsuki (1934) の報告した granular leucocyte であると思われ，その形は円いか少しいびつな円形で細胞質の短い突起をもつものもみられた。核は細胞の一側に偏在し，その中には十数個の粒状に染まる染色質が認められるが仁は認め難い。そして細胞質はヘマトキシリン-エオジン染色では弱くヘマトキシリンに染まり，またエオジンにうすく，アザン染色でうす赤く染まる円い小さな顆粒を少数含んでいるのが観察された。真珠袋上皮細胞が挿入核面をおおいつくしていない場合，挿入核面を直接とりまくのはこの種の顆粒遊走細胞であり，これらが数層から十数層重なった厚い細胞シートが宿主の組織と挿入核面との間に形成されていた。また真珠袋上皮と挿入核面の間には Tsujii (1960)，青木 (1961) らによって報告されているように，このような細胞の集団が封じこめられているのがしばしば観察され，これらが真珠のしみの一因となっていることが重ねて明らかにされた。

移植片と宿主の組織との間には上記の顆粒遊走細胞と無顆粒遊走細胞 (hyaline leucocyte) がともに観察されたが，手術後数日以上経過したものでは，無顆粒遊走細胞のある種のものの変形と思われる繊維芽細胞が互いに仮足によって隣接する細胞とつながって網目様の構造をつくり，移植片と宿主の組織との間に介在し，これによって両者が癒合しているのが観察された。

夏季，水温が 28°C 前後のときには 2〜7 日で結合組織が真珠袋上皮細胞下および移植片と宿主の組織の間に形成され，また水温 16°C 前後の春季には 7 日から20日，9月水温 27°C では 7 日，また10月水温 22°C では 7 日から14日を要した。

イケチョウガイでは手術当日，手術後 5 日および10日の材料で直径 7μ くらいの円い遊走細胞と長円形で 7×15μ くらいの大きさをもち大型のまるい顆粒の充満した細胞が移植片ならびに宿主の組織中に観察された。前者の核は細胞の一方にかたより，核内にはヘマトキシリンに染まる染色質が観察されたが仁は不明であった。細胞質はエオジン，ライトグリン等に染まり，アザン染色で紫色に顆粒状に染まる。この種の遊走細胞は移植片の外側上皮によって囲まれた腔部（真珠袋内）をはじめ移植片の上皮細胞下結合組織内にも若干認められ，移植片に接する部位の宿主の結合組織内には最も多く認められた（図11）。後者は手術当日には宿主の外套膜内側上皮細胞下の結合組織中に少数みられる程度であったが，5 日後と10日後の材料において著しく数を増し，手術後30日を経過した材料では数が減り，6 か月と 1 年後のものではその数は通常の外套膜においてみられる数と同じ程度になっていた。この種の細胞は宿主の外套膜内側上皮細胞下の結合組織内および移植片に接する部位の宿主結合組織内に多く認められ，宿主外套膜の外側上皮細胞下の結合組織内には少数認められた。しかし真珠袋上皮細胞によって囲まれた腔内（真珠袋内）ではこの種の細胞はほとんど観察されなかった。この細胞には大きな円い顆粒が充満しており，核はへん平あるいはややみかづき状に近く，一方に押しつけられている。円い顆粒はエオジン，ライトグリン等によく染まり，アザン染色で赤からオレンジに染まり，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリンで黒く染まる。強拡大下では部分的に染色態度が異なり，アザン染色

では一部がオレンジに染まり，これをとり巻くように大部分が赤く染まっており，顆粒と顆粒とのすき間は紫色に染まってみえる。

4)　移植片の内側上皮細胞および筋肉細胞の退化的行動

アコヤガイでは移植外套膜片に外側および内側の両方の上皮細胞が含まれている場合は，2)において述べたように，外側上皮細胞は挿入核面を包む真珠袋を形成するが，内側上皮細胞および筋肉は退化的行動を示した。外側上皮を切除した移植片すなわち内側上皮細胞と内側上皮細胞下結合組織および筋肉を含む移植片を移植した場合，内側上皮細胞は移植後2～6日の材料で細胞の厚みが増し，あるものは細胞質の突起をもち，基底膜から離れているのがみられ，4日後のある材料において挿入核面をとりまく宿主組織の一部に繊毛を有する円柱状上皮が形成されているのが認められた（図12)。 7日後および20日後の材料においても遊離縁のやや粗な短い繊毛をもったへん平上皮が核面の一部に形成されており（図13)，この細胞においては核は細胞のほぼ中央にあり，卵円形で若干の染色質と1～2個の仁が存在し，細胞質顆粒はあまり多くないが，オレンジ-Gに染まる小顆粒が若干存在するのが認められた。移植片から離れた場所では，内側上皮に由来するへん平化した上皮細胞が遊走細胞の形成している細胞シートにくいこむように入りこんでおり，上皮細胞の存在を見落としやすいが，遊走細胞の核は円いのに反し，上皮細胞では核は卵円形でその中に仁が認められる等の点で両者を区別することができた。手術後24日の材料では移植片に続く部位に内側上皮に由来する上皮組織が再生されていたが，上皮細胞の分布密度は非常にまばらで退化過程にあるものと判断され，移植片と相対する側では遊走細胞が石垣状に数層重なってできた細胞シートによって核面が包まれていた。しかし手術後35日を経過した材料では遊走細胞のシートが厚く核面をおおっており，核面を包む上皮組織を認めることができなかったこと（図15）より，移植外套膜片の内側上皮細胞は，移植後一時挿入核面をとりまく宿主の組織の一部に上皮組織を再生することがあるが，手術後20数日から1か月くらいの間に退化するものと思われる。また真珠成分の沈着は移植後35日までのいずれの材料においても認めることができなかったことから判断して，真珠袋を形成し真珠成分を生成する能力をもっているのは外套膜外側（殻側）上皮であり，内側上皮は真珠袋を形成する能力のないことが確かめられた。

移植片の筋肉は移植手術後，収縮した状態からやや伸長し，数日後には筋束間の結合がゆるくなり，そして2か月ないし6か月経過した材料ではいずれも退化が進み，筋肉がまばらに分布するものやまったく認められないもの等が観察された。イケチョウガイでは6月に手術を行なった材料で，84日と6か月後にアコヤガイの場合と同様，まばらになった筋肉が真珠袋上皮細胞下の結合組織中に認められた。しかし手術後1年を経過した材料では，移植片に由来すると思われる筋肉はまったく認めることができなかった（図16)。

5)　真珠袋上皮細胞の形態と機能

手術後十数日以上経過し，真珠成分を生成しつつある真珠袋を宿主の組織ごと切り出し，固定，脱灰して作った標本を観察した結果，真珠袋上皮細胞の基本的な形態に三つのタイプがあり，真珠成分とこれを生成する真珠袋上皮細胞との間におおよそつぎのような関連のあることがわかった。

i　真珠層を生成する真珠袋

脱灰された真珠層を観察すると，同心円状すなわち真珠袋上皮細胞層に平行して走る蛋白の基質がみられ，これがヘマトキシリン-エオジン染色により紫に，アザン染色では紫色ないし赤紫に染まっているのがみられる。

上皮細胞は一般にへん平で2ないし10μくらいのへん平な上皮細胞が敷石を敷きつめたように一層に並んでおり，その間のところどころに腺（粘液）細胞がみられる。上皮細胞の核はほぼ卵円形かいびつな円形で細胞の中央かまたは中央を少しはずれたところにあり，1ないし2個の仁と網目状ないし粒状に染まる染色質が認められる。細胞質はヘマトキシリン-エオジン染色でヘマトキシリンにうすく網目状に染まり，細胞質顆粒は稜柱層および有機質を生成している真珠袋上皮細胞に比べて少ない。上皮細胞の基底部は結合組織に接し，細胞の遊離縁は細胞質の密な層があり一般に整形を保ち，上皮細胞下の結合組織中にはエオジンによく染まり，鉄ヘマトキシリンで黒く，アザン染色で赤く染まる大きな顆粒をもった細胞がしばしば観察された。上皮細胞層中のところどころに存在する腺細胞はヘマトキシリンでごくうすく網目状に染まり，アザン染色で青く染まる内容物をもっているが，空胞化してまったく染まらないものも多く観察された（図17，18）。

ii　稜柱層を生成する真珠袋

脱灰された稜柱層のヘマトキシリン-エオジン染色標本において，真珠袋上皮細胞層に垂直方向に並ぶ太い稜柱間基質がエオジンに赤く染まり，この柱状構造の中にこれに垂直方向すなわち上皮細胞層に平行方向に走る細い基質がヘマトキシリンにうすく染まっている。

この真珠袋上皮細胞は厚さ30μくらいの円柱状のものから5μくらいのへん平な細胞まで種々の形態のものがみられた。核は細胞のほぼ中央にあるかまたは基底部側にかたよってあり，1～2個の仁と粒状に染まる若干の染色質が存在する。また細胞質はヘマトキシリン-エオジン染色でうすく紫色に染まるが，その程度は真珠層を生成している真珠袋上皮細胞に比べて一般にやや強く染まるようであった。そしてある上皮細胞においては，強拡大下でエオジンに染まる小さい顆粒が細胞質全体にわたって存在し，核と遊離縁の間にはこの種の顆粒がとくに多く分布するのが観察されたことより，これが分泌されて稜柱の柱状基質の成分となる可能性が推定された。上皮細胞にまじってところどころに腺細胞の存在するのが観察されたが，その分布状態は場所によって大きな差があり，数個以上集まっていることがある反面，ほとんどみられない部位もあった。腺細胞においては核は細胞の一方にかたよって存在し，圧平された形態である。その細胞質中にはヘマトキシリン-エオジン染色によってヘマトキシリンにうすく紫色に染まり，アザン染色で青く染まる網状ないし塊状の内容物がみられた。しかし空胞化した腺細胞ではヘマトキシリン-エオジン染色，アザン染色のいずれによっても染まり難かった。

iii　有機質を生成する真珠袋

有機質真珠には1）殻皮様の硬い感じでエオジンで赤から黄橙色，アザン染色によって赤からオレンジに染まるもの，2）繊維状でエオジンによって桃色，アザン染色で赤く染まるもの，および3）繊維状でアザン染色で青く染まるもの等が観察された。

有機質を生成している細胞は一般に10ないし50μの厚みのある円柱状上皮細胞であるが，まれには100μに達する厚い上皮細胞もみられた。しかし10μくらいのうすい上皮細胞からも有機質が生成されていることが観察された。上皮細胞の核はほぼ細胞の中央にあるかまたはやや基底部にかたよってあり，その中に1～2個の仁と数個から十数個の染色質が存在する。繊維状の有機質を生成する厚みのある円柱上皮細胞の細胞質中には真珠層や稜柱層を生成する上皮細胞に比べて，エオジン好性でアザン染色で赤く，また鉄ヘマトキシリンにも染まる蛋白顆粒と思われる顆粒が多く存在し，これが核と遊離縁の間にとくに多数充満しているのがしばしば観察された（図20）。またこのような上皮細胞の遊離縁の状態は比較的整形を保つもの，繊毛のあるものなどがみられたが，このほか細胞質の乱れた突起が形成されているもの，細胞の先端が塊状になって分泌されていると考えられるものが観察されていることより，前記の顆粒が有機質真珠の成分の一つとして分泌されていることが推定された。上皮細胞間には好エオジン性の大きな円い顆粒を含む腺細胞が存在することがあったが（図21），この顆粒は Tsujii（1960）によってアコヤガイ外套膜先端部の殻皮溝にとくに多く分布し蛋白を分泌していると考えられた腺細胞中にみられる顆粒と類似の染色態度を示したことから判断して，この顆粒も分泌されて有機質真珠の成分の一つにくみ入れられるのではないかということが推定される。また上皮細胞間に種々の形態をとった遊走細胞が入りこんでいるのが認められたが，これは Tsujii（1960）が指摘したようにおそらく物質の移動に関与しているものと考えられる。

6）第二次移植（真珠袋の移植）によって形成される真珠袋

真珠袋移植手術後，真珠袋が再形成される経過は外套膜片を移植片として用いた第一次移植の場合と非常に似ており，手術後2日から5日の材料で移植片における真珠袋上皮細胞の排列状態が乱れ，上皮細胞の形態は円柱状となり，ある上皮細胞では繊毛を生じているのが観察された。移植片から遊出する上皮細胞は移植片の上皮細胞層中で分裂増殖して移植片から遊出するもののごとく思われ，移植片から遊出する細胞の数は最初移植片真珠袋上皮組織中にあったと思われる数より増しているのが観察された。移植片と宿主の組織との癒合は外套膜片を移植した場合よりも早く，手術後5日で完成され，手術後8日の材料で挿入核の全面を包む真珠袋が形成されていた。

このようにして再形成された真珠袋上皮細胞の厚さは3～5μの非常にへん平なものから数十μに達する厚いものまであり，遊離縁の粗なもの，繊毛のあるものなどさまざまの形態のものが観察され（図22, 23），また細胞の排列状態および染色態度等は第一次移植（外套膜片の移植）によって形成された真珠袋上皮細胞におけるとまったく同様であり，そしてこれより真珠層，稜柱層，有機質が形成されることは第一次移植の結果とまったく同様であった。しかし真珠成分の沈着は外套膜片を移植した第一次移植の場合に比べてややはやく起こり，手術後5日の材料においてすでに有機質と稜柱の沈着が認められている。

3．小　括

外套膜片移植手術後数時間たつと，多数の遊走細胞が移植片ならびに挿入核面をとりまく宿主の組織中に現われ，ある場合には1日後には顆粒をもった遊走細胞が挿入核面と宿

主組織の傷面の間に石垣の石のように多数重なり，細胞シートを形成する。移植片の外側面に並んでいた円柱状上皮細胞は1～2日後に扁円形または円形等になり（後出），あるものは細胞質の短い突起をもった形態をとり，基底膜より離れ，移植片の外方に向かって挿入核面を包むように遊出し，この間に増殖し（後出），宿主の結合組織あるいは遊走細胞の集まってできた細胞シートを足場として挿入核面あるいは移植手術によって生じた傷面をおおう真珠袋を形成するのが観察される。これに要する日数は水温によって相当のひらきが認められ，春季水温16°C前後では17日，夏季28～30°Cでは3～7日を要する。また真珠層を生成しつつある真珠袋を宿主の軟体部組織中に移植した場合も外套膜小片を移植した場合とほとんど同じ経過で真珠袋が形成される。これに反して移植された外套膜片の内側上皮細胞は移植後数日から退化しはじめ，ながく残っている場合でも約1か月後には退化してしまうようである。このような点から真珠袋を形成し真珠形成を行なう能力のあるのは外套膜外側上皮であることがわかる。形成直後においては真珠袋上皮細胞の厚さは同一真珠袋においても場所により相当の差異が認められることが多く，厚みのある真珠袋上皮に対応する場所に有機質が沈着しており，非常にへん平な上皮細胞より真珠層が生成されている等真珠袋上皮細胞の形態に応じて，生成されている真珠成分に違いのあるのが認められた。アコヤガイの真珠成分には真珠層，稜柱層，有機質の3成分がみられるが，それぞれを生成する真珠袋上皮細胞はつぎのような特徴をもっているといえよう。

真珠層を生成する真珠袋：　上皮細胞の形態はへん平で2～10μくらいの厚さをもち，細胞質顆粒は稜柱層，有機質を生成する上皮細胞に比べて非常に少なく，細胞質はヘマトキシリン-エオジン染色によってうすくヘマトキシリンに染まり，そして上皮細胞間のところどころにヘマトキシリンにうすく染まり，アザン染色で青く染まる内容物をもった腺細胞が点在する。

稜柱層を生成する真珠袋：　上皮細胞は5μくらいの厚さのへん平なものから30μに及ぶ円柱状上皮細胞などがみられ，ヘマトキシリン-エオジン染色によりうすくヘマトキシリンの色をとるが，細胞質顆粒は真珠層を生成する真珠袋上皮細胞に比べてはるかに多く，エオジン好性の微細な顆粒を多く含む上皮細胞がしばしば観察される。そして上皮細胞間のところどころに，分布の多い場所と少ない場所があるが，ヘマトキシリンに網目状にうすく染まる内容物をもった腺細胞が存在する。

有機質を生成する真珠袋：　10ないし50μの厚い円柱状上皮細胞から成っており，上皮細胞の遊離縁は粗で塊状にちぎれているものや細胞質の乱れた突起を生じているものなどがみられ，また上皮細胞中とくに遊離縁と核との間にはエオジン好性の微細な蛋白顆粒と思われる顆粒が多数分布していることより，この種上皮細胞は稜柱層および真珠層を生成している真珠袋上皮細胞より著しく高い蛋白分泌能をもって有機質を分泌生成するのではないかということが推定される。また上皮細胞間のところどころに，エオジン好性でアザン染色で赤く，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリンで黒く染まる蛋白顆粒と思われる円い大きな顆粒を含む細胞が単独または数個以上かたまって分布しているが，これら顆粒成分も分泌されて有機質真珠の一成分としてくみ入れられる可能性が推定される。

Ⅳ　In-vivo における真珠袋形成の観察

1. まえがき

挿核手術後，真珠袋が形成される経過については Kawakami (1952, '53, '54), Ojima and Watanabe (1953), 青木 (1956, '61), 町井・中原 (1957), 中原・町井 (1957), Tsujii (1960), 藤岡・立石 (1960, '61) らによって組織学的な観察結果が詳細に報告されている。しかしながら真珠袋形成過程において，移植外套膜片の外側上皮細胞をはじめ遊走細胞，結合組織細胞において細胞分裂像を見いだすことはきわめてまれであり，わずかに Ojima and Watanabe (1953), 藤岡・立石 (1960) らによって移植片の外側上皮細胞ならびに結合組織細胞に細胞の増殖の起こっていることが軽く触れられているにすぎない。また一方著者 (1959) は真珠層を生成しつつある真珠袋上皮組織を 2 mm 角に切り，パラフィン核とともにアコヤガイの生殖腺組織中に移植した結果，ふたたび挿入核のまわりに真珠袋が形成され，この真珠袋における上皮細胞の排列状態ならびに細胞の大きさは外套膜小片の移植によって形成された真珠袋におけるとまったく差異のないことから，真珠袋の第二次移植によって真珠袋が形成される際，その上皮細胞は増加することを実験的に証明し，真珠袋形成時において細胞増殖の起こることを推定してきた。しかしこれまでのいずれの研究結果においても，移植片の上皮細胞および結合組織細胞等において細胞分裂像（核分裂像）が観察されていなかったため，上皮細胞は増殖して真珠袋上皮を形成するかあるいは単に細胞が移植片から遊出し挿入核面に移住することによって真珠袋が形成されるかという点および細胞が増殖するとすればどの程度増殖が起こるものかなどの諸点についてはなお明らかでなく，今後解明されなければならない問題として残されていた。現在までの真珠袋形成の研究はいずれも切片標本の観察結果によるものであるが，以下に述べるように，移植片を 2 枚のカバーグラスの間にはさんで宿主の組織中に挿入し，一定期間後にこれを取り出して表面から観察するカバーグラス法 (Wada, 1961; 和田, 1962) によると，移植片より遊出する細胞の大多数を同一標本上に平面的に収めることができ，位相差検鏡による生体観察および固定染色標本による観察などをあわせ行なうことができ，しかも in-vivo というもっとも好適な条件下における真珠袋形成が観察できることよりして，この方法による観察結果を組織切片標本ならびに外套膜の組織培養による観察結果と合わせて考察することにより，真珠袋形成に関するきわめて信頼度の高い知見が得られるのではないかと考えられる。

本方法によって得られた標本の生体観察によって，とくに真珠袋形成初期において移植片より遊出する上皮性細胞，遊走細胞ならびに宿主の組織に由来する遊走細胞などの排列状態，細胞遊出帯における細胞の分布状態などを明らかにすることができた。またこれに加えて，これらの材料を押しつぶし染色標本とすることによって，ガラス面上に現われた各細胞の核内の観察は従来の切片標本による観察に比べて非常に容易となり，切片標本では観察されていなかった分裂中と思われる核を発見することができ，これによって，真珠袋形成過程において細胞増殖の起こっていることをつきとめるとともに，その核分裂様式は無糸核分裂によるのではないかという新知見を得ることができた。

2. 材料と方法

in-vivo における真珠袋形成を観察するために以下に述べる三つの方法を試みた。

① 2枚のカバーグラスの間にはさんで閉殻筋中に移植した外套膜小片から真珠袋が形成される過程の生体観察（カバーグラス法）

② 2枚のカバーグラスの間にはさんで閉殻筋中に移植した真珠袋から真珠袋が形成される過程（真珠袋の第二次移植）の生体観察

③ 前記①の方法によって得られた材料の染色標本による観察

上記の方法は以下のとおり実施された。すなわち，アコヤガイの外套膜縁部を1～2 mm角に切り，これを5～8 mm角に切った2枚の薄手カバーグラスの間にはさみ，先細のメスで閉殻筋を筋肉の走行方向に5mmないし10mmくらい切開して作った傷口に挿入した。挿入後7日まで毎日，以後は20日まで1日または2日おきに傷口をさらに大きく切り開いてガラス片を取り出し，生体観察ならびに押しつぶし染色標本による観察を行なった。

外套膜片の生体観察は，閉殻筋中から取り出した2枚のカバーグラスを Cameron の squid•clam 用塩類液（勝田，1958）中でしずかに引き離し，移植片のついている面をスライドグラスの面に向けて置き，周囲を流動パラフィンで封じて表面の汚れをとり，主として位相差検鏡（DM）を行ない，必要に応じて偏光，普通光による観察を行なった。

真珠袋の生体観察は真珠層を生成しつつある真珠袋をガラス板上で2ないし2.5mm角に切り，外套膜片で行なったのとまったく同じ方法によって閉殻筋中に挿入したものについて同様の方法で観察した。

固定染色標本は生体観察の場合と同様にして得られたガラス片を10%ホルマリン緩衝液（Na_2HPO_4, KH_2PO_4 で pH 7.4 に調整），ツェンカー液，90%エタノール，カルノア 3：1液，30%エタノールで1時間ないし1夜前固定したのち，カルノア（3：1）液または 100 %エタノールで固定する方法等によって固定した。

染色は 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・鉄ヘマトキシリン染色，ルゴー・ヘマトキシリン染色，フォイルゲン反応等を行なった。以上の方法のほかに40%酢酸オルセインによる押しつぶし標本を作り，必要に応じてライトグリンで軽く後染色する方法を用いた。

3. 観　察

1） 外套膜移植片による生体観察

移植後3時間の材料で，移植片の縁部をはじめ挿入カバーグラス面上の各所に主として宿主に由来すると思われるつぎの2種類の遊走細胞が多数観察された（図24）。

i. 無顆粒遊走細胞： 細胞全体は暗位相差検鏡で暗く見え，円いものは直径10～15μくらいであるが5ないし7μくらいの小さいものもみられる。多くは三角形，長方形，星形などの形態に，位相差検鏡によってやや暗く観察される膜状，錐状ないしは針状の仮足（偽足）を伸ばしてさまざまの形態をとっているのがみられた。核は長円形から角のとれた楔状で細胞の中央付近に観察されたが，その位置は仮足の出し方によって一定しないようである。核内には粒状に黒く見える十数個の染色質が認められたが仁は不明であった。

また核に近接した場所または細胞質内の各所に，数個ないし十数個の明るく見える液胞がみられるものもあった。細胞質顆粒は少ないが，核の周囲および細胞の中央付近にはミトコンドリアと思われる黒く見える小顆粒が存在する。そしてゆっくり仮足を出し入れしてアメーバ運動をするのが観察された。またこの種の細胞は仮足をもって隣接する細胞と互いに結びつき，ガラス面に密着して運動性を失い繊維芽細胞様細胞（繊維芽細胞）の形態をとるのが認められた（図25，26）。

ii. 顆粒遊走細胞：　円形を呈するものは直径10～22μくらいであるが，さらに小さいものも観察された。多くのものは円形であるが，多角形，三角形など種々の形態をとり，細胞の一部または数か所から舌状，錐状ないしは針状などの仮足を出し入れし活発にアメーバ運動をしている。しかし仮足は無顆粒遊走細胞のように長く伸ばさないようである。細胞質中には輝いて見える直径0.5～2μくらいの円い顆粒が多数充満しており，この顆粒が原形質の流動にしたがって細胞質内を移動するのが観察された。細胞の形態変化はまず舌状，葉状などの仮足を出し，ついでこの部分に上記の円い顆粒が原形質の流れによって移動してきてここに新しい形態ができる。円い形の細胞では核は認めにくい場合もあるが，多くは核の存在場所は明るく不透明に観察され，その位置は細胞の一側に偏在する。細胞の形態の伸長したものおよびやや弱ったと思われるものなどでは核が細胞の一側に認められ，核内には黒く見える十数個の粒状の染色質が観察された。また核のほかに，細胞の中央かまたは中央を少しはずれた場所に不透明で胞状にみえる空胞部，ゴルジ体がみられた（図26～29）。

これら2種類の遊走細胞のうち顆粒遊走細胞はガラス面にとくに多くみられ，活発にアメーバ運動しているのが観察された。

手術後1日ないし3日には挿入したガラスのほとんど全面に円形，しずく形などさまざまの形態をもち細胞の1か所または数か所から短い錐状ないし針状の仮足を出して活発に運動する顆粒遊走細胞がきわめて多数観察された（図30，31）。ガラス片の縁辺部では飛び石状に散らばった細胞の集団がみられ，これら細胞集団の中心部においては顆粒遊走細胞および無顆粒遊走細胞が入りまじって分布しており，その縁辺部では細長く伸びた無顆粒遊走細胞が遊出しているのが認められた（図32）。

移植片縁においては内部から外方に向かって押し出されたかっこうの上皮性細胞がガラス面をはうように移植片から放射状に遊出している。この細胞遊出帯の移植片に続く部位では，細胞は密に集まって重なり合い，暗く見えるので細胞の内部の状態をよく観察することができなかったが，細胞遊出帯の自由縁近くでは細胞シートは1層となっており，はなればなれになった円い上皮性細胞も認められた（図33，34）。また移植後3日のある材料の細胞遊出帯において，上皮性と思われる細胞の細胞質が2分するのが観察されたが，この材料では多数の細胞が重なり合っていたため核内の像を十分観察することができなかった（図35）。

上皮性細胞は直径10～20μくらいの円いものが多いが，あるものでは変形し，長円形，洋梨形などの形態のものも観察された。核は細胞の中央を少しはずれた場所にあり，核内には粒状にみえる染色質とややいびつな円い仁が認められた。核に接して，やや暗く不透

明で顆粒状ないしは胞状に見えるゴルジ体があり，その周囲をとりまくようにミトコンドリアと思われる0.5～1μくらいの粒状の顆粒および分泌顆粒と思われる比較的明るくみえる円い顆粒等の存在するのが観察された。

移植片から細胞の遊出する像は，5，6月の場合1日から5日，夏季7，8月では1日から4～5日の間に多くみられたが，季節のいかんを問わず，さらに日数の経過した多くの材料においても，なお移植片縁から細胞の遊出するのが認められた（図38）。

4～7日後には挿入ガラス片の全面は上皮性細胞および遊走細胞によっておおわれていたが，なお移植片より遊出する細胞がみられ，ある場合には位相差検鏡でやや暗くみえる上皮性と思われる円い細胞がガラス面に近く存在し，これより明るく輝いてみえる顆粒をもった顆粒遊走細胞および透明で暗く見えるものから中間調にみえる無顆粒遊走細胞がその下に入り乱れて分布しているのがみられた（図39）。また7日後の材料において，上皮性と思われるやや凹凸をもった円い細胞がガラス面に細胞シートを作っているのが観察され（図40），そして早いものでは7日後に，上皮性細胞によって形成された細胞シートとガラス面の間に黒くみえる有機物（真珠成分）の沈着が認められた（図41）。

7～8日以後には直径10μくらいの上皮性細胞が挿入ガラスの全面を占め，その下には顆粒遊走細胞および無顆粒遊走細胞が集まってできた細胞シートが形成されている。そして11日以後の材料においてガラス面上に鉱物化した真珠成分―稜柱―の沈着が認められた（図42～45）が，このように真珠成分の沈着の起こっている材料では，沈着物と細胞の重なりのため標本が厚くなっており，細胞の排列状態および細胞内部の状態等を観察することは非常に困難であった。手術後2か月と4か月の材料では，2枚合わせになったカバーグラスの全面が真珠層でおおわれているものが得られた。

2)　真珠袋移植片による生体観察

移植後2日の真珠袋を上面から観察したところつぎのような像が観察された。角のとれた三角形，六角形，長円形で一部に角ばった部分のあるものなどさまざまの形態をもったへん平な真珠袋上皮細胞が敷石を敷きつめたように密に並んでおり，細胞間隙はややせまく，暗く観察されるすじで境されている。大きい細胞は一辺が20μくらいあり，小さい細胞では5～10μくらいである。核は細胞の中央か中央を少しはずれた場所にあり，その大きさは5μくらいで円いが，大きいものは10μくらいにひろがっており，核内には粒状にみえる染色質とやや不規則な円い形の仁が観察された。そしてこの上皮細胞シートの下に筋肉の存在するのが縞模様に観察された（図46）。

移植後1ないし2日には移植片の周辺に離ればなれになった上皮性と思われる円い細胞が散在し，これが移植片に近い場所ほど多くなっており，移植片縁ではこの種の細胞が多数重なりあってできた細胞遊出帯がみられ，移植片から外方に向かって上皮性細胞の遊出している像が観察された（図47）。

4日後には細胞遊出帯の縁辺部においてまるい上皮性細胞がまばらに分布し，この間をうずめるように顆粒遊走細胞および無顆粒遊走細胞が存在するのがみられ（図48），またある材料の細胞遊出帯の一部で，少し角ばった部分のできたほぼ円形の上皮性細胞が数個ゆるく結合するごとく並んでおり（図49），ガラス片の縁辺部では不規則な多角形をした

顆粒遊走細胞と三角形，多角形などさまざまの形態をもち，暗位相差検鏡で暗く見える無顆粒遊走細胞が互いにすき間を埋めるように入りまじっているのが観察された。さらに日数の経過したものでは，上皮性細胞より成る細胞シートがガラス面にできて真珠袋が形成された。

3)　押しつぶし染色標本による観察

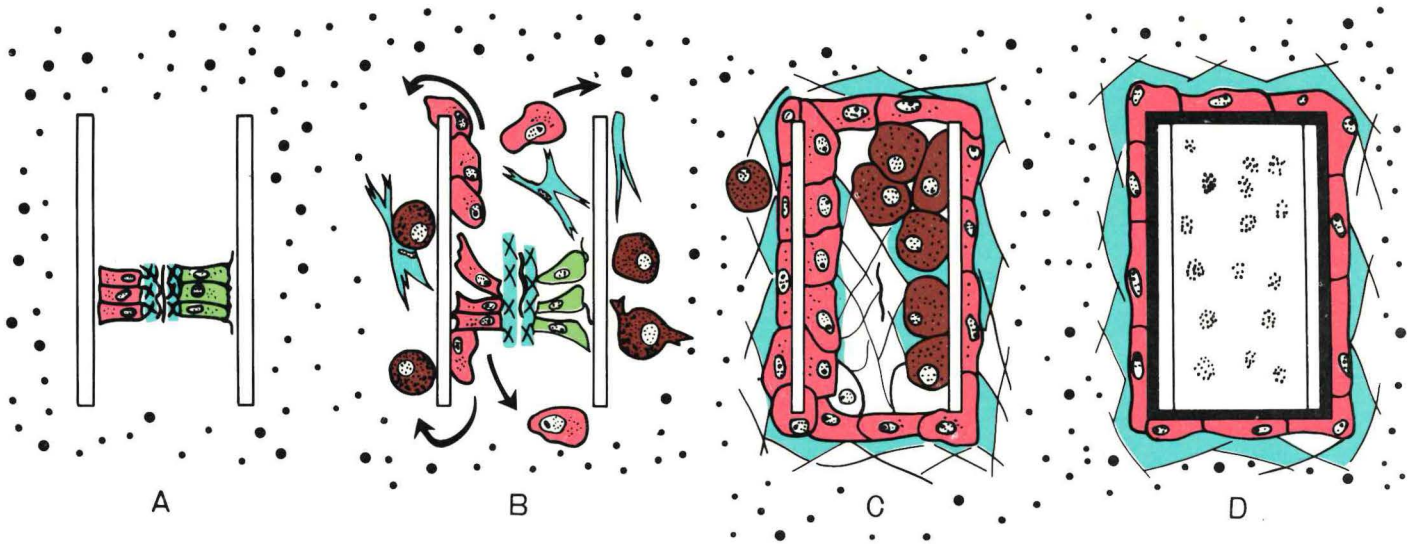
移植片縁に形成された細胞遊出帯において，紡錘形，三角形，星形などの形態に加えて，さらに錐状，針状，膜状あるいは燕尾状などの仮足を伸ばしたさまざまの形態の繊維芽細胞様細胞が互いにその仮足によって結びつき，繊細な網目構造をとっている。そしてこれらの細胞の間隙にはさまれるように円形ないしややいびつな円い核をもった顆粒遊走細胞が分布している（図50，51)。繊維芽細胞様細胞の核は桿状を呈するものが比較的多いが，くびれた部分のあるものや折れ曲っているものもあり，またくびれが糸状に長く伸びて有糸分裂末期の一型を思わせるようなものも認められた。くびれが糸状に長く伸びた核では各娘核は円く，糸状部の先端は各娘核に入りこんで粒状の構造物につながっているように観察された（図52)。しかし観察されたいずれの核においても核膜は存在し，十数個の染色質は酢酸オルセイン，ヘマトキシリン染色，フォイルゲン反応等にて粒状に染まって核内の各所に分散しており，染色糸，染色体の形成されているものは認められなかった（図53)。また繊維芽細胞様細胞および円形の顆粒遊走細胞においても，上皮性細胞ならびに繊維芽細胞様細胞においてみられたと同様のくびれた核をもったものや2核の細胞が観察された（図54，55)。一方，6日後の材料で，移植片縁から外方に向かって形成された上皮性細胞の遊出帯の一部において二つにくびれた核およびくびれがやや長く伸びた核をもった細胞がみられた（図56，57）が，染色体の形成された核や核膜の消失した核をもった細胞を発見することはできなかった。このようにいずれの細胞の核においても有糸分裂を証拠づけることのできる染色像が認められないにもかかわらず，分裂末期を思わせる核や2核の細胞の存在することは，これらの細胞においては，無糸核分裂によってすみやかに核が分裂することにより，さかんな再生力—真珠袋形成を支えているのではないかということが推定できよう。

4．小　括

2枚のカバーグラスに外套膜小片あるいは真珠層を生成中の真珠袋小片をはさんで閉殻筋中に移植すると，暗位相差検鏡によって暗く観察される無顆粒遊走細胞，細胞質に明るく輝いてみえる顆粒をもった顆粒遊走細胞および円形ないし長円形の上皮性細胞等がガラス面に多数現われる。このうち顆粒遊走細胞はガラス面にとくに多く現われ，無顆粒遊走細胞の形成する細胞シート中にもしばしば認められる。

無顆粒遊走細胞は，移植後数時間ないし2，3日にとくに多くみられ，紡錘形，三角形，星形などの基本的な形に加えて，膜状，燕尾状，針状などの仮足を出し，繊維芽細胞様細胞の形態をとり，その仮足によって多数が互いにつながり，繊細な網目を形成して傷口の癒合にあずかる。

また外套膜片移植後1～2日に円形ないし扁円形の上皮性細胞が移植片から外方に向か



Text fig. 1. 2枚のカバーグラスにはさまれた外套膜片から真珠袋が形成される経過。

A：移植直後。　B：移植片から細胞が遊出，増殖し，ガラス面上に移住を起こす。
C：真珠袋が形成される。　D：真珠成分の沈着が起こる。

移植外套膜片外側上皮細胞
移植外套膜片内側上皮細胞
結合組織
顆粒遊走細胞
無顆粒遊走細胞
筋肉
形態のかわった上皮細胞
カバーグラス
真珠成分

ってシート状に集まって遊出しはじめ，この細胞シートはガラス面と顆粒遊走細胞ならびに無顆粒遊走細胞が形成する細胞シートの間をひろがり，夏季では7日後にはガラス面の全面をおおい真珠袋を形成する。真珠成分は夏季の材料で，7日後に有機質が，11日後には稜柱の沈着しているものがみられており，2か月と4か月後の材料では2枚合わせになったカバーグラスの外面全部が真珠層によって包まれているものが得られた。このような事実より，移植された外套膜小片の外側上皮細胞はこれをはさんでいた2枚のガラス片の間から外側に遊出し，2枚合わせになったガラスの全面を包む真珠袋を形成することが実証された (Text fig. 1)。また，移植片に真珠袋を用いた場合も外套膜片を移植したときと同様の経過をたどって真珠袋が形成される。

外套膜片移植後1日から20日の材料に酢酸オルセイン，フォイルゲン反応，鉄ヘマトキシリン染色等をほどこして観察した結果，ガラス面上にみられた上皮性細胞，繊維芽細胞様細胞のあるものにおいて分裂中と思われるくびれを生じた核や引きちぎれるように伸びた形の核が認められ，また2核の細胞も小数ながら認められ，しかも観察されたいずれの細胞においても有糸分裂らしい像は見いだされていない点より考察すると，これらの細胞では無糸核分裂が起こるのではないかということが推定される。

V　In-vitro における真珠袋形成の観察

1. まえがき

前項において，2枚のカバーグラスの間に移植片をはさんで宿主の組織中に挿入し，一定期間後にこれを取り出して上面より観察するカバーグラス法によって真珠袋の形成される過程を観察した。その結果，移植片縁から上皮性細胞が外方に向かってシート状に遊出し，宿主の組織の傷面あるいは傷面に現われた遊走細胞シートを足場にして挿入ガラス面を包む真珠袋を形成する。そしてこの過程において，顆粒遊走細胞，無顆粒遊走細胞および上皮性細胞の核において分裂中と思われる像を観察し，これら細胞は移植片から遊出する過程において分裂増殖して真珠袋を形成すること，さらに核分裂においては無糸核分裂が起こっているのではないかということを推論してきた。このようにして真珠袋形成の追究は一歩進められたが，組織切片による観察はもちろん，カバーグラス法においても，ある材料の限られた時期における組織像を観察することによって真珠袋形成を追究してきたものであり，同一材料について組織像の変化を継続して観察することはできず，またカバーグラス法では細胞の排列状態や核内の状態をよく観察することはできたが，挿入ガラス面上に現われる遊走細胞は宿主に由来するものと移植片から遊出した両者が入りまじっているため，移植片から遊出する細胞が実際にどの程度増殖するかという点についてはなお確かな数字が得られ難い。このような点をも含めて真珠袋形成過程を解明するために著者はアコヤガイの外套膜の組織培養を行ない，移植片から遊出する上皮性細胞，遊走細胞，筋肉細胞等が形づくる細胞シートの重なり方などについて観察し，その結果と従来の組織学的ならびに前述のカバーグラス法による観察結果とを合わせて検討した結果，真珠袋形成過程において，上皮性細胞，遊走細胞等が互いに組み合わされて真珠袋が形成される過

程を従来よりさらに明確に把握することができた。

貝類での組織培養については古くから Gattenby and Hill (1934) の *Helix aspersa* の外套膜による研究があり，その中で植片より遊出する細胞の形態について詳細に報告され，また植片より遊出した結合組織細胞において無糸核分裂の起こっていることが述べられているが，この培養は無菌状態では行なわれなかったので培養日数は比較的短く5日であった。しかし最近 Frandre and Vago (1963) は *Helix aspersa* の外套膜と心臓組織について継代培養を行ない Gattenby and Hill が無糸核分裂を報じたのに反して，有糸核分裂によって細胞が増殖することを述べている。また2枚貝では Perkins and Menzel (1964) は *Crassostrea virginica* の外套膜を42日間培養したことを報告している。このほか Kenny (1964) および Li et al. (1966) のカキについての報告があるが，貝類の組織培養については報告例が少ないうえに，細胞の増殖方法についても，有糸核分裂を報じたものとこれを否定したものの両方があり，確論が得られていない現状である。しかし将来培養方法ならびに培地の改良をすすめることによって in-vitro における真珠袋形成が可能になれば，種々の条件下における真珠成分の分泌あるいは真珠形成の観察を継続して行なうことができるようになり，真珠形成の追究がさらに進められることになろう。

2. 材料と方法

アコヤガイの外套縁膜部を 3mm×20mm くらいの帯状に切り取り，これをペニシリンGカリウム 500 u/ml とジヒドロストレプトマイシン硫酸塩 500 γ/ml とを含む Cameron の海産 Squid•Clam 用塩類液で5,6回洗い，さらに細切して 1.5～2 mm 角の大きさにし，カレルびんおよび TD フラスコ中で静置培養した (Earle, 1954; 勝田, 1955)。培地は固型培地はニワトリ血漿と鶏胚抽出物によるプラズマクロットを用い，液体培地は Cameron の squid•clam 用塩類液を基礎とし，これにアコヤガイ血液の液状成分，閉殻筋エキス，幼牛全血抽出物（ソルコセリル）等を加えたものに 80 u/ml のペニシリンと 80 γ/ml のストレプトマイシンを含むよう添加したものを用い（表2），培地の交換は2，3日おきに行なった。培養は 18°C—28°C の室温にて行なった。

表 2　培養液の組成

A　液 (Cameron の海産 squid•clam 用塩類液) 1ℓ中の塩類組成 (g) と添加抗生物質の量	NaCl	27.27
	KCl	0.76
	$CaCl_2$	1.22
	$MgCl_2$	2.36
	$MgSO_4$	3.44
	$NaHCO_3$	0.21
	ペニシリン	100,000 U
	ストレプトマイシン	100 mg
B　液 1 ml 中の組成	アコヤガイ血液（ミリポアフィルターで濾過滅菌）	0.5 ml
	閉殻筋エキス	0.25 ml
	幼牛全血抽出物	0.25 ml
液体培地 10 ml 中の組成	A液	8 ml
	B液	2 ml

3. 観　察

植付後早いものは4時間後に図58にみられるように，植片の周囲に多数の顆粒遊走細胞および無顆粒遊走細胞が観察され，またこれら2種類の細胞にまじって上皮性細胞と思われる直径20～25μの円い細胞が小数認められた。顆粒遊走細胞は円形，長円形，三角形など種々の形態をとり，単独または数個から数十個が集まって液体培地中に浮遊するか血漿膜の表面に軽く付着しているようで，単独のものは錐状ないし針状の仮足を出し入れして活発にアメーバ運動している。無顆粒遊走細胞は三角形，紡錘形等の基本の形態から尾状，針状などの仮足を伸ばし，星形，掌状その他複雑な形態をとり，多数がその仮足によって隣接する細胞と結びつき植片縁から伸び出しているが，培地中に単独に存在するものも認められた。

2日後には直径20～25μの円い上皮性細胞が集まった細胞遊出帯が血漿膜面に軽く付着するごとく植片の周囲50μにわたって形成されたが，上皮性細胞の分布状態はややまばらで細胞同志の間にはすき間があり，このすき間に直径10μくらいの顆粒遊走細胞が分布しているのが観察された（図59）。

4日と6日の培養では，このようにシート状に遊出した上皮性細胞は互いに接触し合って隣接する細胞との境界面は角ばってみえ，細胞の分布状態は2日の状態よりやや密になり，細胞の大きさは少し小さく20μくらいになっていた。そしてこの上皮性細胞のシート中において，上皮性細胞の欠けた部分には，これを埋めるように顆粒遊走細胞および無顆粒遊走細胞の存在するのが認められた（図60，61）。また植片縁から紡錘形または菌糸状にのびた筋肉細胞の遊出がみられ，あるものは植片から離れた場所に単独または数個が束状あるいは長く連なって移住しているのがみられた。このように移住を起こした筋肉細胞の多くは液体培地中に半ば浮かぶような状態で存在し血漿膜に密着していないようで，培地の動揺によって容易に揺れ動く。菌糸状にのびた筋肉細胞は位相差検鏡では全体が輝いて見えることが多く，紡錘形をしたものでは細胞の中心部は暗く，周縁部は明るく輝いて見えるが細胞内部の状態は観察しがたい。この種の細胞を偏光で観察したところ，直交ニコル下で複屈折を示すことから筋肉細胞であることが確かめられた（図62，63）。

7日以後の培養において，植片から繊維芽細胞様細胞，上皮性細胞，筋肉細胞および顆粒遊走細胞等の遊出が引きつづき観察された（図64,65,66）。培養12～20日の材料の上皮性細胞からなる細胞遊出帯の外縁部において，繊維芽細胞様細胞が尾状，燕尾状，錐状ないしは針状に伸ばした仮足によって互いに結びつき，網目様の細胞シートを血漿膜上に密着して形成しているのが観察された。この細胞は暗位相差検鏡によって暗く観察される無顆粒遊走細胞の変形と思われ，強くへん平化して血漿膜に密着しており，培地が多少揺れ動いてもはがれにくい。核は細胞の中央付近にあり，仁が認められるものもあり，核の周囲の細胞質中には細胞の伸長方向に並ぶ粗な長い棒状ないしは曲りくねった糸状および粒状のミトコンドリアがあり，粒状のものはすみやかに往復運動するのが認められた（図67，図68）。培養15日前後で植え継ぎを行なったところ，植片はもろくこわれ易くなっており，それ以後における細胞の遊出は必ずしも良好ではなかったが，10個の培養では顆粒遊走細胞，繊維芽細胞様細胞および筋肉細胞の遊出がなお引き続き起こっており，最もながいも

ので45日間培養を続けることができたが，真珠成分の沈着はその時まで認めることができなかった。

4. 小括

真珠袋形成を追究するためにプラズマクロット法によってアコヤガイの外套膜の組織培養を行ないつぎの結果を得た。

培養開始後4時間には，植片から多数の顆粒遊走細胞および無顆粒遊走細胞が遊出し，植片縁においては上皮性の円い細胞も少数ながら遊出する。培養開始後2日以上たつと，さらに多数の顆粒遊走細胞，無顆粒遊走細胞，上皮性細胞および筋肉細胞等の遊出が続くが，数日以上培養された植片の周辺に形成された細胞遊出帯における典型的と思われる細胞分布の状態をまとめてみるとつぎのようになる。　植片の縁辺部には上皮性細胞がシート状に集まってできた細胞遊出帯があり，この外縁部には繊維芽細胞様細胞が形づくっている網目様の細胞遊出帯が血漿膜面に密着するごとく形成されている。これを断面からみると，植片縁においては上皮性細胞の遊出帯が血漿膜面に近くシート状に形成され，この上面すなわち液体培地側に，これにかぶさるごとく繊維芽細胞様細胞の網目様シートが形成され，この繊維細胞様細胞シートの外縁部は上皮性細胞が形成する遊出帯のさらに外縁にまでひろがっている。また単独で紡錘状をしたものおよび数個以上が束状に集まった筋肉細胞が繊維芽細胞様細胞のシートの上部すなわち液体培地の中に半ば浮かぶように植片縁より遊出しているのをみることがある。そして時には数個から数十個以上の顆粒遊走細胞が植片縁において血漿膜面に軽く付着するごとくシートを形成しているのがみられるが，このような場合上皮性細胞との区別はやや困難である。以上は植片縁にみられる細胞遊出帯における細胞分布の典型的な例であると考えられるが，細胞の分布状態は植片によって非常に大きな差が認められ，上皮性細胞の遊出のよいもの，繊維芽細胞様細胞による細胞シートが著しくよく形成されるものあるいは筋肉細胞がさかんに遊出してくるものなどさまざまの例が観察されている。

VI 総　　括

外套膜片移植手術（挿核手術）後数時間たつと，移植片から多数の遊走細胞が遊出しはじめ，また少数ながら上皮細胞も植片の外縁に遊出してくる。そして挿入核面ならびにこれを取りまく宿主の組織中にも宿主に由来する多数の遊走細胞が移住してきて，移植片付近ではこれら宿主に由来する細胞と移植片から遊出した細胞が入りまじっている。宿主組織の傷面に現われる遊走細胞は大別して2種類あり，一つは Takatsuki (1934) の報告した granular leucocyte で他の一つは lymphocyte である。

このうち前者は宿主の組織の傷面および挿入核面においてさかんに貪食作用を行ない，手術後3日くらいたつとある場合には石を積み上げたように多数が重なって核面との間に細胞集団を形成し (Tsujii, 1960; 青木, 1961)，真珠の〝しみ〟を形成する一因となる。また後者 (lymphocyte リンパ球，hyaline leucocyte, 無顆粒白血球) は最初顆粒遊走細

胞とまじって挿入核面およびこれをとりまく宿主組織の傷面にやや多く現われるが，これらのうちのあるものは仮足を伸ばして繊維芽細胞様細胞の形態をとり，その仮足によって互いに結びつき，数日ないし十数日後には手術によって生じた傷口，移植片と宿主の組織との間および真珠袋上皮細胞基底部と宿主組織の間の癒合にあずかる。

一方移植片の外側上皮細胞は移植後数時間ないし1日後に円形から扁円形になり，あるものは細胞質の突起をもった形態をとり，基底膜から離れ，分裂増殖して移植片縁においてシート状に集まって外方に向かって遊出し，宿主の組織または宿主組織と挿入核面との間に形成された無顆粒遊走細胞（繊維芽細胞）シートを足場として挿入核面を包みながらひろがり真珠袋を形成する。

真珠袋形成期間中に移植片の外縁部に形成された上皮性細胞シート，繊維芽細胞様細胞が形成する網目様の細胞シートおよび顆粒遊走細胞のあるものにおいて分裂増殖が起こっていることは，2mm 角に切った真珠袋を直径5～6mm の核とともに宿主の組織内に移植すると，挿入核の全面を包む真珠袋がふたたび形成されること，カバーグラス法による生体観察において上皮性と思われる細胞の細胞質が2分裂する像が観察されていることにより実証され，一方，酢酸オルセイン，ヘマトキシリン染色等による押しつぶし染色標本によってこれら細胞の核を観察した結果では，染色糸，染色体の形成された核は認めがたく，核膜の消失した核も発見されていない等，有糸核分裂を積極的に支持できる染色像が観察されがたいのに反して，二つに引きちぎれるように伸びた核や2核の細胞の認められるなどの点から，これらの細胞においては細胞の増殖が起こっており，その前提となる核分裂に際しては無糸核分裂が起こっているのではないかということが推定できよう。

Ⅶ 考　　察

Gattenby and Hill (1934) は *Helix aspersa* の外套膜の組織培養を行ない，植片から遊出する細胞に 1) mantle epithelial cell, 2) amoebocyte, 3) pulmonary cavity epithelium および 4) 性質不明の顆粒をもったある種の細胞のあること，そしてこのうち植片の周縁部において網目様の細胞遊出帯を構成している amoebocyte は結合組織細胞であると結論した。血球については Takatsuki (1934) は *Ostrea edulis* の amoebocyte は 1) granular leucocyte と 2) lymphocyte があることとそれぞれの血球の性質について詳細に報じた。またアコヤガイについては川本・中西 (1957) は主として塗抹染色標本によって，血球を 1) 無顆粒白血球，2) 顆粒白血球，3) 色素顆粒白血球および 4) 特殊白血球の4種類に分け，それぞれをさらに細分した。著者が今回行なったカバーグラス法ならびに組織培養による観察結果においても，移植片から遊出する遊走細胞に Takatsuki (1934)，川本・中西 (1957) らによって観察されたと同様，顆粒遊走細胞および無顆粒遊走細胞が認められ，これが川本らによって観察されたアコヤガイの心臓よりとった血液中に存在する血球と同種のものであることを確かめた。しかし川本らの報じた色素顆粒白血球，特殊白血球等と他種の遊走細胞とを厚い標本のもとで生細胞について判別することはすこぶる困難であった。今回行なった位相差による生体観察および染色標本と対比してみ

ると，Gattenby et al. の報告した amoebocyte は lymphocyte (Takatsuki, 1934) 無顆粒遊走細胞であり，他の不明の細胞は顆粒遊走細胞 granular leucocyte に相当するものと思われる。また植片縁に形成される網目様の細胞シートについて，Gattenby et al. は Man-methyl blue-eosin 染色によると，網目を構成している amoebocyte は正常の外套膜の結合組織細胞とまったく同一の染色態度を示すことより，この網目を構成する amoebocyte は結合組織細胞にほかならないことを述べ，また Perkins and Menzel (1964) は Crab, *Callinectes sapidus* Rathbun の血液を固型培地とし，Cameron の塩類液にカキの血液，生殖腺抽出物，閉殻筋抽出物等を加えた液体培地を用いて，*Crassostrea virginica* の外套膜を培養した結果について報告し，amoebocyte は5時間後に網目様の細胞シートを形成し，48時間後にはこれが植片の周囲 40～60mm² にわたり形成されるのを観察し，一方染色標本における染色態度よりして，この網目様の細胞シートを構成している amoebocyte は外套膜の結合組織と同じものであろうということを Gattenby et al. と同様に結論している。著者が今回行なった外套膜の組織培養ならびにカバーグラス法による観察結果においても，無顆粒遊走細胞は仮足を伸ばして互いに隣接する細胞同志と結びつき，血漿膜またはガラス面にくい入るように密着して繊維芽細胞様細胞 fibroblast like cell (mechanocyte, Wilmer, 1960) の形態をとるのが観察され，また組織標本においては移植された外套膜片と宿主組織間には最初無顆粒遊走細胞が多くみられるが，移植後日数が経過すると，網目様に集まった細胞によって両者の間が癒合していること，および位相差検鏡によって網目様シートを形成している細胞の細胞質内に糸状および桿状のものと，細かく往復運動する粒状のミトコンドリアが認められることなどの諸点から判断して，移植片縁および移植片と宿主組織間に形成される網目様細胞シートを構成する細胞は繊維芽細胞 fibroblast であり，血液中に存在する無顆粒遊走細胞のある種のものの変形したものであることを Gattenby and Hill (1934) および Perkins and Menzel (1964) と同様に確かめることができた。

アコヤガイの真珠袋形成時における上皮細胞の行動，形成された真珠袋上皮細胞の染色態度，形態等については，Kawakami (1952, '53)，青木(1956, '61)，中原・町井(1957)，Tsujii (1960)，藤岡・立石 (1960, '61) らの観察結果と非常に似た像が観察され，イケチョウガイにおいても Ojima and Watanabe (1953) および Kawakami (1954) の結果とほぼ一致し，外套膜片移植手術後，5日ないし10日で真珠袋が形成された。上皮組織の培養においては上皮細胞は原片から押し出されるようにひろがる（新島，1966）が，アコヤガイの組織培養ならびにカバーグラス法による外套膜片の観察結果においても，外套膜片縁辺部において円い上皮性細胞がシート状に集まって遊出するのがみられた。しかし移植片上あるいは細胞が厚く重なり合った場所では和田 (1961) が報じたように顆粒をもった円い細胞が認められた。またこれより暗く観察される円い細胞が認められたが，これらの細胞においては核内の状態および細胞質顆粒の性状等を十分観察することができなかったため，これらが上皮性のものであるという確証はまだ完全には得られていない。また移植外套膜片の外側上皮細胞と内側上皮細胞ならびに粘液細胞等を生細胞について区別することも今回は十分検討されなかったので，この点については今後究明されなければならな

いと考える。

真珠層を生成しつつある真珠袋の一片を第二次移植した場合，ふたたび真珠袋が形成された（町井，1959)。第二次移植によって形成された真珠袋では上皮細胞はへん平なもの，円柱状のものなどさまざまの形態のものがみられ，細胞の大きさおよび排列状態，生成される真珠の成分に真珠層，稜柱層，有機質の3成分のあることなどの諸点については第一次移植によって得られる真珠袋（中原・町井，1956）とまったく差異のないことが確かめられた。第二次移植の場合，移植片の真珠袋上皮細胞が増殖しないとすれば，形成される真珠袋上皮細胞は細胞数が足りないため，非常に強くへん平化して真珠袋を再生するかあるいは挿入核があった場合これを全部包むことができない等のことが起こり得るが，実際には真珠袋の第二次移植によって形成される真珠袋における細胞の排列状態ならびに形態などは通常の真珠袋のそれとまったく差異がみられず，しかも挿入核の全面をおおっていることから，移植された真珠袋の上皮細胞は分裂増殖することがたしかめられている。また著者はカバーグラス法による移植後3日の材料で，上皮性または顆粒遊走細胞と思われる円い細胞の細胞質が2分するのを観察している。このような事実によって，Ojima et al. がイケチョウガイで，藤岡・他らがアコヤガイの真珠袋形成において少し触れているように，真珠袋形成に際して移植片の上皮細胞ならびに結合組織細胞は増殖しているということを一歩進めて実証することができた。Perkins and Menzel (1964) はしかし，*Crassostrea virginica* の外套膜を組織培養した結果，植片の周囲に形成された網目様の細胞シートを構成している amoebocyte において，有糸核分裂の存在が認められなかったことから，網目を構成している細胞はすべて植片からの移住によるものであるとしている。これに反して Kenny (1964) はカゼイン構成アミノ酸にグルタミン，アスパラギン，水溶性ビタミンならびに核酸前駆物質を添加した培地を用いると，カキ心臓の懸滴培養およびフラスコ培養において非常に多数の細胞の増加を見たことより，この培養において細胞の移住と増殖の起こることを報告している。また前述のカバーグラス法においてみられた細胞質分裂および真珠袋の第二次移植の結果をもあわせて考えると，組織培養ならびに真珠袋形成過程において細胞が増殖していると考えるのが妥当であろう。最近，Li and Stewart (1966) は Perkins et al. (1964) についで，medium 199 を基本とし，これに塩類液，ヒト血清およびウシ胚抽出物等を添加した培地を使って *C. virginica* の心臓の組織培養を行ない，植片より遊出した細胞の中に，著者が今回観察したものと非常に類似した引きちぎれるように伸びた核やくびれを生じた核を発見し，植片より遊出する細胞において無糸核分裂の起こっていることを主張した。貝類の培養細胞において無糸核分裂のみられることについては，古くは Gattenby and Hill (1934) が *Helix aspersa* の外套膜の組織培養の結果，植片の外縁部に遊出する繊維芽細胞で報告している。しかしこれに反して，Frandre and Vago (1963) は *Helix aspersa* の心臓と外套膜の培養において，繊維芽細胞，繊毛上皮細胞および large spherical heart cell 等で有糸核分裂の起こることを報告しており，また Necco and Martin (1963) は海産軟体動物 *Octopus vulgaris* の眼窩 white body の培養細胞で有糸核分裂を観察している。このように，貝類，軟体動物の体細胞の増殖方式については相反する見解が述べられたいくつかの研究報告があるが，今回

著者がアコヤガイの外套膜の組織培養およびカバーグラス法によって観察した結果では，繊維芽細胞および上皮細胞等で有糸核分裂が起こるという Frandre et al. (1963) らの結果に反して，有糸核分裂の前期および中期等を支持できる染色像—染色糸，染色体の形成—は観察されがたく，また核膜の消失した核も観察されていない。しかも核分裂末期を思わせるくびれが糸状に伸びた核や2核の細胞が認められ，また2分直後と思われる正常のものよりやや小さい娘核も少数ながらみられるなどの点から考察すると，これらの細胞では無糸核分裂の起こっていることが推定できよう。

以上のことがらより，真珠袋形成過程において，移植された外套膜片の外側上皮細胞は増殖して挿入核面および宿主の組織の傷面に移住し，これをおおう真珠袋を形成する。また，無顆粒遊走細胞のある種のものの変形と思われる網目様に結びついた繊維芽細胞ならびに顆粒遊走細胞においても増殖が起こっていることが明らかとなった。細胞の増殖はまず核に無糸核分裂が起こるのではないかということが推定され，ついで細胞質が分裂するのではないかと思われる。

しかしながら Gattenby et al. (1934), Li et al. (1966) においては無糸核分裂を主張しているが，核の染色像についてはまったく触れておらず，今回の著者の観察においても核分裂を直接観察したものではなく，有糸核分裂を支持できる像のみられないこと，分裂末期を思わせるように伸びた形の核がみられること，および外套膜小片ならびに真珠袋小片の移植によって真珠袋が形成される事実等より細胞の増殖と無糸核分裂を推定したのであるが，この推論をさらに確実なものにするためには，同一細胞（生細胞）について染色体が形成されないで核が2分し，細胞が増える像を観察することが必要であると考える。

Burch and Cuadros (1965) は2種類の Snail, *Helix pomatia* と *Planorbina glabratus* で60日，*Pomatiopsis lapidaria* で45日間，足の筋肉の培養を続け，snail 用培地の組成について報告した。また Perkins et al. (1964) は Crab 血漿を固型培地とし，液体培地には生殖腺抽出物，閉殻筋エキス，血液ならびに Cameron の squid•clam 用塩類液を使いカキ *Crassostrea virginica* の外套膜を42日間培養し，Li et al. (1966) は medium 199, ウシ胚抽出物，ヒト血清等を添加した培地を用い，Perkins et al. と同じ *C. virginica* の心臓を60日以上培養しつづけた。著者は Perkins et al. の使用した血液，閉殻筋エキス，Li et al. の使用したウシ胚抽出物に近い効果をもつと思われる幼牛血抽出物を添加した液体培地とプラズマクロットを固型培地として45日間アコヤガイ外套膜を組織培養した。しかし1, 2回植えつぎを行なった後は細胞の遊出数が減り，また培養期間中，真珠成分の沈着が認められていないなどの点から，Frandre et al. (1963) がカタツムリ *Helix aspersa* の外套膜および心臓で継代培養を行ない，Kenny (1964) がカキ *Crassostrea virginica* の心臓の組織培養において報じたほどには培養が良好に行なわれていないことが考えられるので，培地ならびに培養方法について今後さらに改良しなければならない点が多いと考える。

Ⅷ 要　　約

外套膜片移植手術（挿核手術）後，移植片の外側（殻側）上皮細胞が増殖遊出して挿入

核面あるいは手術によって生じた宿主組織の傷面をおおう真珠袋を形成する過程をつぎの手段により追究した。

1. 生殖腺中に挿核手術したものならびに外套膜組織中に移植した外套膜片（イケチョウガイ）における真珠袋形成の組織切片による断面からの観察。
2. カバーグラス法——2枚のカバーグラスの間に移植片をはさんで宿主組織（閉殻筋）中に挿入し，一定期間経過後これを取り出して観察する方法——による生体観察ならびに固定染色標本による上面からの観察。
3. 真珠袋の第二次移植。
4. 外套膜の組織培養。

以上の方法により真珠袋形成過程を総合的に検討した結果つぎの結論を得た。すなわち，真珠袋を形成するのは外套膜の外側上皮細胞で，移植後移植片の外側上皮細胞は増殖してシート状に集まり移植片から遊出し，宿主の組織の傷面または傷面に現われた遊走細胞を足場にして核面を包むごとく真珠袋を形成する。そしてこの間において顆粒遊走細胞および無顆粒遊走細胞も増殖し，後者は真珠袋上皮細胞下と宿主組織の間あるいは移植片と宿主組織との間において網目様に結びついて両者の癒合にあずかる。細胞の増殖は無糸核分裂によるのではないかということが推定された。真珠成分には有機質，稜柱層，真珠層の3成分がみられたが，これらを生成しているときの真珠袋上皮細胞の形態と染色態度にはそれぞれつぎのような特徴がみられる。

真珠層を生成している真珠袋では上皮細胞は一般にへん平で，ヘマトキシリン-エオジン染色ではヘマトキシリンにうすく染まり，細胞質顆粒は稜柱層および有機質を生成しているものに比べて非常に少ない。

稜柱層を生成している真珠袋の上皮細胞はへん平なものから柱状のものがみられ，ヘマトキシリン-エオジン染色では真珠層を生成している真珠袋上皮細胞と同じくヘマトキシリンに染まっているが，細胞質中にはエオジン好性の小さい顆粒が真珠層を生成している上皮細胞におけるよりも多く分布している。また上皮細胞間には，ヘマトキシリンによって塊状ないしは網目状に染まる内容物を含んだ粘液細胞が分布しているが，このような諸成分が分泌されて稜柱基質を形成する成分にくみ入れられることが推定される。

有機質を生成しているときの上皮細胞は円柱状のものが普通であるが，10μくらいのあまり厚くないものからも有機質が生成されていることがある。上皮細胞中には顆粒成分が非常に多く，またエオジンに染まる大きな蛋白顆粒と思われる顆粒が充満した腺細胞が上皮細胞間の各所に多数みられることがあり，これらの成分も分泌されて有機質の成分になるのではないかと推定される。

IX Summary

In the last fifteen years, we have had Kawakami (1952, '53, '54), Ojima and Watanabe (1953), Aoki (1956), Machii and Nakahara (1957), Nakahara and Machii (1957), Tsujii (1960), Fujioka and Tateishi (1960, '61) reporting on the results of their

histological studies of the pearl-sac formation in Japanese pearl oysters. In those studies, the behaviour, property and function of the epithelial cells of the explant as well as the period required for the performance of pearl-sac epithelium were discussed in detail. As regards the cell multiplication in the explant, however, only the proliferation of the epithelial cell and connective tissue cell are briefly mentioned by Ojima et al., and none of them have refered to the figure of the nuclear division. It is still remains unknown whether the cell proliferation may occur in the course of the pearl-sac formation, or simply the inserted nucleus is enclosed in by the migration of the outer epithelial cells of the explant.

In the researches of the non-aseptic tissue culture of the molluscan mantle, Gattenby and Hill (1934) emphatically stated that the amitosis was observed existing in the amoebocytes forming a net work on the outgrowth of the explant. Frandre and Vago (1963) also reported that a number of ciliated epithelial cells of the mantle as well as lots of large spherical cells and fibroblasts, were obtained in the numerous sub-cultures accompanied by the continuous mitosis, through the plasma clot method. A couple years ago, Kenny (1964) reported on the chemically defined medium for the heart cell of the American oyster, *Crassostrea virginica*, and as to the nuclear division, he did support mitosis. On the contrary, Li et al. (1966) pointed out the presence of amitosis which can be recognized in the proliferation of the in-vitro cultured oyster heart cells. Perkins and Menzel (1964) reported that all the cells forming a reticulated monolayer cell sheet in the outgrowth of the explant should have their origin in the explant, because they could not gather any evidence of mitosis in their tissue culture of the mantle of the oyster, *Crassostrea virginica*. From the results of these researches, we can get at least two different opinions as to the cell proliferation, one upholding mitosis and the other amitosis.

On the foundation of the former histological viewpoints and through the organic combination research of the results of the recent observations in living cells, the squash staining preparation obtained by the coverslip method (Wada 1961, '62) and the later results of the tissue culture of the mantle tissue, the author made more basic researches on the pearl-sac formation.

The present study is therefore, to report on the process of the pearl-sac formation in the common pearl oyster, *Pinctada fucata* (Gould) and Schlegel's fresh water mussel, *Hyriopsis (Limnoscapha) schlegelii* (v. Martens), and especially to detail the particulars of the proliferation, arrangement and property of the cells derived from the grafted mantle tissue as the particulars of the morphology, behaviour and property of the wandering cells appearing on the operated cavity of the host's tissue or explant, during the early period of pearl-sac formation. The methods and techniques for the investigations are as follows.

1) Histological observations on the cross section of the grafted mantle tissue which is inserted into the gonad tissue with paraffin nucleus by the technique usually adopted in the pearl culture in the *P. fucata* and the observation of the mantle tissue transplanted into the connective tissue of the mantle of the Schlegel's fresh water mussel, *H. schlegelii*.

After the operation for the transplantation of the small piece of mantle (nuclear insertion operation), specimens were collected every other day for the first 10 days, and after that every 3 to 5 days. Preparations were made by the commonest histological method. Specimens were embedded in paraffin and sectioned into 5 to 7 microns in thickness after being fixed in buffered 10% formalin (buffered at pH 7.0 by Na_2HPO_4, KH_2PO_4), acetic Zenker's and Ciaccio's fluid. And then followed the staining, Ehrlich's haematoxylin-eosin, Heidenhein's azan and Heidenhein's iron-haematoxylin staining, with those specimens. The fixatives, dates of fixation and staining methods carried out with these specimens are shown in Table 1.

2) The in-vivo culture of mantle tissue and normal pearl-sac.

This is a coverslip method which is most suitable for the phase contrast microscopy, and for the observation of the cell proliferation and of the extent of cell migration by the squash staining preparation. In this method, a small piece of mantle or pearl-sac tissue, 1 to 2mm square in size, was interposed between two coverslips which had been cut in 5 to 8mm in size, and then inserted into the wound of the adductor muscle which had been cut open with a surgical knife. After that, the specimens were taken off from the adductor muscle every day or every other day for 20 days after the transplantation. Phase contrast microscopy (DM) was mainly attempted with the fresh preparation, while ordinary and polarizing microscopy were also made whenever necessary. Many of the coverslips taken off from the adductor muscle were treated with Ehrlich's haematoxylin-eosin, Rugaud's haematoxylin and Heidenhein's iron-haematoxylin staining. The Feulgen's reaction and the squash staining with 40% acetic orcein were also tested with some specimens. Buffered 10% formalin, 90% ethanol, Carnoy's fluid (3 : 1), acetic Zenker's and Rugaud's fluid were used as fixatives. The pre-fixation in 30% ethanol from one hour to night long which had been made prior to the above fixation resulted in a successful figure of the pseudopodia in fresh amoebocytes. Of these staining methods the acetic orcein squash preparation brought about the most distinct figure of the nuclear division.

3) The secondary transplantation of the pearl-sac tissue, in which the proliferation of the epithelial cells of the pearl-sac tissue were experimentally confirmed.

The normal pearl-sac tissue consisting of a squamous epithelial cells which form a pearl layer, was used as explant. The explant 2 to 2.5mm square in size was inserted into the gonad of the mother oyster with paraffin nucleus 5 to 6mm in diame-

ter. The specimens were treated by the common histological method which was mentioned above in 1). At the same time, the coverslip method was also adopted in this examination, in which the phase contrast microscopy was carried out with fresh coverslip which had been pulled out from the adductor muscle.

4) The in-vitro culture of the mantle tissue.

In order to make clear the cell migration and arrangement in the early period of the pearl-sac formation, mantle tissue cut in 1 to 2mm square were cultured by the plasma clot method in which the chick embryo extracts were employed. In this method, Cameron's balanced salt solution for seawater squids and clams, which had been supplemented by the blood of pearl oyster, adductor muscle extracts and extracts from calf blood (Solcoseryl) was also used as liquid medium. Penicillin G and streptomycin were added as bacteriostatic agent (Table 2). The culture was carried out in TD-flask or modified Leighton tube at the room temperature, 18°C to 28°C. The phase contrast microscopy (DM) was used chiefly, and polarizing microscopy additionally.

The whole aspect of the process of the pearl-sac formation, the cell migration, organization and proliferation have been made more clear through the above examinations. Here the relation of the shape and secretive property of the performed pearl-sac epithelium was concurrently discussed. Thus the present initial research in the tissue culture of the pearl oyster is expected to become a stepping-stone to the further advance in the research for the pearl formation. A number of wandering cells began to emerge from the explant and host's tissue after the nuclear insertion (Fig. 24). On the periphery of the explant, wandering cells which emerged from the explant and those from the host's tissue were in a mixed confusion. Two types of wandering cells, that is, granulocyte (granular leucocyte) and agranulocyte (lymphocyte, hyaline leucocyte reported by Takatsuki, 1934) were seen in the wandering cells which appear on the wound or the outgrowth of the explant.

Granulocyte: This cell is active in movement, and is capable of expanding and contracting the pseudopodia in the host's tissue or in the culture medium. The spherical ones are 5 to 22 microns in diameter under the fresh condition. The cytoplasma contains bright spherical granules, 0.5 to 2 microns in diameter. The roundish nucleus has ten odd chromatin particles, and usually is maldistributed in one side of the cell, but nucleolus is invisible. The cytoplasma shows basophilic in nature in haematoxylin-eosin staining, and at times, some of the granulocytes contain a few eosinophile granules. In some cases, a number of wandering cells gather on the space formed between the surface of inserted nucleus and host's tissue. They are often found in the histological preparation of pearl and pearl-sac tissue to prove one of the causes which produce abnormal pearls.

Agranulocyte: This is capable of amoeboid movement by the membranous pseudopodia, and shows a marked variation in shape. But the movement is not so prompt as granulocytes. A majority of these cells stretch the pseudopodia outwards in several directions (Figs. 25, 26, 48, 50, 51). Most of them are combined to each other with their complex pseudopodia, and these reticulated cell sheets, recognized as connective tissue by Gattenby and Hill (1934), Perkins and Menzel (1964), connect the newly formed pearl-sac epithelium to the underlying host's tissue or the wound which caused by operation, within 3 to some dozen days after the operation. The typical fibroblast-like cells with a most typically extended pseudopodia are distinctly seen in the in-vivo and in-vitro cultured cells, which, either attached to the coverslip or cutting into the plasma clot form a monolayer network. Cytoplasma is not so abundant as in granulocytes, but in the in-vitro cultured cells, many rough rod shaped twisted-thread-like or granular mitochondria are distinctly seen. The ovoid disc nucleus, relatively small in size, usually has ten odd chromatin granules under the phase contrast microscopy (DM). No active movement is observable in these reticulated fibroblast-like cells (Figs. 67, 68).

Towards that period, a small number of ovoid or pear-like shaped outer epithelial cells also begin to emerge from the definite cut edge of the explant. Some of them, with spear-shaped cytoplasmic process, migrate in the space between the surface of the inserted nucleus and the host's tissue in their infirm wandering activities (Fig. 4). The cell sheet, which grew out of the definite cut edge of the explant, begins to extend outwards to enclose the surface of the inserted nucleus within one or two days after the operation (Fig. 6). In summer, when the water temperature 28°C to 30°C, it takes only 3 days for it to form the pearl-sac epithelium, but at lower water temperature, it requires longer time; for example, in April, 17 days, in September, 7 days. In these newly formed pearl-sac epithelia, marked variations in size and shape are observed with the portions. The epithelium formed on the portion where the explant once was, is usually columnar and has a property of forming an organic matter.

The inner epithelial cells of the explant begin to degenerate several days after the operation, and most of them disappear in the course of the pearl-sac formation. It is interesting, however, that the explant, when the outer epithelium is experimentally cut off, sometimes forms a ciliated columnar epithelium which is derived from inner epithelium of the mantle (Figs. 12, 13, 14). But even in such cases, the epithelium is supposed to degenerate before long, which is easily surmised from the fact that in 35 day preparations only the wandering cells are surrounding the inserted nucleus (Fig. 15). As no pearl substances are found secreted from this epithelium, it is unquestionable that inner epithelium of the mantle has no functional ability to form a pearl-sac.

The results of the secondary transplantation of the pearl-sac tissue forming a

normal pearl layer, made it evident that the regenerated pearl-sac (secondary pearl-sac), as was seen in the pearl-sac epithelia derived from the primary transplantation of the mantle tissue, can be classified into three different categories according to their shape and secretive product. No difference can be recognized between the functions of these two pearl-sac epithelia. At the same time, however, the significant fact was experimentally proved that cell proliferation occur throughout the course of the pearl-sac formation. If the cell proliferation does not occur in the course of the pearl-sac formation, the epithelial cells in the regenerated pearl-sac must be either distinctly flat in shape, or in some cases, unable to cover all the surface of the inserted nucleus. However, on the newly formed secondary pearl-sac epithelium, as mentioned above, the epithelia which contain three different types of cells and cover all the surface of inserted nucleus are formed. In the present experiment, the same histological method as taken in 1) and the coverslip method mentioned in 2) were simultaneously employed together. In the 5 day preparation, the earliest specimens had already completed the secondary pearl-sac, and in 8 day preparation, a little prism had already been observed. The histological change was the same in the secondary transplantation as in the primary transplantation (Figs. 22, 23).

Also, in the coverslip method in which a normal tissue of the pearl-sac was used as explant, numerous wandering cells appeared on the edge of the coverslip and in the surroundings of the explant, as did in case of the primary transplantation. From the surface of the pearl-sac epithelium, most of the squamous epithelial cells take polygonal in shape, each side extending to 5 to 25 microns in length. The outer edge of each cell is bordered with the relatively darkened narrow line. The cell nucleus shows variations, from 2 to 10 microns in diameter; larger ones extending more than 10 microns. Beneath the epithelial sheet, muscle fibres were observed fairly distinctly underlying in a striped pattern (Figs. 46, 47). In the surroundings of the definite cut edge of such an explant, round or ovoid epitheloid cells emerge from a monolayer cell sheet of pearl-sac epithelium. In the outgrowth of 4 day preparation, loosely arranged epitheloid cells were recognized (Figs. 48, 49). It was safely concluded, therefore, that in early October, the monolayer of the epitheloid cells has already performed a secondary pearl-sac which encloses the whole surface of the inserted nucleus or the whole two coverslips, within 10 days or so after the operation.

The two day preparation in the coverslip method in which a mantle tissue was used, showed a significant figure of the cell proliferation in which the division of the supposed cytoplasma as either granulocyte or the epitheloid cell were observed in the fresh materials under the phase contrast microscopy (Fig. 35). In the 7 day preparations, it seemed that the coverslips were enclosed in with rough epithelial sheet, and some of them had already started to secrete an organic matter onto the coverslips

(Fig. 41). During 11 days to 25 days after, a remarkable deposition of prism (spherulite of $CaCO_3$) was observed continuously (Figs. 42-44). One or two months after the operation, the whole surface of the diplo-coverslips have got covered with pearl layer. It is safely concluded, therefore, that the outer epithelial cells of explant should have migrated onto the outside of the diplo-coverslips, according to their migratory activities (Text Fig. 1). As for the chromatic figure, ten odd chromatin granules were seen scattering about in the nucleus, and no other evidences for mitosis than the coarctate nucleus which reminds us of one type of the telophase (Figs. 52, 53, 56, 57). The nucleus in every epithelial cell, fibroblast like cell and granulocyte have nuclear membrane, and chromatin particles are clearly stained with 40% acetic orcein in squash preparation or haematoxylin staining.

From the above observations on cytokinesis and nuclear division through the coverslip method and from the observation of the secondary transplantations of mantle tissue may possibly be obtained the following conclusions that after the transplantation of mantle tissue or pearl-sac, cell proliferation occurs in some epithelial cells and connective tissue cells of the explant and also in some wandering cells throughout the course of pearl-sac formation, and that amitosis might occur in these cells.

The epithelia of pearl-sac may be classified into three categories in accordance with their own secretive properties, whether secreting an organic matter, forming a prismatic layer or forming a pearl layer.

The squamous epithelium which forms a pearl layer is 2 to 10 microns in thickness, and has a basophilic nature, containing a few slender cytoplasmic granules. The nucleus is ovoid to ovoid disc in shape and contains one or two nucleoli and ten odd chromatin granules. Usually, the epithelial cells form relatively dense cytoplasmic layer on the free surface. Mucous cells are sometimes seen scattering here and there between the epithelial cells (Figs. 17, 18).

In the decalcified preparations of the prismatic layer and of the epithelium which forms it, there is a thick eosinophile inter prismatic matrix vertically arranged to the epithelial layer, and in the matrix there is a fine haematophile inter lamellar matrix running at right angles. In contrast with the epithelia which forms a pearl layer, those of the prismatic layer are varied in shape and size, measured 5 to 30 microns in thickness, and some of them fill their cytoplasma with a great number of fine eosinophile granules which may be considered to turn into one of the elements of the prismatic layer. Nucleus is ovoid, or flat-ovoid relatively small, existing in the middle of the cell or between the middle of the cell and the basement membrane. Mucous cells are scattered between the columnar epithelial cells. They are basophilic in nature, dyeing violet slightly with haematoxylin-eosin staining (Fig. 19). The results

of histological staining in the prismatic layer and it's epithelium may indicate that both the eosinophile granules contained in the epithelial cells and the haematophile substances which fills the cytoplasma of mucous cell may change into one of the elements of the prismatic substance.

In comparison with the epithelial cell forming a pearl layer or a prismatic layer, the organic ones contain far more eosinophile granules which are considered to be proteinoid secretive granules in their cytoplasma. They are 10 to 50 microns in thickness. They sometimes take a form of the so-called pseudostratified ciliated or non-ciliated columnar epithelium, but most of them are ordinary simple columnar epithelia (Figs. 20, 21). Between columnar epithelial cells, mucous cells or unicellular glandular cells which are filled with large eosinophile granules are scattered. The free surface of the epithelial cells is usually rough in nature, and in some cells it is brushbordered or ciliated. But a few cells which are secreting a thread-like organic matter form a variated cytoplasmic process which may suggest the highly activated secretive function of these cells. According to the histological staining reaction, the organic pearl substance may be divided into the following three categories:

1) periostracum-like matter staining with eosin
2) organic matter staining red slightly with eosin and redish with azan staining
3) fibrous organic matter staining blue with azan staining.

Doubtless all of them are secretive products from columnar epithelia, but still unknown is the cell or the epithelium which would secrete each of them. From the results of the observations in shape and staining reaction, it may safely be concluded that in comparison with the epithelium which is forming a prismatic or a pearl layer, the columnar one may actively support the formation of an organic matter in the secretion of protein.

A few results from the tissue culture of mantle tissue are as follows: In the 4 hour preparation, roundish granulocyte, fibroblast like cell and epitheloid cell begin to emerge from the definite cut edge of the explant, extremely increasing in number for 1 to 2 days after that. In many of the 2 day cultures, round or roundish epitheloid cell sheets are formed on the outside of the explant, as if surrounding it. They are recognized to be a mass of dark round cells, and between the epitheloid cells, roundish cells which appear to be granulocyte with a somewhat irregular cytoplasma, are scattered (Fig. 59). In the 4 and over 4 day preparations, epitheloid cell sheets are extending further outwards, and in the periphery of this cell sheet, reticulated monolayer cell sheet which forms itself on the solid substrate or on the surface of coverslip is spreading out. Spindle and elongate shaped muscle cells which may be considered to be in the most typical shape in these cells also begin to appear on the edge of the explant. They are seen scattering singly or in bundle, half floating in liquid medium.

In the phase contrast and ordinary microscopy, the internal structure could not be observed satisfactorily. It was clearly observed, however, that it had a dense bright muscle fibre along the perpendicular cell axis under the polarizing microscopy (Figs. 62-66). In the most cases, the culture could be kept on for more than 10 days. In some of the 10 to 20 day preparations, extremely flattened fibroblast-like cells were reticulated together by their distinctly stretching pseudopodia (Figs. 67, 68). The best ones were kept in culture for 45 days.

X 文　　献

青木　駿　1956. 真珠袋形成に関する研究 特に秋と初冬に作業を行った場合について。 国立真珠研報 1：41—46.

……　1961. 養殖真珠における挿核施術に関する研究 V. 挿入された核の周辺に間隙が生じた際の変化。国立真珠研報 6：647—656.

Burch, J. B., C. Cuadros 1965. A culture medium for snail cells and tissues. Nature 206：637—638.

Earle, W.R. 1954. Long term large scale tissue culture. (jn Preservation and transplantation of normal tissues. p. 44—59. Edited by Wolstenholme, G. E. W. and M. P. Cameron, London)

藤岡　城・立石新吉　1960. アコヤガイ真珠袋形成の組織学的観察 I 特に生殖巣熟度と真珠袋形成との関係について。長崎大学水産学部研究報告 10：87—99.

……　1961. 同　上　II 特に外套膜切片（ピース）の内側および外側表皮細胞に人為的傷害を与えた場合の真珠袋形成について。 同　上　11：141—151.

Frandre, O., C. Vago 1953. Culture de tissus de gasteropodes en coagulum plasmatique. Ann. Epiphyt. 14：161—172.

Gattenby, J. B., J. C. Hill 1934. Improved technique for non-aseptic tissue culture of *Helix aspersa*, with notes on molluscan cytology. Quart. J. Micr. Sci. 76：331—352.

林　一正　1938. 真珠形成に関する諸学説。 植物及動物 6：117—120.

勝田　甫　1955. 組織培養法 p. 31. 東京，納谷書店。

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.

……　1953. ibid. II. The effect of water temperature and freshness of transplant on pearl-sac formation. Annot. Zool. Japon. 26：217—223.

……　1954. ibid. III. Pearl-sac formation in fresh water mussels. Annot. Zool. Japon. 27：215—219.

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 3：202—206.

Kenny, M.T. 1954. The in vitro maintenance of oyster cardiac tissue in undefined and chemically defined media. Diss. Abstr. 26(6) 3762.

Li, M.F., J.E. Stewart 1955. In vitro cultivation of cells of the oyster, *Crassostrea virginica*. J. Fish. RES. BD. CANADA 23：595—599.

町井　昭・中原　晧　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　1959. 同　上　V. 真珠袋の移植。 同　上　5：411—417.

……　1962. 同　上　VIII. ピース（外とう膜片）の内面上皮による組織形成。 同　上　8：884—890.

松井佳一　1955. 真珠の事典. 東京，北隆館

中原　晧・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.

——————— 1957. 同 上 Ⅲ. 形成初期におけるピース並びにその周囲組織の変化。同 上 3：212—217.
Necco, A., R. Martin 1963. Behavior and estimation of the mitotic activity of the white body cells in *Octopus vulgaris*, cultured in vitro. Exptl. Cell Research 30：588—590.
新島迪夫 1964. 上皮組織と結合組織の培養，冷血動物組織の培養（中井準之助ほか編 組織培養—基礎と応用— 249—268.，566—574. 東京，朝倉書店）
Ojima, Y., T. Watanabe 1953. Studies on the pearl-sac in molluscs I. Pearl-sac formation in Schlegel's fresh water mussel, *Hyriopsis schlegelii*. 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.
Takatsuki, S. 1934. On the nature and functions of the amoebocytes of *Ostrea edulis*. Quart. J. Micr. Sci. 76：379—431.
丹下 孚 1965. 真珠養殖業小史（真珠養殖全書 507—547. 全国真珠養殖漁業協同組合連合会，東京）
Tsujii, T. 1960. Studies on the mechanism of shell-and pearl-formation in Mollusca. Journ. Fac. Fish. Pref. Univ. Mie 5：1—70.
Wada, K. 1951. Crystal growth of molluscan shells. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 7：703—828.
和田浩爾 1962. 真珠形成機構の生鉱物学的研究。国立真珠研報 8：948—1059.
Willmer, E.N. 1960. Cytology and evolution. 1—100, 116—131. (London)

図の説明

図 1.　外套膜片移植手術（挿核手術）直後の状態。左上に見えるのが移植片，中央の白い部分は挿入パラフィン核。アコヤガイ。1956年4月17日手術，同18日ホルマリン緩衝液（KH_2PO_4,Na_2HPO_4 で pH 7.0 に調整）固定，エールリッヒ・ヘマトキシリン-エオジン染色。×15

図 2.　外套膜片移植手術当日の状態。宿主の外套膜結合組織中に二つ折りにされた状態で挿入されている移植片がみえる。イケチョウガイ。1961年6月19日10%ホルマリン固定，ハイデンハイン-鉄ヘマトキシリン-ライトグリン染色。×15

図 3.　手術当日の移植片外側上皮，イケチョウガイ。上皮細胞はやや伸長している。1961年6月19日10%ホルマリン固定，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-ライトグリン染色。×400

図 4.　形態がかわり，基底膜から離れ遊出している移植片の外側上皮細胞，アコヤガイ。1956年4月17日手術，同22日ツェンカー液固定，ハイデンハイン・アザン染色。×500

図 5.　手術後7日の状態，アコヤガイ。移植片は挿入核面に沿って少し伸び断面はみかづき状を呈する。1956年8月1日手術，同8日，10%ホルマリン緩衝液固定，エールリッヒ・ヘマトキシリン-エオジン染色。×15

図 6.　移植後7日に移植片に続く部位に形成されたへん平上皮，アコヤガイ。1960年10月14日手術，同21日チアチオ液固定，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-オレンジ-G 染色。×1,000

図 7.　外套膜片移植後5日の状態，イケチョウガイ。移植片の外側上皮細胞に囲まれた腔内に遊走細胞の集団がみられ，移植片をとりまく宿主の結合組織中に多数の遊走細胞がみられる。まだ真珠袋ができ上がっていない。10%ホルマリン固定，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-ライトグリン染色。×15

図 8.　真珠袋が形成されたところ，イケチョウガイ。手術後10日，真珠袋上皮細胞によって囲まれた腔内（まん中にみえる白い細長い空白部）にわずかの有機質（左端に黒くみえる）と遊走細胞の集まりがみえる。10%ホルマリン固定，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-ライトグリン染色。×15

図 9.　形成されたばかりの真珠袋上皮，イケチョウガイ。上皮細胞は円柱状で，上皮には大きなひだがみられる。手術後10日。10%ホルマリン固定，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-ライトグリン染色。×400

図 10.　形成された真珠袋と真珠成分（真珠層），イケチョウガイ。手術後1か月。10%ホルマリン固定，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-エオジン染色。×15

図 11.　移植片に接する部位の宿主外套膜結合組織中にみられた遊走細胞，イケチョウガイ。エオジン，ライトグリン可染でアザン染色で赤く染まる大きな顆粒をもった細胞が多くみられる。手術後10日，ホルマリン固定，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-ライトグリン染色。×400

図 12～15.　外套膜内側上皮を移植した結果。いずれも1960年9月18日移植手術，チアチオ液固定，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-オレンジ-G 染色。×1,000。　12：移植後4日に形成されていた繊毛上皮。　13：移植後7日に形成されていた上皮組織，繊毛ははっきりしない。　14：移植後24日の状態。内側上皮細胞は遊走細胞シートにくい入るように介在するが退化しつつあると思われる。　15：移植後35日。挿入核面は遊走細胞によって囲まれており，内側上皮に由来する組織はみられない。

図 16.　外套膜片移植手術後1年たったイケチョウガイ真珠袋。真珠層が厚く沈着しており，真珠袋上皮細胞は強くへん平化し，移植片に由来する筋肉は退化している。1960年6月30日移植手術，1961年6月29日，10%ホルマリン固定，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-ライトグリン染色。×15

図 17～18.　真珠層を生成する真珠袋と脱灰された真珠層。上皮細胞はへん平で，上皮細胞間のところどころに腺細胞がみられる。　17：アコヤガイの真珠袋。1955年8月1日から，'56年2月1日まで養殖したアコヤガイの真珠をその真珠袋とともに10%ホルマリンで固定，5%トリクロル酢酸で脱灰後，パラフィン切片作成，エールリッヒ・ヘマトキシリン-エオジン染色をほどこした。×1,000　18：イケチョウガイの真珠袋。1961年5月30日，外套膜片移植手術，同6月30日10%

ホルマリン固定，5％トリクロル酢酸脱灰，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-ライトグリン染色。×1,000

図 19. 稜柱層を生成する真珠袋と脱灰された稜柱層，アコヤガイ。上皮細胞にまじって腺細胞が存在する。上皮細胞中，とくに核と遊離縁の間には好エオジンの微細な顆粒が充満している。腺細胞の内容物はヘマトキシリンでうすく紫色に塊状に染まってみえる。上皮細胞下に好エオジンのまるい大きな顆粒を含む細胞がみられる。1956年8月1日外套膜片移植手術同27日ツエンカー液固定，エールリッヒ・ヘマトキシリン-エオジン染色。×1,000

図 20. 有機質を生成していた非常に厚い円柱上皮。核と遊離縁の間にオレンジ-Gに染まる小さい顆粒が非常に多く，細胞遊離縁は粗で乱れている。1960年10月30日ツエンカー液固定，ハイデンハイン・鉄ヘマトキシリン-オレンジ-G染色。×750

図 21. 有機質を生成していた円柱上皮。上皮細胞間に，大きな好エオジン顆粒が充満している細胞が多数みられる。1957年3月19日10％ホルマリン緩衝液（KH_2PO_4, Na_2HPO_4 で pH 7.0 に調整）固定，5％トリクロル酢酸処理，エールリッヒ・ヘマトキシリン-エオジン染色。×1,000

図 22～23. アコヤガイ真珠袋の第二次移植によって形成された真珠袋。いずれも1958年9月8日移植手術，ツエンカー液固定，エールリッヒ・ヘマトキシリン-エオジン染色。　22：手術後5日に形成されていたへん平上皮。×750　23：手術後17日にみられた円柱状上皮とそれに続くへん平上皮。

図 24～45. カバーグラス法による外套膜移植片の生体観察（真珠袋形成の生体観察）。1958年6月29日より。

図 24： 移植後3時間にカバーグラス面上にみられた遊走細胞。DM 位相差　×250

図 25： 血液中に存在する無顆粒遊走細胞，細胞の中央付近に核があり，粒状の染色質が観察される。DM 位相差　×1,000

図 26： 舌状に仮足（偽足）を伸ばした無顆粒遊走細胞，下の方に輝いて見えるのは顆粒遊走細胞。

図 27： 顆粒遊走細胞，円いもの。左上の明るい部分は核，その右下ほぼ中央の明るい部分はゴルジ体，内部はよく見えない。DM 位相差　×1,000

図 28： 変形した顆粒遊走細胞，上の細胞の左上にうす黒くみえる核があり，その中に十数個の染色質がかすかに粒状に観察される。下の細胞の中央にみえる灰色の部分はゴルジ体，核は左下隅にみえる。顆粒遊走細胞のバックに左右にわかれて樹枝状にみえるのは無顆粒遊走細胞。DM 位相差　×1,000

図 29： 仮足を出して変形した顆粒遊走細胞。DM 位相差　×1,000

図 30： 移植後2日，移植片より遊出する細胞。DM 位相差　×250

図 31： 2日後，ガラス面上の細胞遊出帯の縁辺部にみられた細胞の集団。DM 位相差　×1,000

図 32： 3日後，ガラス片縁辺部で飛石状に集団をなした細胞。この細胞集団の縁辺部から長く伸びた無顆粒遊走細胞（繊維芽細胞様細胞）がでている。DM 位相差　×250

図 33： 3日後，移植片から外方に遊出する上皮性細胞。DM 位相差　×250

図 34： 移植片より放射状に上皮性細胞が遊出するところ，1日後。DM 位相差　×350

図 35： 3日後，ガラス面上にみられた上皮性または顆粒遊走細胞と思われる細胞の細胞質分裂。DM 位相差　×1,000

図 36： 外套膜外側上皮細胞，円いもの。DM 位相差　×1,000

図 37： 変形した外套膜外側上皮細胞。核は中央をはずれたところにあり，明るく観察される。核内には円い仁と粒状染色質がみられ，そして核に接してやや暗くゴルジ体が観察される。DM 位相差　×1,000

図 38： 4日後（8月）における移植片からの細胞の遊出。DM 位相差　×250

図 39： 上皮性細胞（暗いもの），顆粒遊走細胞（明るいもの）および無顆粒遊走細胞が入りまじって分布するところ。DM 位相差　×250

図 40： 上皮性細胞がガラス面をおおったところ。細胞の結合状態はゆるく，大小の細胞がみられる，7日後。DM 位相差　×1,000

図 41： 7日後，上皮性細胞シートより有機質（真珠の一成分）が生成されたところ，中央から少し右側に黒くぼんやりみえるのが有機質。DM 位相差　×250

図 42： 11日後，ガラス面上にみられた稜柱。×250

図 43： 11日後，ガラス面上にみられた稜柱。×250
図 44： 22日後にみられたカルサイト球晶。×450
図 45： 図44の偏光による観察。×450

図 46～49.　カバーグラス法による真珠袋移植片の生体観察（真珠袋の第二次移植）。 1958年9月8日移植手術。

図 46： 真珠袋上皮細胞の排列状態。角ばったへん平上皮細胞が敷石状に並んでいる。黒くみえるすじが隣接する細胞との境界で，細胞内に円い核があり，核内には染色質がみられる。×1,000
図 47： 真珠袋移植片より細胞の遊出する状態。移植片は筋肉が縞模様に観察され，移植片縁に円い上皮性細胞が存在するのがみられる。2日後。×80
図 48： 4日後，細胞遊出帯にみられた細胞。左下に変形した上皮性細胞，中央よりやや左上にほそ長く透明にみえる無顆粒遊走細胞，ほか各所に顆粒遊走細胞がみられる。DM 位相差　×1,000
図 49： まばらに集まった上皮性細胞。4日後。×1,000

図 50～57.　カバーグラス法によって得られた各種細胞の染色像。

図 50： ガラス面上に形成された網目状の細胞シート，3日後。酢酸オルセイン-ライトグリン染色。×100
図 51： 網目様の細胞シート拡大図。仮足を伸ばし，長い核をもっているのが繊維芽細胞様細胞（無顆粒遊走細胞），細胞の形が円くて小さく，円い核をもっている顆粒遊走細胞が網目のすき間の各所に分布する，移植後6日。酢酸オルセイン-ライトグリン染色。×400
図 52： 2分しつつあると思われる核。糸状に伸びた部分が娘核に入りこむところに粒状の構造がある。6日後。酢酸オルセイン-ライトグリン染色。×1,000
図 53： 引きちぎれるように伸びた核，2日後。酢酸オルセイン染色。×1,000
図 54： 繊維芽細胞様細胞における2核。ホルマリン固定，酢酸オルセイン-ライトグリン染色。×1,000
図 55： 顆粒遊走細胞における2核。酢酸オルセイン-ライトグリン染色。×1,000
図 56： 上皮性細胞における分裂中と思われる核。 ルゴー液固定，鉄ヘマトキシリン-ライトグリン染色。×1,000
図 57： 上皮性細胞におけるくびれた核。ルゴー液固定，ルゴーヘマトキシリン染色。×1,000

図 58～66.　外套膜の組織培養（1965年11月より）

図 58： 20時間培養。仮足を出した無顆粒遊走細胞，顆粒遊走細胞が全面にみられ，円くやや大きい上皮性細胞は植片縁および植片縁から少し離れたところに小数みられる。普通光×100
図 59： 培養2日。円くて大きい（20～25μ）上皮性細胞の数が増しており，顆粒遊走細胞ならびに白く透明にみえる変形した無顆粒遊走細胞（左上に多い）がみられる。×200
図 60： 培養4日，植片縁に形成された上皮性と思われる細胞シート。DM 位相差　×200
図 61： 培養6日の状態。DM 位相差　×100
図 62： 培養2日，筋肉細胞がまじってみられる細胞遊出帯。普通光，図63参照　×100
図 63： 図62の偏光像，輝いて見える長いのが筋肉細胞。×100
図 64： 培養8日，紡錘形をした筋肉細胞がさかんに遊出してきた培養。DM 位相差　×150
図 65： 培養11日における細胞遊出帯。上皮性細胞，筋肉細胞，顆粒遊走細胞などがまじって存在している。DM 位相差　×100
図 66： 筋肉細胞と顆粒遊走細胞，培養13日。DM 位相差×300
図 67： 培養21日，繊維芽細胞様細胞のシート。白く輝いて見えるのは顆粒遊走細胞。DM 位相差　×150
図 68： 網目様に集まった繊維芽細胞様細胞。粗な桿状やよじれた糸状のミトコンドリアがみられる。DM 位相差　×450

図 1 ～ 6

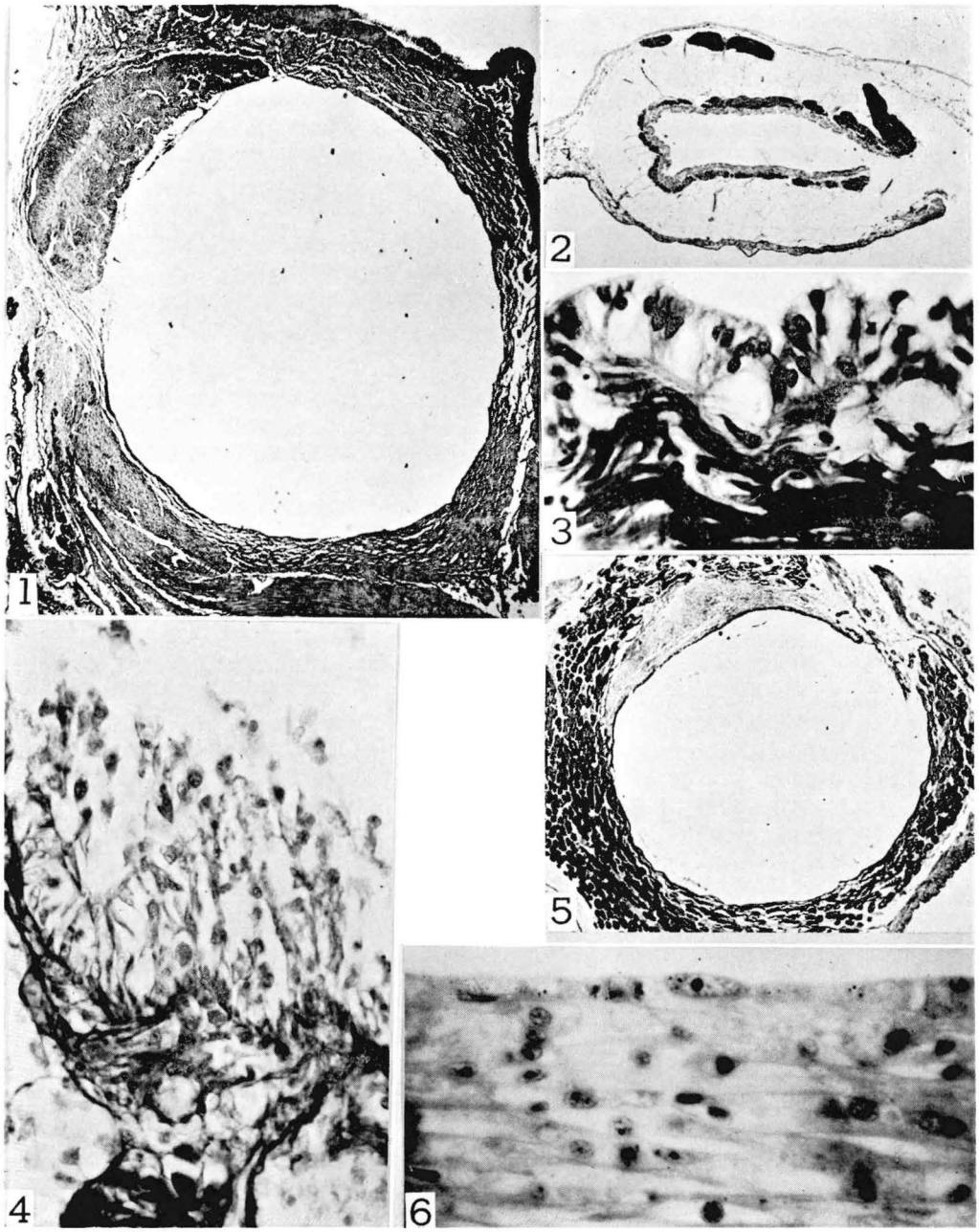


図 7 ～ 13

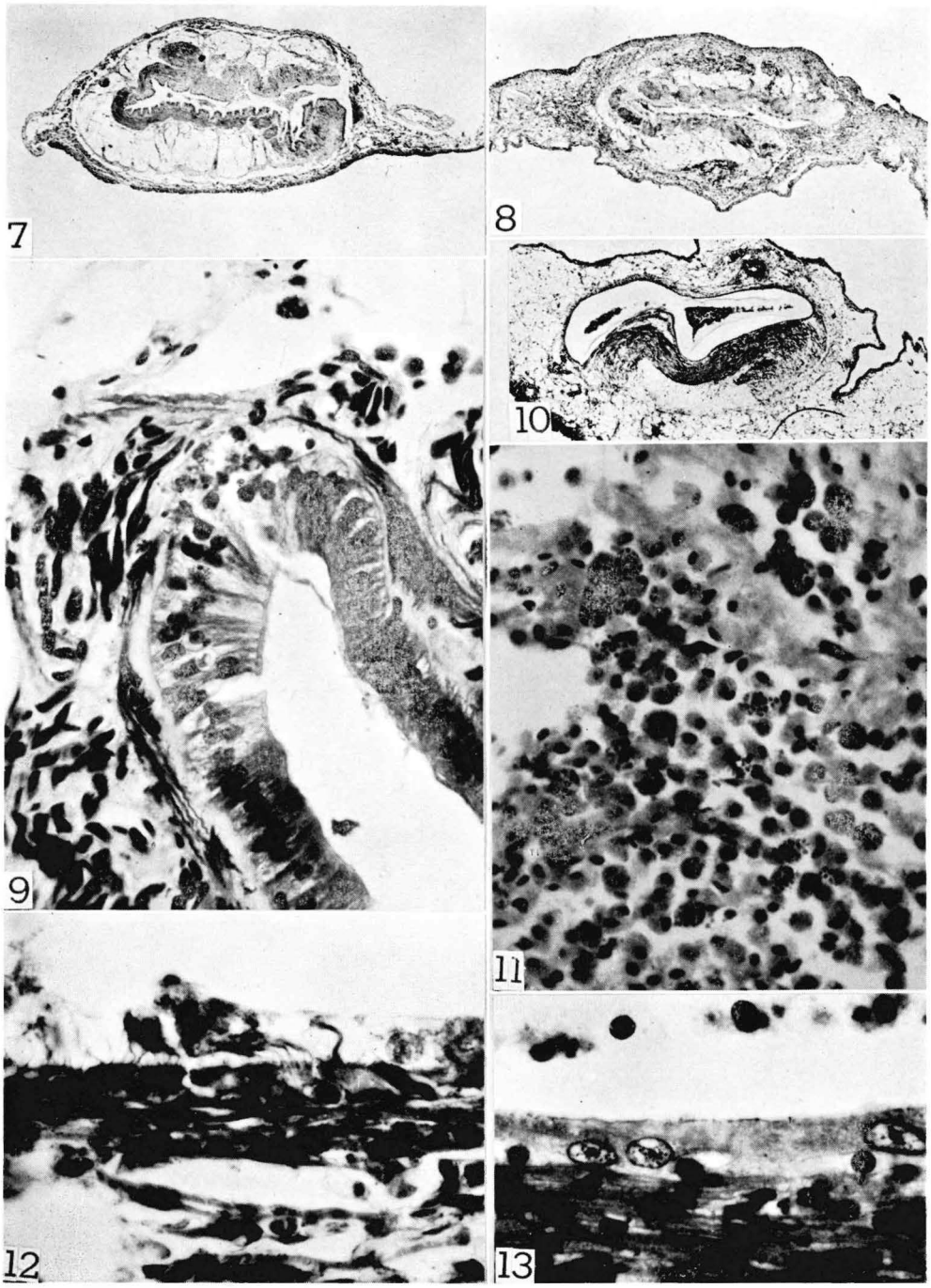
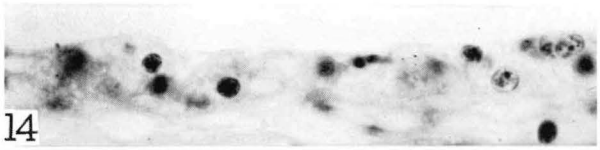
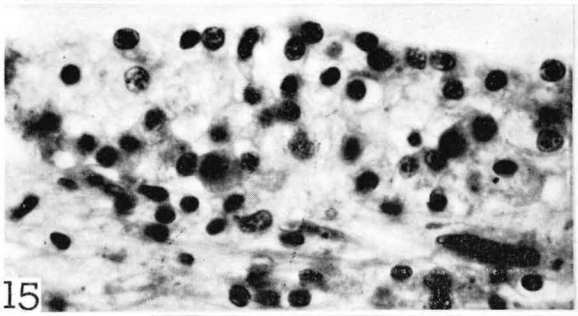
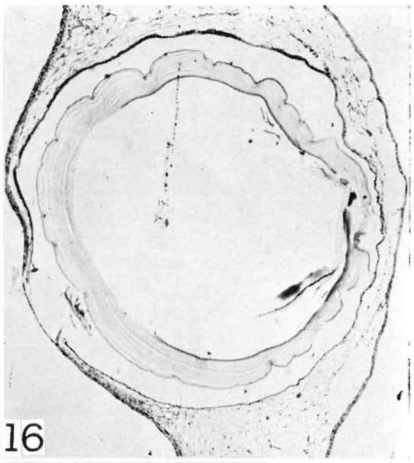


図 14 ～ 18


14


15


16

17

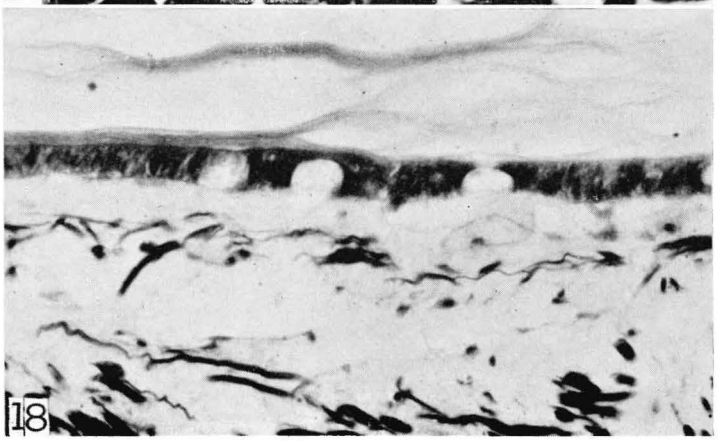

18

図 19 ～ 23

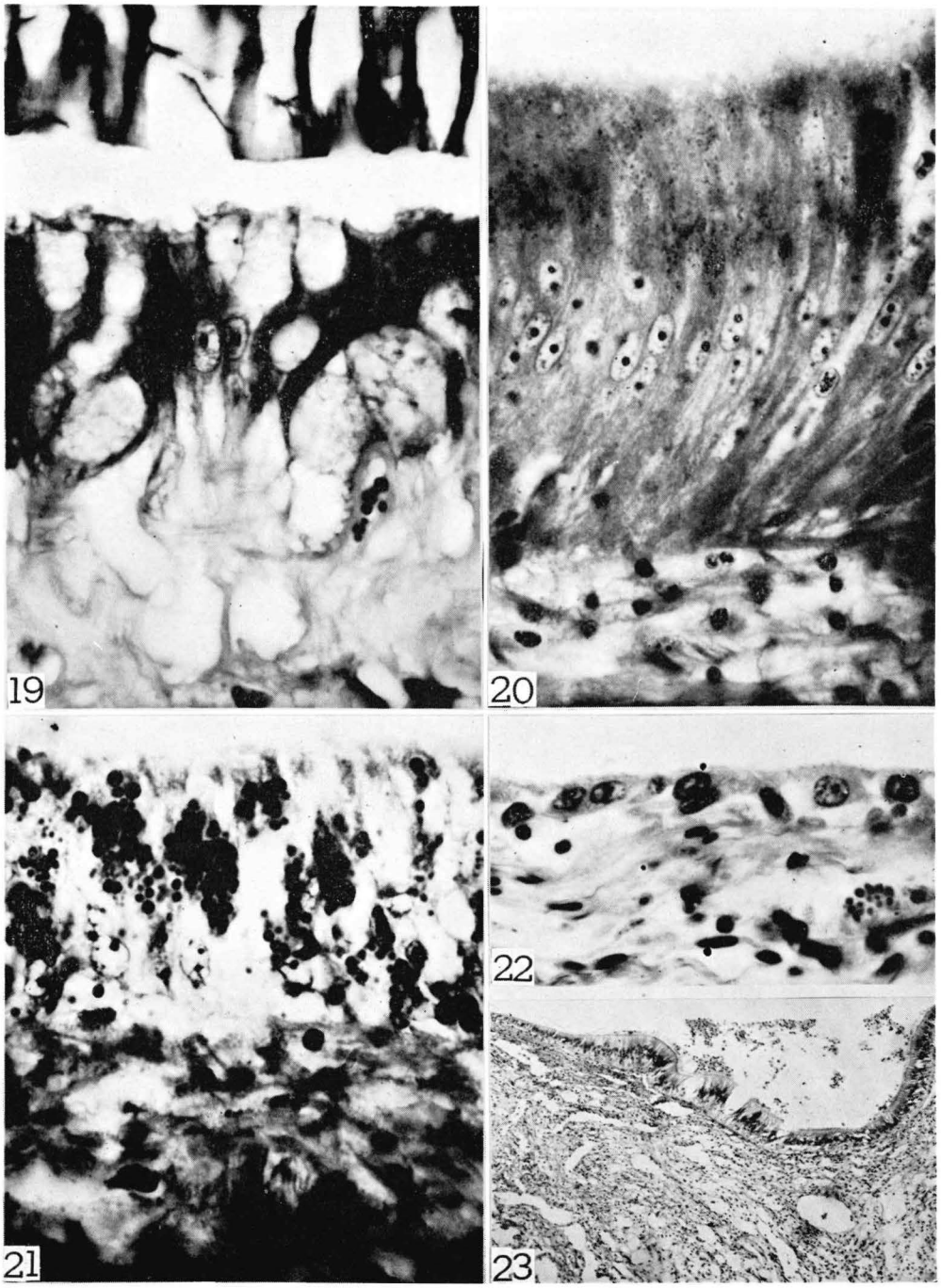
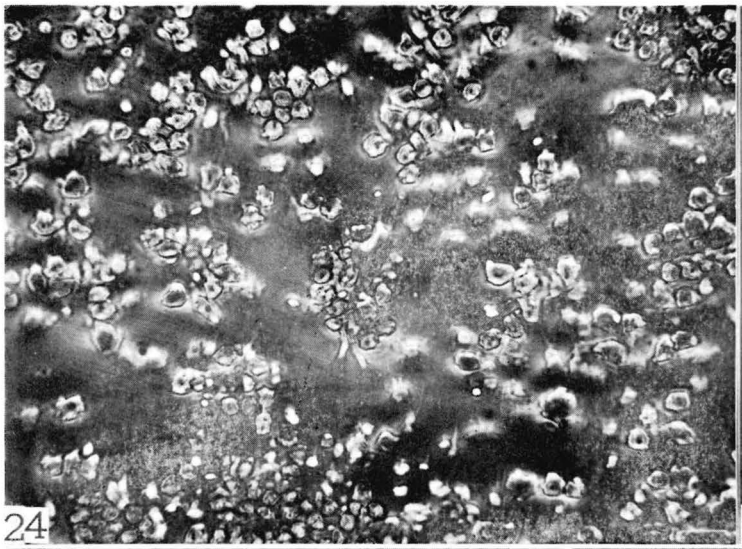
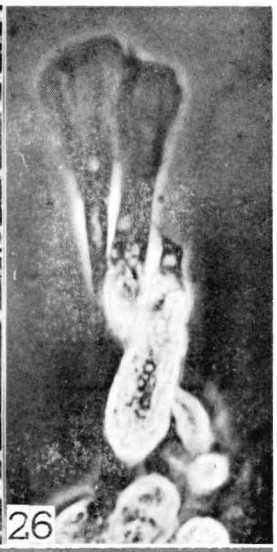
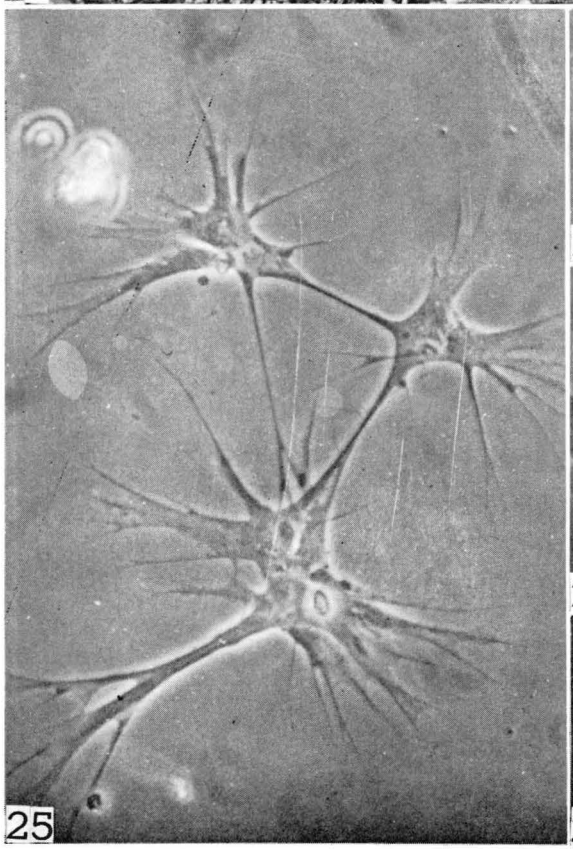
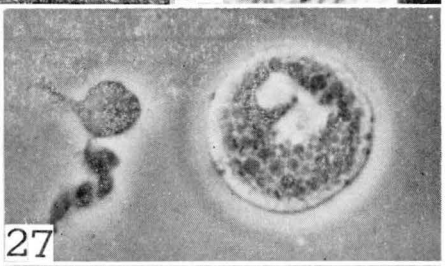


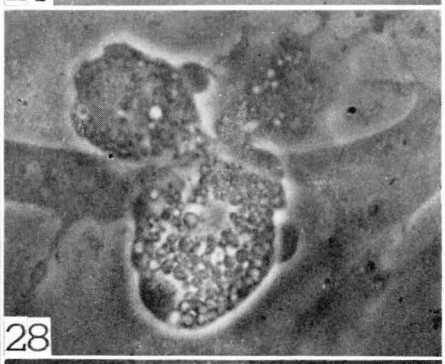
図 24 ～ 29


24


26


25


27


28

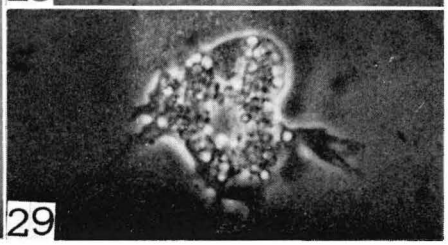
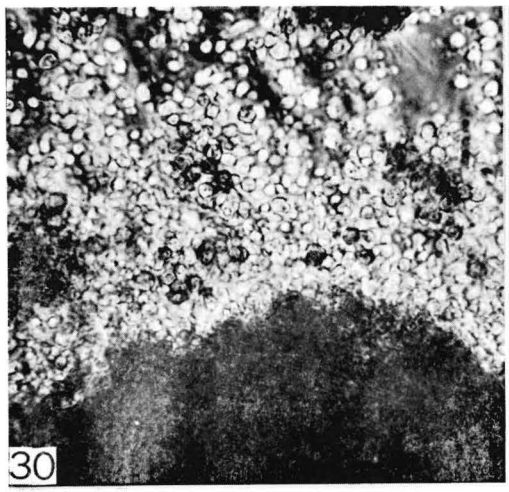
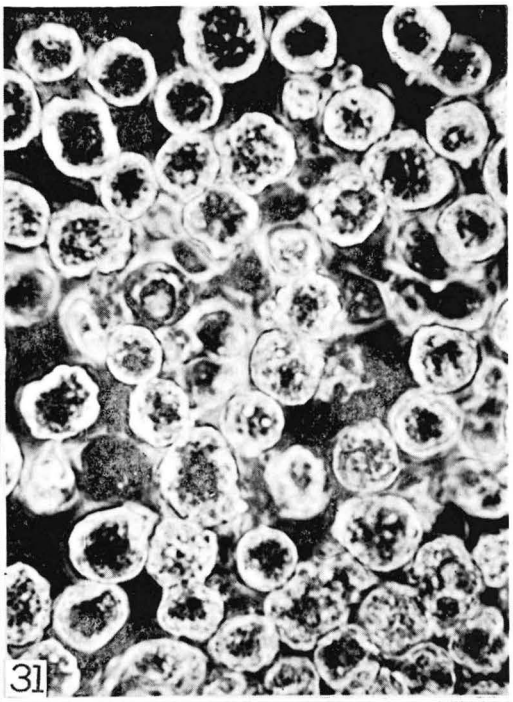
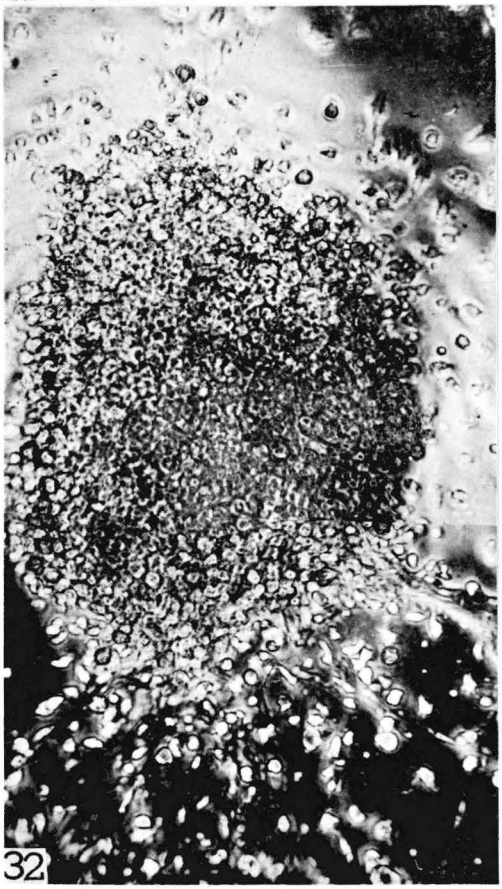

29

図 30 ～ 33


30

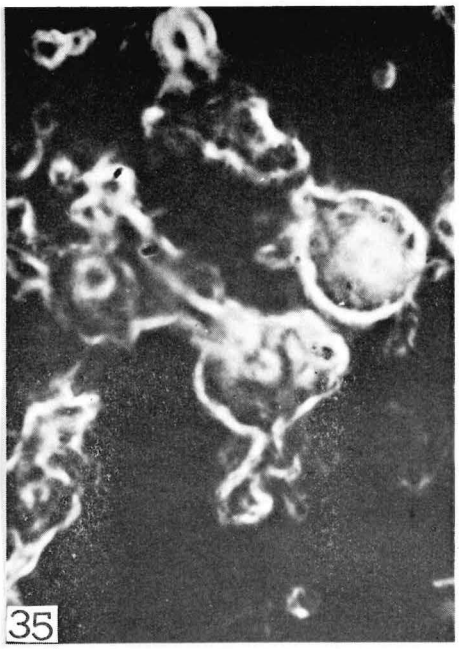

31

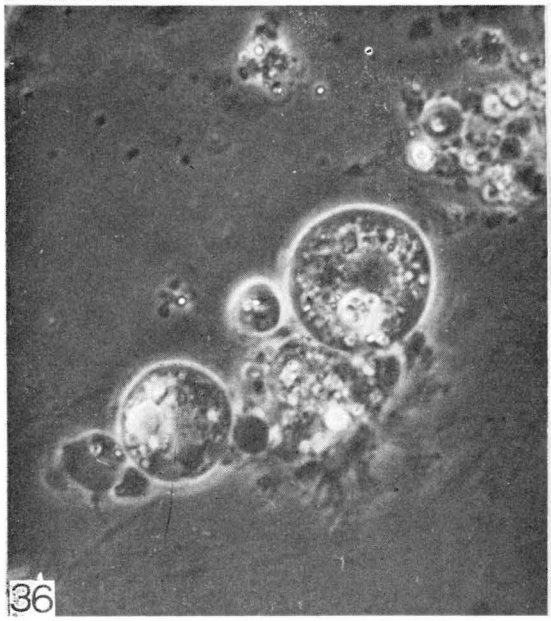

32

33

図 34 ～ 37

34


35


36

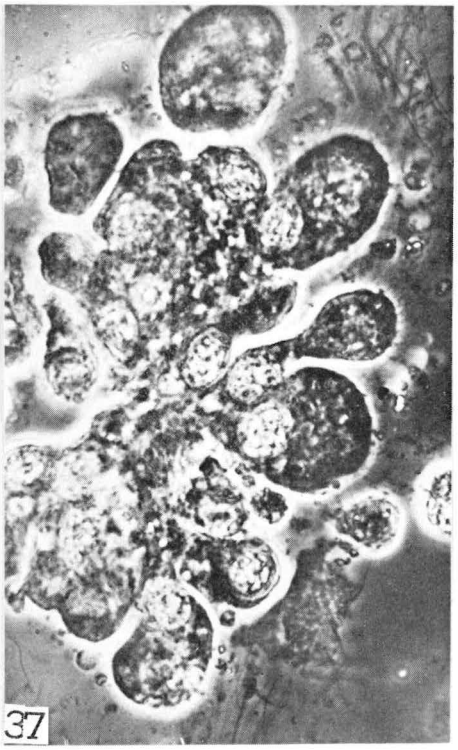
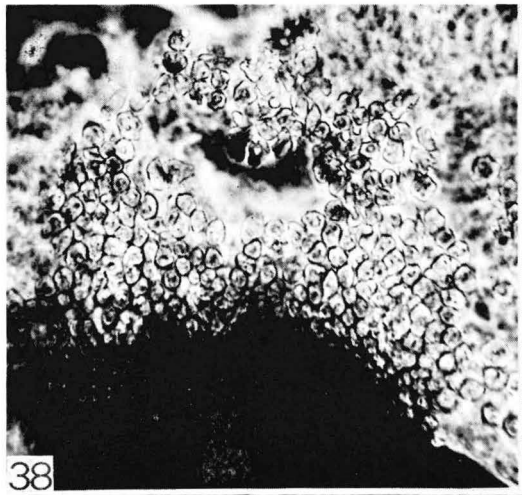
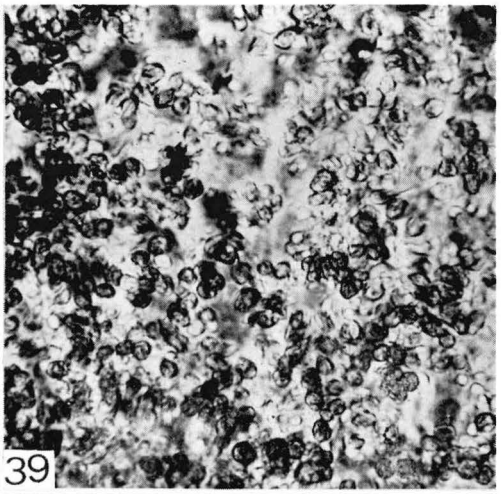

37

図 38 ～ 40


38


39

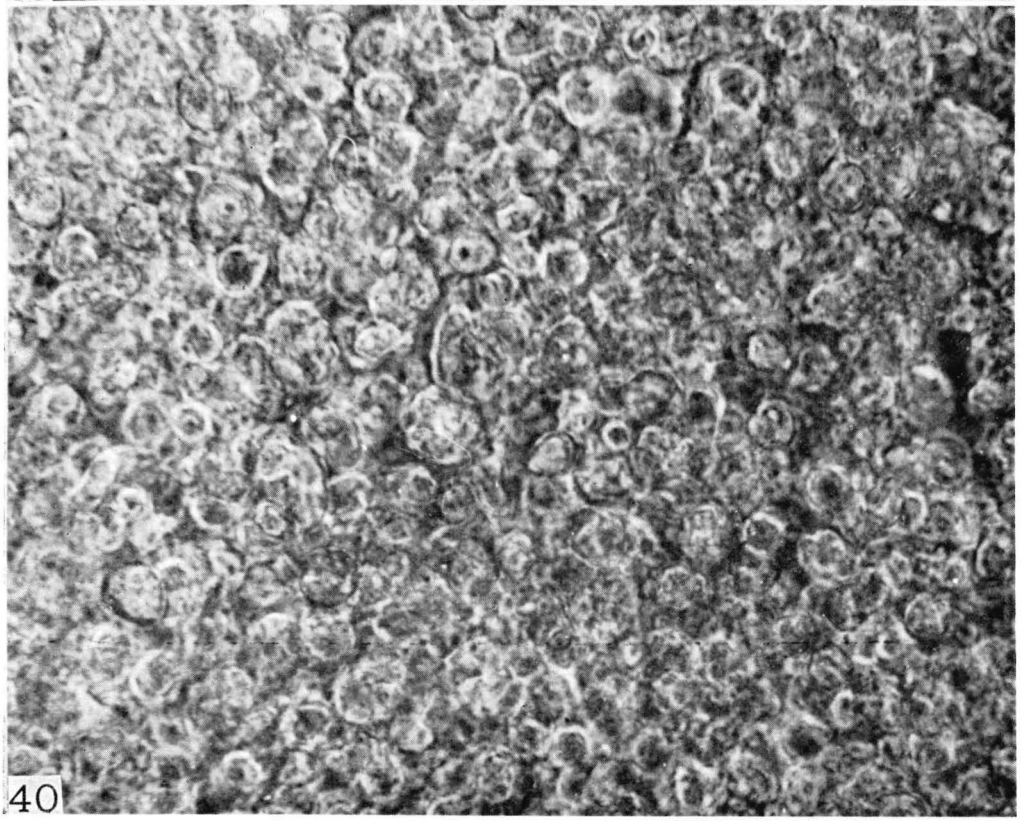
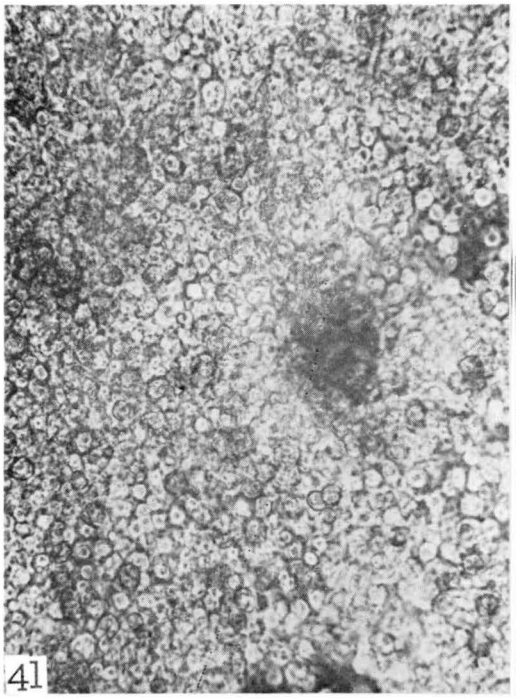
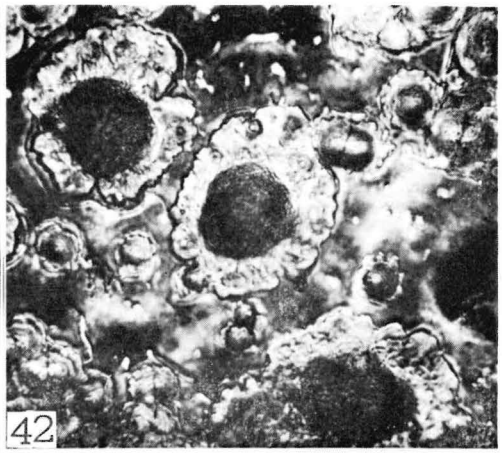
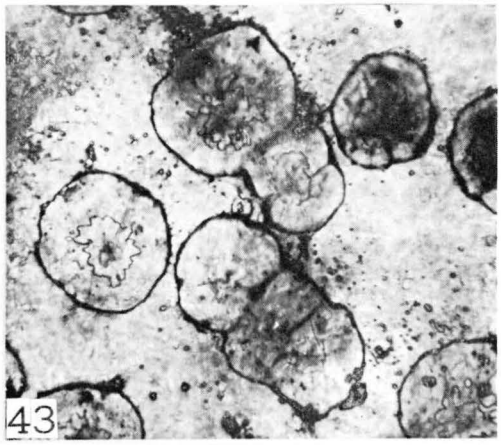
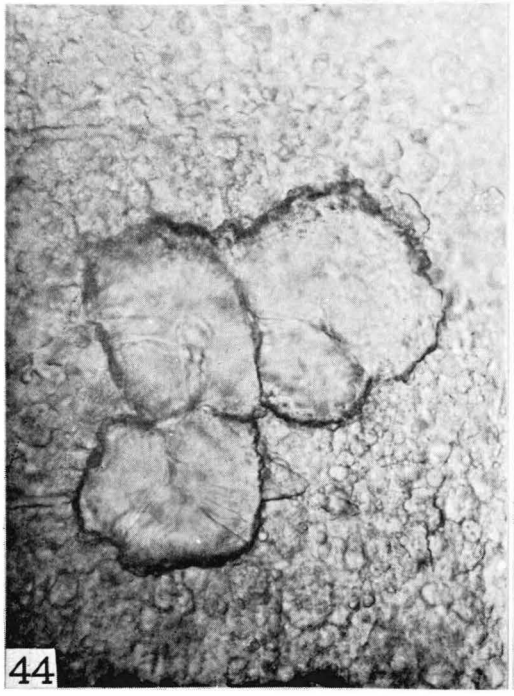

40

図 41 ～ 45


41


42


43


44

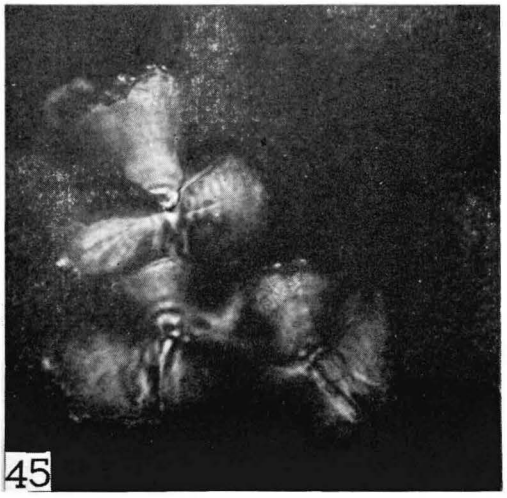
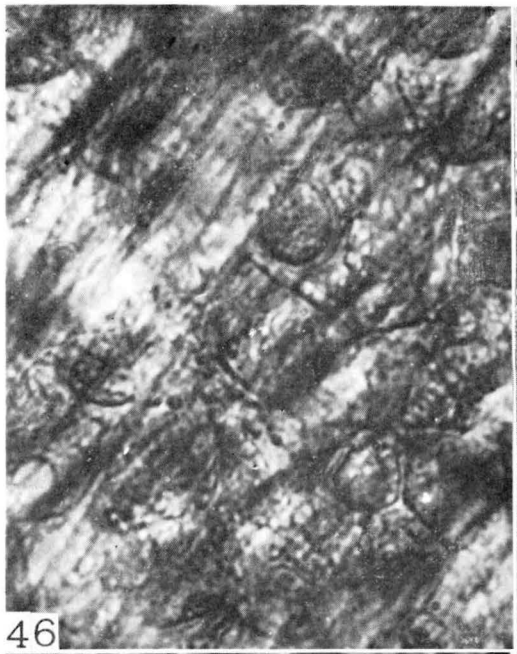
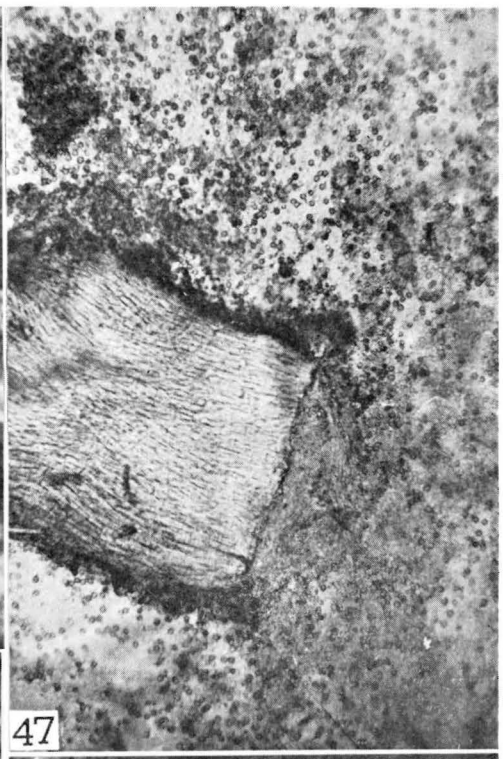
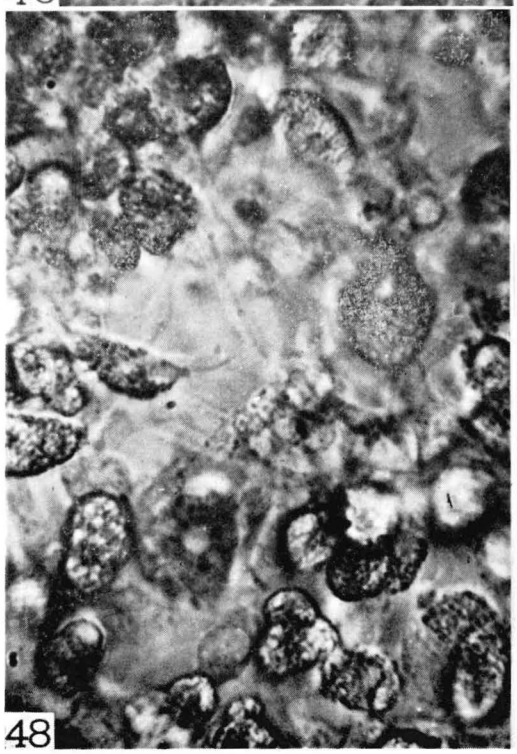

45

図　46 ～ 49


46


47


48

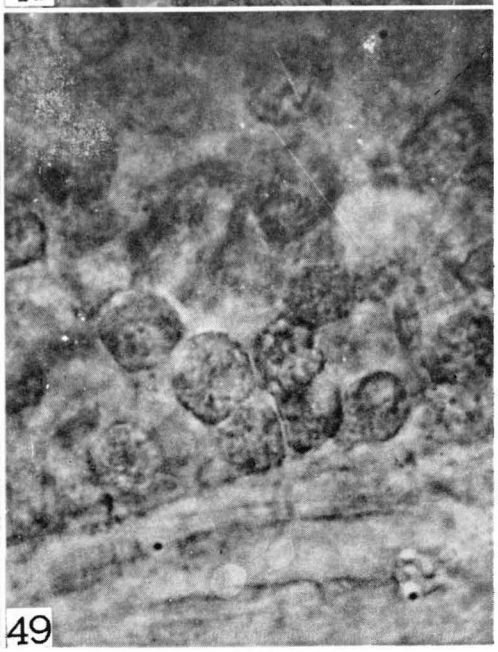

49

図 50 ～ 57

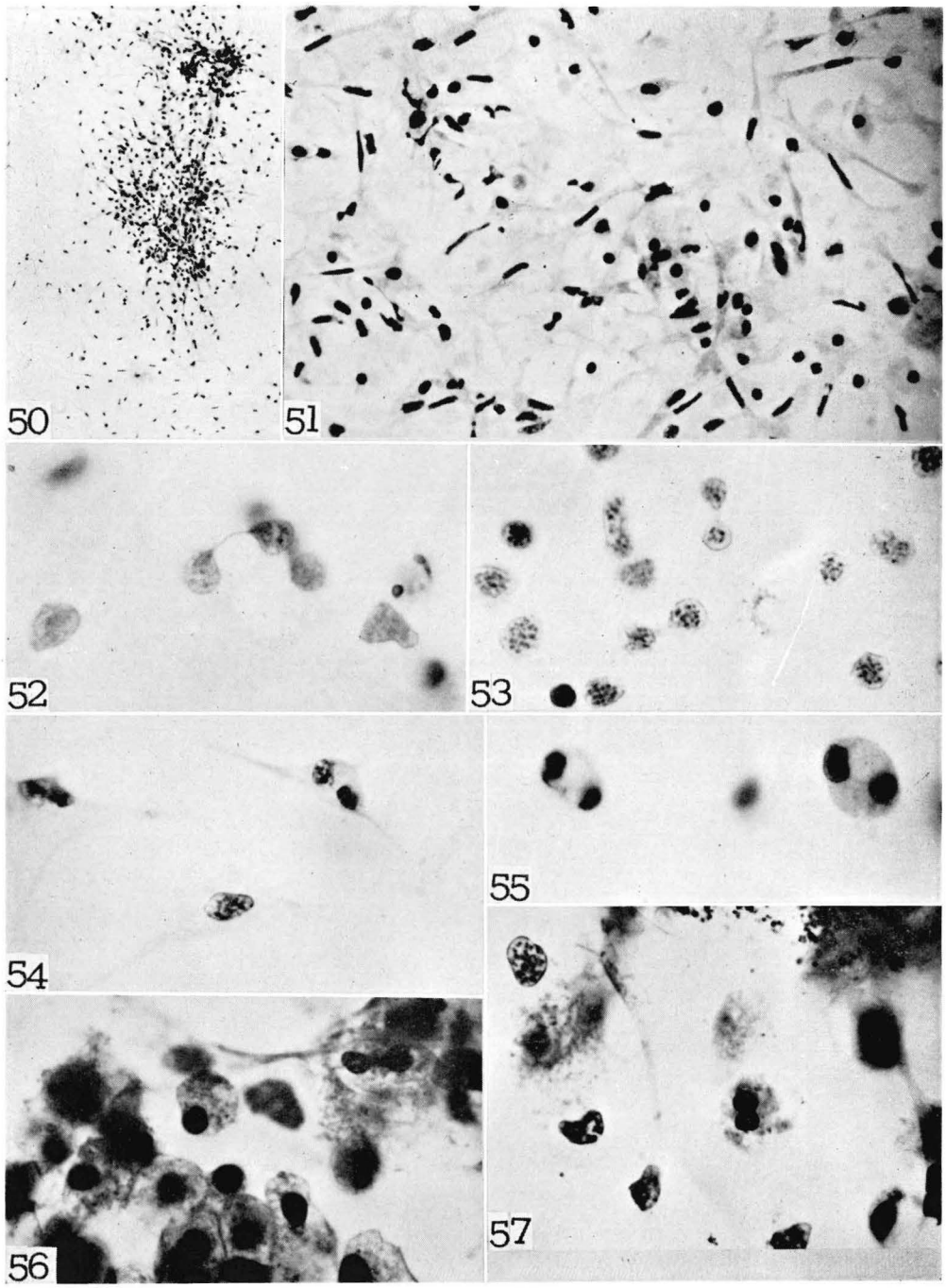


図 58 ～ 61

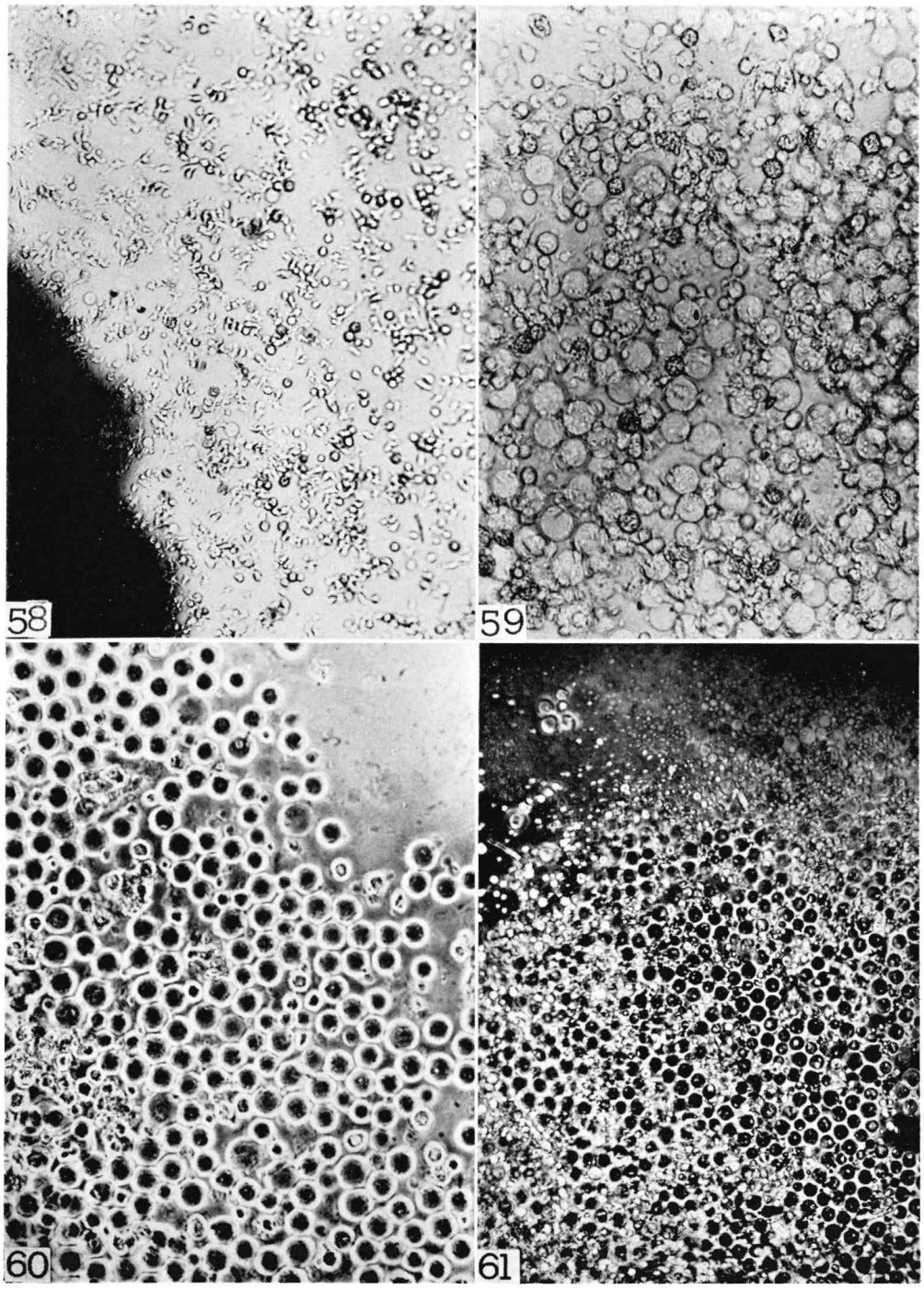


図 62 ～ 65

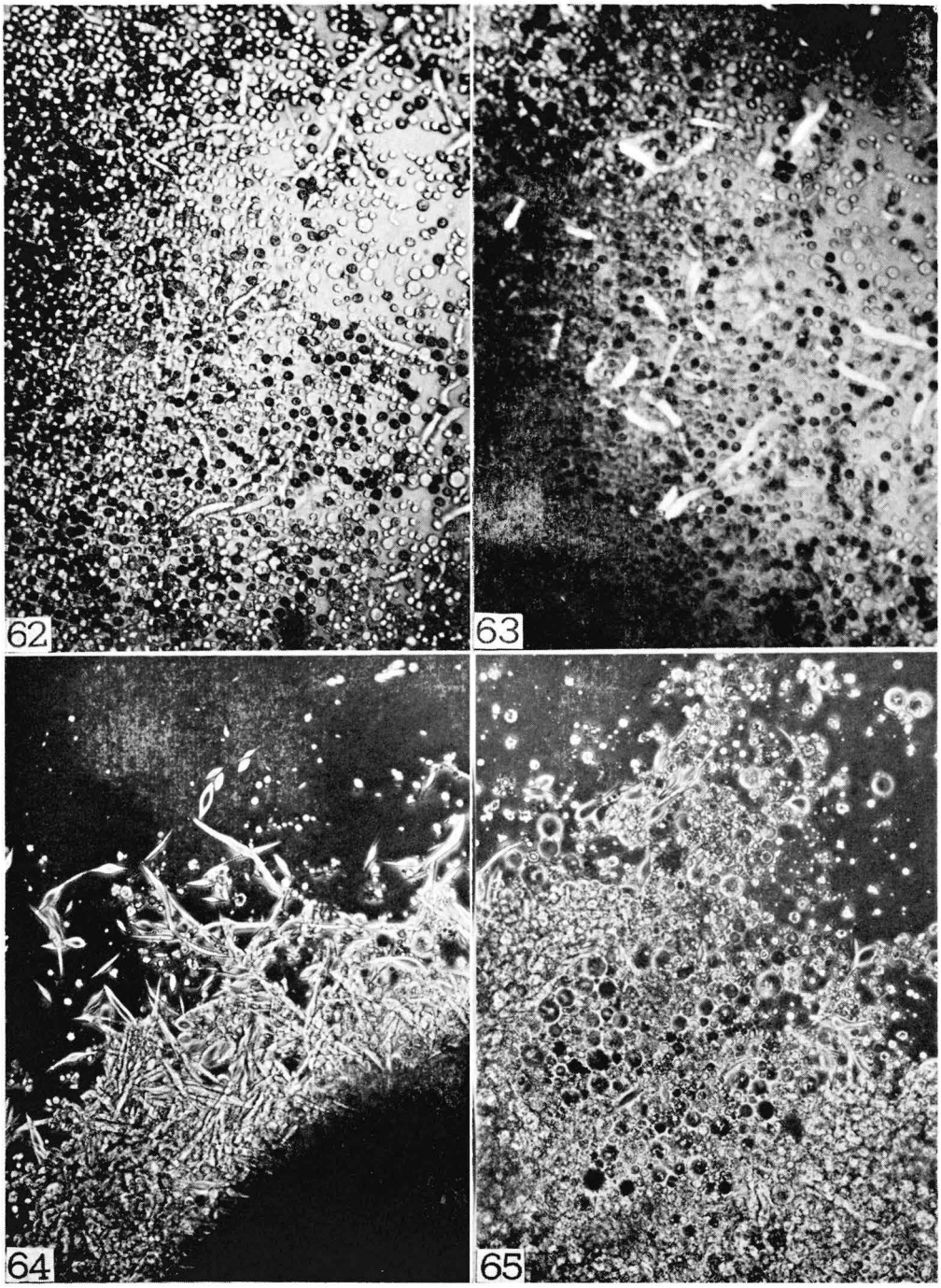
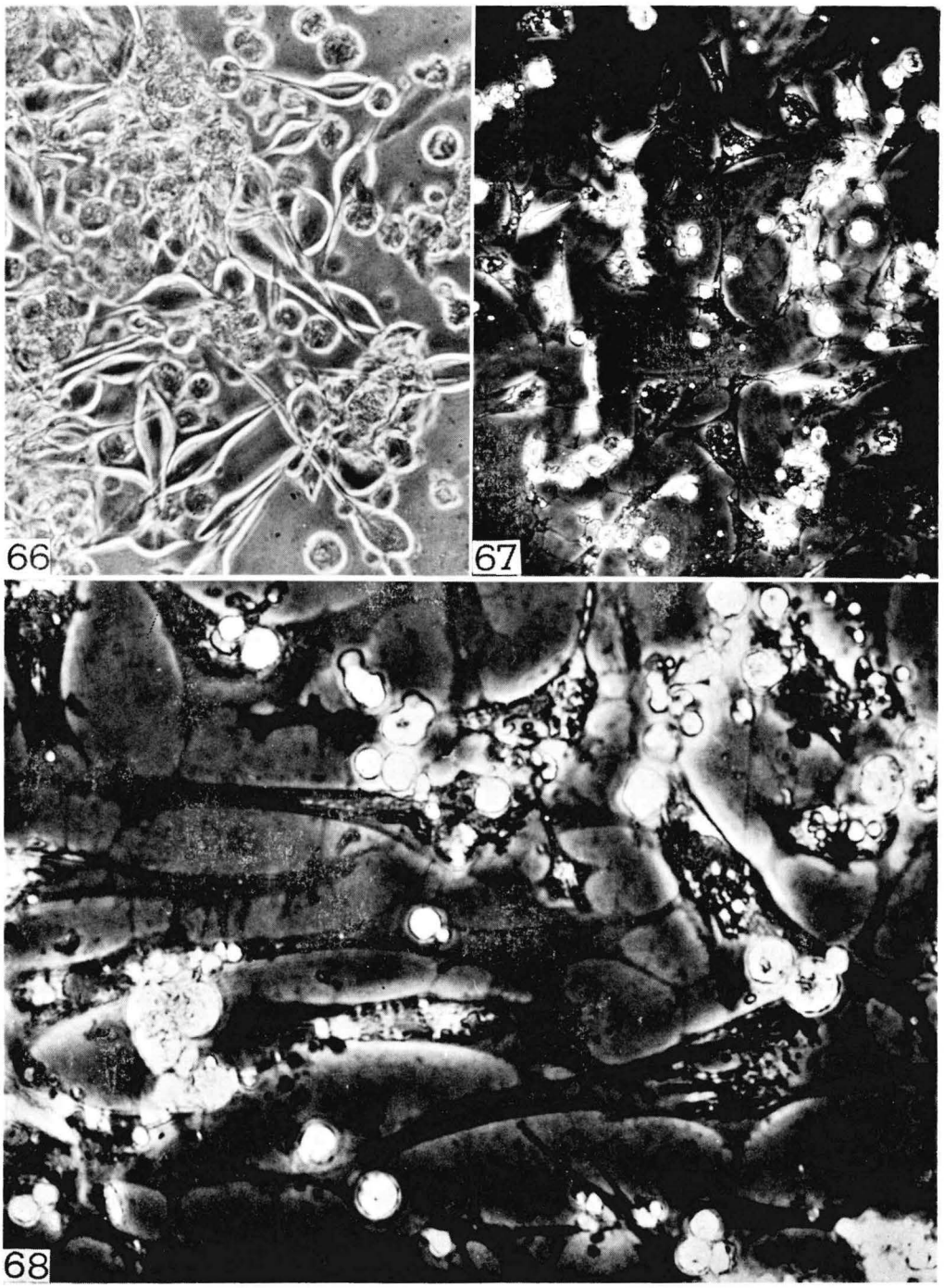


図　66 ～ 68



アコヤガイの殻皮形成に関する電子顕微鏡的観察*,†

和　田　浩　爾
国立真珠研究所

軟体動物の貝殻形成にとって殻皮は (1)外套との間に生息環境が直接関与しない鉱物化の場をつくり，(2)鉱物化基質の固着する基板として働くと同時に，(3)鉱物化基質の前駆物質が前鉱物化基質に変わるのに好都合な条件と，(4)貝殻鉱物の結晶核が前鉱物化基質上に生成し得る $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ の過飽和濃度を準備するための壁，などとして役立っていると生鉱物学的にみて考えられる (Wada, 1967, 1968$_b$)。

二枚貝の殻皮はそれ自身決して鉱物化しない conchiolin からなり，外套外褶の内面上皮細胞によって形成され (Yonge, 1957; Beedham, 1958$_a$; Hillman, 1961; Bevelander and Nakahara, 1967)，その蛋白および多糖体は外套外面によって形成された鉱物化する conchiolin と異なることが組織化学的および生化学的に明らかにされている (Beedham, 1957$_b$; Hare, 1963; Wada, 1964, 1966)。最近 Bevelander and Nakahara (1967) は *Macrocallista maculata* の外套縁を電子顕微鏡によって詳細に観察し，Kawaguti and Ikemoto (1962) によって *Berthelinia limax* の外套縁で発見され "Basal cell" と名づけられた細胞が殻皮溝の奥部，すなわち外褶内面上皮細胞と中褶外面上皮細胞の接する位置に同様に存在することを報告した。それによるとこの特殊な細胞は殻皮の一構成要素である pellicle を形成し，pellicle が殻皮溝の外口部に送り出される過程で第二および第三の殻皮成分が外褶内面上皮細胞によって追加される。

著者は貝殻および真珠の鉱物化機構に関する生鉱物学的研究の一環として，軟体動物における鉱物化の場の形成とその特性を生化学的および形態学的に研究している。ここに主として殻皮の形成過程を光学顕微鏡および電子顕微鏡によって形態学的に観察し，鉱物化の場の形成過程における外套と殻皮の機能的役割に若干の考察を加えて報告する。

---

* Koji Wada. Electron microscopic observations of the formation of the periostracum of *Pinctada fucata*. With English summary, p. 1547. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 13 : 1540—1560. 1968.

† 国立真珠研究所業績 No. 166. (国立真珠研究所報告13 : 1540—1560. 昭和43年7月)

材料および方法

観察材料には三重県英虞湾多徳島地先の真珠養殖筏に飼育しておいた2年生アコヤガイを1967年6月に採集し，その外套縁を使用した。試料は採取後すみやかに cacodylate buffer で pH7.4 に調整した6.25% glutarardehyde で30分～1時間固定したのち，pH7.4 の Sörensen's phosphate buffer で緩衝した1% OsO_4 液で1～2時間固定し，あるいは同じ phosphate buffer で緩衝した3.3% $K_2Cr_7O_5$ 液，および1% OsO_4 液で順次それぞれ約30分，1～2時間固定した。固定は総て4°Cの冷蔵庫でおこない，固定液の交換ごとに7.5% sucrose 液にて洗滌した。固定後は直ちに冷却したエタノール系列により脱水し，Epon 812混合樹脂に包埋，Porter-Blum MT-1型 Ultramicrotome で薄切し，uranyl acetate の50%アルコール溶液，Reynolds 法による鉛染色，または両染色液で二重染色をおこなったのち，HS-7 型電子顕微鏡を用いて観察した。一方パラフィン切片をつくり，Haematoxylin-eosin, Azan, 0.01% Toluidine blue (pH 7.0, pH 3.4) で染色し，その所見を参考にした。なお電子顕微鏡観察のためには Fig. 1 に示したような外套の縦断面，横断面，平行断面がつくられ，光学顕微鏡観察のためには縦断面のみがつくられた。

結　　果

アコヤガイの外套縁は三つの褶にわかれ，外褶と中褶との間，すなわち殻皮溝中に殻皮が形成される。殻皮溝を囲む外褶内側と中褶外側とをおおう一層の円柱上皮細胞の外見はそれぞれ著しく異なる。外褶内側をおおう上皮細胞はヘマトキシリンに濃染し，核は細胞の中央よりやや上縁部に位置する。細胞の厚さは殻皮溝の奥部と外口部とで厚く，中央部で薄い。粘液細胞は全域に散在し，褶の先端の結合組織中に高密度で分布する。エオシン好性顆粒を含む腺細胞は中央部から奥部にかけて散在し，外口部では稀にしか分布しない。中褶外側をおおう上皮細胞はヘマトキシリンに淡染し，核は殻皮溝の一番奥部の少数の細胞では細胞の中央より上縁部に，その他は中央より基底部側に位置する。細胞の厚さは殻皮溝の一番奥部の少数のものは厚く，その他は相対的に薄い。粘液細胞は奥部には稀にしか分布せず，中央部より外口部にかけて散在する。エオシン好性顆粒を含む腺細胞は中央部より奥部にかけて上皮細胞間および特に結合組織中に多数分布する。中褶の外側は中央部付近より外口部にかけて黄褐色から茶褐色の色素顆粒を含む細胞でおおわれる。殻皮溝中にみられる殻皮は外口部で一枚の膜のようにみえ，奥部に進むにつれ糸状のものが網目状ないし捩れたリボン状の幅広い膜のようになり，一番奥部で上皮細胞と接合してみえる。殻皮はヘマトキシリンに淡染し，pH 7.0と3.4のトルイジンブルーで典型的なメタクロマジアを示し，貝殻先端に形成された稜柱の基板となる有機質膜と著しく異なる (Table 1)。

殻皮溝の奥部を電子顕微鏡で観察すると，外褶の内面上皮細胞と中褶の外面上皮細胞とが接する位置に Basal Cell が外套周縁に沿って一列に並列している(Figs. 2, 7)。Basal Cell の外観は外套の他の上皮細胞と著しく異なり，縦断面像では Fig. 2 にみられるように多数の溝がある電子密度の比較的高い部分が細胞の中央から上縁部の大半を占めて認め

Table 1. Comparison of staining reactions of the pellicle in the periostracal groove and the periostracum elaborated by the outer epithelial cells located in the distal region of the outer mantle fold.

Staining methods \ Materials		Pellicle	Periostracum
Haematoxylin-eosin		purpule ～ red	red
Azan		blue ～ red	red
PAS reaction		+	+
Metachromasia with toluidine blue	pH 7.0	+	−
	pH 3.4	+	−

られる。この電子密度の高い部分は細胞の自由表面に相当し，細胞の中央に凹み（最深部で約4μ），それに高さ0.5～1.0μ，基部の幅0.5～1.5μの褶が6～10条生じているのが接線方向の断面と水平断面とからわかる（Figs. 3, 4, 8）。細胞は厚さ9～12μで，細胞の中央で多少くびれ上端でふくらんだ洋梨形を呈する。細胞の自由表面にある褶は体の背腹軸に平行で外套周縁に対して直角に走り，上下左右に波状に起伏する（Figs. 1, 2, 3, 4 , 7）。褶の表面は電子密度が高く（Figs. 2, 3, 4, 5, 6, 7），褶の中には形態的に少くとも膜状あるいは微粒状の物質を含む二種類の分泌顆粒がみられ，褶の表面のあちこちから離出分泌

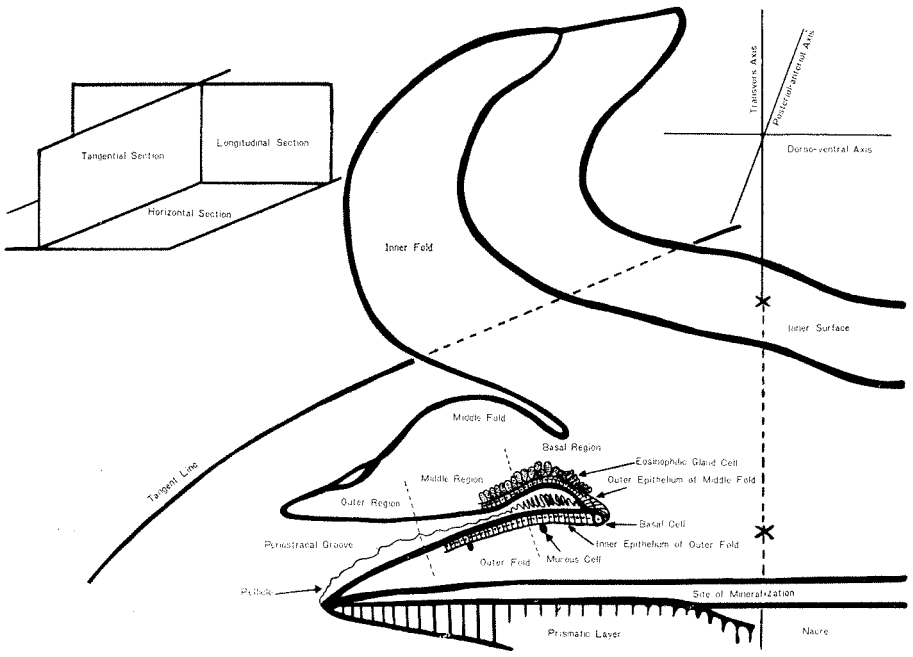


Fig. 1 Diagramatic representation of the mantle edge of *Pinctada fucata*.

(macroapocrine secretion) によって放出されると思われる像が認められる。核は常に細胞の中央より基底部側に偏在し，粗面小胞体は核周辺，特に核と基底部との間に散在する (Figs. 3, 4, 8)。水平断面において外套外褶の内面上皮細胞に接する側に褶の断面と思われる短冊形の小室が外套周縁に沿って一列に並列し，その小室中に多数の顆粒状の糸粒体と小胞とがみられる(Figs. 3, 8)。直径0.15～0.3μの高電子密度の小顆粒が特に細胞の上縁部に認められるが，その分布密度は切片によってかなり異なる (Figs. 3, 4, 5, 6)。このほか細胞質には微粒子を含む空胞と膜状物質を含む顆粒とが核と上縁部との間の細胞質中に多数散在する (Figs. 3, 4, 5)。Basal Cell 相互の接触面は単純な凹凸彎曲を示し，細胞の基底部では基底膜は細胞間および細胞質に入りこんでいる (Figs. 4, 5, 8)。

殻皮溝の奥部においては外褶内面上皮細胞は背が高く，その基底部は厚い基底膜につづく。Basal Cell に隣接する数列の上皮細胞にはよく発達した粗面小胞体が核周辺に平行層板状に並ぶ (Figs. 2, 9, 18)。これらの細胞のうち，Basal Cell に隣接する1ないし2列の細胞の自由表面には直径約80～100mμ，長さ約2～3μの微絨毛様の突起が生じている (Figs. 7, 9, 10)。この突起は細胞質中に根を長く伸ばすが，繊毛のように中心線維，周囲線維，基底板などの構造は認められない。突起の先端は殻皮溝の外口部に向ってたわみ，突起の根元には顆粒状の糸粒体が比較的多くみられる (Fig. 9)。これら数列の細胞以外では，殻皮溝の外口部にいたる上皮細胞でよく発達した粗面小胞体と，微粒子，顆粒あるいは膜状物質を含む多数の空胞や小胞などがみられる (Figs. 15, 16, 17)。またゴルジ装置が核の上縁側の細胞質中にみられ (Fig. 17)，糸粒体は細胞質中に散在している (Figs. 10, 11, 15, 16, 17, 22)。細胞の自由表面には微絨毛が密生し，外口部の細胞で奥部のものよりも多少長い。微絨毛の先端はしばしばふくれ (Fig. 16)，また細胞の自由表面はしばしばドーム状にふくれ，Fig. 15 で矢印によって示したようにその基部はくびれることもある。隣接する細胞との間隙は自由表面近くでは約 180 Å，細胞膜は自由表面直下で局所的に肥厚している。細胞相互の接触面は比較的単純な凹凸彎曲を示す (Figs. 15, 16, 17, 22)。

Basal Cell に隣接する10数列の中褶外面上皮細胞は細長く，その自由表面には微絨毛が密生している (Figs. 2, 4, 7, 9)。これらの細胞のうち，Basal Cell に隣接する数列では微絨毛は直径約70～80mμ，長さ約0.45μで，自由表面直下にBasal Cell の上縁部にみられた小顆粒と同じ程度の高電子密度の直径約0.17～0.36μの顆粒が多数認められ，細胞質は他の上皮細胞に比較して明るい (Figs. 2, 5, 7, 9)。これらの細胞の外口部側に隣接した数列の上皮細胞には小胞体が発達し，多数の空胞や小胞が細胞質全域にみられる(Figs. 10, 11)。これより中央部に向って細胞の高さは低くなり，殻皮溝の幅は急に広くなり，この部分に局在して Fig. 18 にみられるような外観が著しく異なる細胞が僅かに散在してみられる。この付近より外口部にかけて自由表面に繊毛と微絨毛 (直径50～70mμ，長さ1.5～2μ) の両方があり，微絨毛2～3本に対して1本の割合で繊毛が生えている細胞が外套周縁に沿って島状ないし帯状に存在する (Figs. 20, 21, 23)。繊毛根の間には多数の顆粒状の糸粒体が認められ，また小胞内におさめられた Basal Cell の上縁でみられた顆粒と同じ程度の高電子密度の直径0.18～0.83μの顆粒が多数認められる。隣接する繊毛細胞の細胞膜間隙は自由表面近くでは約360Å，自由表面直下に desmosome が認められ，細胞相互

の接触面はあまり凹凸しない (Fig. 23)。

トルイジンブルーで典型的なメタクロマジアを示す粘液細胞は外褶内側の上皮細胞間および結合組織中にかなり認められる (Fig. 24)。核は細胞の基底部側にあり，細胞のどちらか一方におしやられ，細胞質内に直径0.7～3.8μの塊状の分泌顆粒が充満している。この分泌顆粒は電子密度が低く，微細な粒子が並んでできた繊維状のものがもつれて糸毬状に集まり塊状をなしている。細胞質中に細胞内小器官は認めにくい (Fig. 24)。細胞の開口部の外側にみられる分泌顆粒は互いの境界を失ない，繊維はほぐれ，あらたに疎な網目状構造があらわれる。

中褶外側の結合組織中に密集したエオシン好性顆粒を含む腺細胞は Basal Cell の上縁部でみられた顆粒よりも電子密度が低く，粘液細胞の分泌顆粒より電子密度が著しく高い顆粒で充満されており，核は基底部側にあり，細胞質中に細胞内小器官は認めにくい (Figs. 19, 20, 24)。顆粒は一般に直径0.5～4.5μの球状ないし楕円球を示すが，充満したものでは多角形を示すこともある。上皮細胞間にあるこの腺細胞に含まれた顆粒は結合組織間にある腺細胞に含まれるそれに比較して電子密度がしばしば低く，この顆粒が微細な粒子からなっているのがわかる (Fig. 24)。

Basal Cell の開口部から殻皮溝の外口部にわたって電子密度が比較的高い無周期無構造な膜が認められるが (Figs. 2, 13, 14, 17)，Basal Cell の自由表面の凹の中には認められない (Figs. 3, 4, 6)。この膜の厚さは約60～100mμで，Basal Cell の開口部にごく隣接した部分で多少薄く電子密度も低いが，この部分を除けば殻皮溝の全域にわたって変化しない (Figs. 2, 9, 10, 11, 15, 16, 17)。縦断面像においてこの膜は Basal Cell の開口部付近で一枚の膜状にみえ (Figs. 2, 5, 9)，殻皮溝の奥部で中褶外面上皮細胞の高さが低くなり溝の幅が急に広くなる部分より外口部側では折れ曲って樹枝状を示すようになる (Fig. 11)。樹枝状の褶は外套外褶内面より外套中褶外面に向って小褶曲をなして突出し，この小褶曲をもった膜はさらに大きな褶曲をなしている (Fig. 12)。この膜の樹枝状の褶は殻皮溝の中央部から外口部に近づくと幅が広くなり褶曲もゆるやかになり(Figs. 15, 16)，外口部で単純に波状した一枚の膜となる (Fig. 17)。接線方向の断面像および水平断面像において，この膜は Basal Cell の開口部付近および殻皮溝の外口部で波状した一枚の膜を示し，殻皮溝の奥部で褶の長い樹枝状あるいは不連続な層状を示す(Figs. 12, 13)。

殻皮溝中にみられる樹枝状の膜と外套外褶内面上皮との間は電子密度の低い物質で充され，その中に分泌顆粒を含む嚢が多数認められる (Figs. 10, 11, 12, 15, 16)。分泌物は疎な網目状に集まり，樹枝状の膜に接してしばしば層状を示すが(Fig. 25)，新しい層の形成は認められない (Figs. 16, 17)。この褶曲した樹枝状の膜と外套中褶外面上皮との間も分泌顆粒や分泌顆粒を含む嚢で充満しており，微粒子が褶曲に沿って膜の外套中褶外面側に沈着し，樹枝状の膜より電子密度の低い層をつくる (Figs. 13. 15)。この微粒子層は殻皮溝の外口部で一般に認められない (Fig. 17)。

考　　察

Kawaguti and Ikemoto(1962) は *Berthelinia limax* の外套縁を電子顕微鏡で調べ，殻皮溝の奥部で外褶内面上皮細胞の起点に位置して特殊な細胞を観察し，この細胞を Basal Cell と呼んだ。しかし貝殻形成における Basal Cell の機能については明らかにされず，殻皮は外褶内面上皮細胞による分泌生成物であるとの従来の光学顕微鏡観察と同じ結論に達した。その後 Basal Cell は殻皮の最初の成分である pellicle を形成する機能をもつことが Bevelander and Nakahara (1967) によって報告された。それによると，pellicle は Basal Cell の特殊な活動によって隣接する中褶外面上皮細胞との細胞膜間につくられ，殻皮溝の中央部および奥部にある外褶内面上皮細胞によって pellicle とは異なる別の殻皮成分が pellicle 内面に形成される。また中褶外面上皮細胞の表面をおおう非晶質は殻皮が成長にともなって移動するのを助長すると指摘し，殻皮溝を囲む細胞は殻皮形成にあたって分泌物および機能に差を生じていることを明らかにした。アコヤガイにおける殻皮形成については Tsujii (1960) が光学顕微鏡によって観察し，中褶外側の結合組織中に特に発達するエオシン好性顆粒を含む腺細胞が殻皮形成に関与し，外褶内面上皮細胞は関与しないと報告した。Kawakami and Yasuzumi (1964) はアコヤガイの外套縁を電子顕微鏡で観察し，殻皮溝の奥部において外褶の内面は変形して褶ないし樹枝状構造をつくると報告し，長い突起 (periostracum projection) からなるこの樹枝状構造は殻皮の形成に必要な硬蛋白の合成と供給に有効な表面積を増大する細胞装置であると考えた。

今回の観察からわかるように，アコヤガイにおいて殻皮は先ず殻皮溝の奥部で外褶内面上皮細胞と中褶外面上皮細胞との接する位置にある特殊な構造を示す Basal Cell の分泌機能によって一枚の電子密度の高い膜として形成されるのがわかる。すなわち，アコヤガイの Basal Cell の自由表面は凹み，その面は折れ曲って褶となり，褶の表面から離出分泌 (macroapocrine secretion) によって細胞の凹みの中へ放出された分泌物は細胞の開口部から殻皮溝に出る頃には凝固して一枚の電子密度の高い膜に変化する。この膜は構造的には異なるが Bevelander and Nakahara (1967) によって pellicle と呼ばれた殻皮の最初の膜と一致し，外套外褶を生息環境から分離し，その間に貝殻生成の場をつくる。アコヤガイの pellicle は，(1) Basal Cell の自由表面の凹みに放出された分泌物が単位時間あたりにこの細胞から殻皮溝に分泌される速度，(2)外褶内面上皮と中褶外面上皮とでつくられる空間の形と大きさ，(3)殻皮溝を囲む細胞による分泌物の単位面積での単位時間あたりの放出量と分泌物との性質の差，と(4)殻皮溝の奥部から外口部へ押し出される速さの場所的な差などが結合してできた pellicle の成長条件によって小褶曲や大褶曲を生じ，その褶曲の高さ，幅，方向および数などに変化を生じて殻皮溝の奥部，中央部および外口部でみられたように外形を変える。たとえば，Basal Cell に隣接する外褶内面上皮細胞の分泌機能がそれに面した中褶外面上皮細胞のそれよりも活発なため，pellicle は先ず外褶内側より中褶外側に向って褶曲する(Figs. 10, 11)。また外褶内面上皮と中褶外面上皮の表面はそれぞれの細胞から放出された分泌物によっておおわれ，pellicle に生じた褶曲が細胞表面に直接ふれないようになり，それぞれの分泌物の性質の差異や殻皮溝の中央部から

外口部にいたる中褶外側に多くみられる繊毛細胞の働きなどは pellicle が殻皮溝の外口部へ押し出される過程に関与するであろう。

pellicle は殻皮溝の外口部に押し出される過程で，pellicle の内面側（外褶内面に面した側）と外面側（中褶外面に面した側）とは外褶内面上皮と中褶外面上皮とから放出された分泌物でそれぞれ埋められてくるが，pellicle の厚さは殻皮溝の奥部から外口部に向って増加しない。これは pellicle が Basal Cell の代謝産物だけからできたことを意味する。一方，これら外褶内面上皮と中褶外面上皮とから放出された分泌物は共に pellicle と強力に接着した新しい層に変化しない。すなわち pellicle の内面側を埋めた分泌物は pellicle の内面に殻皮として発達しないし，pellicle の外面側を埋めた微粒子層は殻皮溝の外口部で流失する。したがって，アコヤガイでは pellicle の薄い単一膜が外褶の先端をまわって貝殻成長縁に連結する。貝殻成長縁と連結した位置で pellicle の内面に外褶外面上皮によってメタクロマジアを示さない殻皮が形成され，また稜柱層内面をおおって同様に形成された殻皮はその上に稜柱層が成長すると稜柱層中に水平な層として閉じ込められる。筆者は稜柱層中に閉じ込められた殻皮を内殻皮（interperiostracum）と呼ぶことを提案する。

殻皮溝を囲む上皮細胞による分泌物の放出機序は，黒住（1965）の分類に従うとⅡ型とⅢ型とに属する。すなわち，上皮細胞は大きな突起を殻皮溝に向けて出し，この突起の内部に分泌物を入れたままちぎれ落ちる離出分泌（macroapocrine secretion）と上皮細胞の表面にある微絨毛の先がふくれ，その部分がちぎれ落ちる微離出分泌（microapocrine secretion）とが同時におこなわれている。典型的なメタクロマジアを示す粘液細胞は離出分泌によって分泌顆粒を殻皮溝中に放出する。中褶外側に多数分布するエオシン好性顆粒を含む腺細胞による分泌顆粒の放出は今回は直接観察できなかった。一方，真珠層が盛んに成長する時期にこの層に接する上皮細胞は何らの形態変化もともなわないことがあるから，石灰層を形成する上皮細胞には更にⅤ型（透出分泌；diacrine secretion）もあると想像できる（和田，1968$_a$）。以上のような放出機序にともなって分泌物に含まれた分泌物の溶媒である水と貝殻形成にとって不純物として作用する物質の一部は上皮細胞の嚥飲作用（中原，1962；Nakahara and Bevelander，1967）と遊走細胞の食作用（Takatuki，1934；中原，1962）とによって再び外套に取り入れられる。すなわち外褶上皮細胞は分泌と吸収の両方の作用をおこなっていると考えられる。

摘　　要

1）外褶内面上皮細胞と中褶外面上皮細胞とが接する位置，すなわち殻皮溝の一番奥に Basal Cell が外套周縁に沿って一列に並列している。

2）Basal Cell は他の外套上皮細胞と著しく異なり，細胞の中央でくびれ上端でふくらんだ洋梨形を示す。細胞の厚さは 9～12μ で，その自由表面は中央に凹み（最深部で約4μ），そこに高さ 0.5～1.0μ，基部の幅0.5～1.5μ の褶が 6～10条ある。この褶は体の背腹軸に平行で外套周縁部に対して直角に走り，上下左右に波状に起伏する。

3）Basal Cell の分泌機能によって一枚の電子密度の高い膜（pellicle）がこの細胞の

開口部近くで形成される。

4) pellicle は殻皮溝の奥部で折りたたまれて小褶曲と大褶曲とからなる樹枝状構造を示すが，外口部に近づくに従って褶曲の高さは低くなり，幅は広くなって，遂には波状ないし単純に折れ曲った一枚の膜となる。

5) 中褶外面上皮——エオシン好性顆粒を含む腺細胞も含む——から放出された分泌物は pellicle の褶曲の間にたまって疎な微粒子層を形成するが，殻皮溝の外口部付近で流失する。

6) 外褶内面上皮から放出された分泌物は pellicle の内面に殻皮として発達しないため，アコヤガイの殻皮溝にみられる殻皮は pellicle の薄い単一膜からなる。

7) pellicle の単一膜は外套外褶の先端をまわって貝殻成長縁に連結し，その内面にメタクロマジアを示さない殻皮が外褶外面上皮によって形成される。

8) 外套外褶外面上皮は稜柱層の内表面をおおって殻皮と全く類似した染色性を示す有機質膜を時々形成する。この有機質膜は稜柱層の成長にともなって稜柱層中に閉じ込められ，水平な層として認められるので内殻皮（interperiostracum）と呼ぶことにする。

謝　辞

終りに臨み，この研究の発表の機会を与えられた国立真珠研究所長池末弥博士，ならびに有意義なご助言を賜り，また本論文の校閲の労を煩わせたテキサス大学歯学部助教授中原皓博士に対して謹んで感謝の意を表する。また終始有益なるご討論を下さった国立真珠研究所町井昭技官，電子顕微鏡観察のための組織固定法をご指導下さった奈良医科大学解剖学教室教授安澄権八郎博士，広島大学教育学部教授川上いつゑ博士，ならびに有益なご助言を下さった群馬大学内分泌研究所教授黒住昌一博士に深謝する。

Summary

In bivalvia, the site of mineralization is located between the mantle and periostracum, which is the covering of a shell, on the outside of the body. Previous reports have indicated that the periostracum is secreted by the epithelial cells lined on the inner side of the outer mantle fold (Yonge, 1957; Beedham, 1958$_a$; Hillman, 1961), and is characteristic of a quinone-tanned protein (Beedham, 1958$_b$; Hillman, 1961). From the biomineralogical point of view, the periostracum may serve functionally not only to make the appropriate site for formation and mineralization of a premineralized matrix but also as the substratum for mineralized layers (Wada, 1967, 1968$_b$).

Recently, several electron microscopic studies were made on the mantle of some bivalvia, and discussed relations between the structure and function of the epithelial cells of the outer and middle mantle folds with reference to the formation of periostracum. Kawaguchi and Ikemoto (1962) described a cell which connects the epithelial cells of both sides of the periostracal groove in the bivalved gastropod, and

named it "basal cell". But they did not pay attention to the functional roles of the basal cell in the formation of periostracum. The detailed observation on the mantle edge of *Macrocallista maculata* by Bevelander and Nakahara (1967) have indicated that the basal cell elaborates "pellicle" which is the most outer layer of the periostracum and shows the periodic structure related with intracellular mechanism of the cell. Futhermore, they pointed out that the inner layers of the periostracum are formed on the inside of the pellicle by the cells located on the lower two-thirds of the outer mantle fold. On the other hand, Kawakami and Yasuzumi (1964) reported that the basement membrane of the outer mantle fold in the basal region of the periostracal groove of *Pinctada fucata* exhibits a folded or branch-like structure to expand an interior surface for the synthesis of protein.

The present study was carried with the mantle edge of one year old Japanese pearl oyster *Pinctada fucata* collected in Ago Bay, Mie prefecture in Japan on June, 1967. The mantle was fixed according to the triple fixation of Sugihara *et al.* (1966) for electron microscopy. That is, several small pieces of the mantle edge were fixed in 6.25% solution of glutaraldehyde adjusted in Na-cacodylate buffer at pH 7.4 for 30～60 minutes. The fixed tissues were fixed in 3.3% solution of potassium dichromate buffered in phosphate buffer at pH 7.4 for 30 minutes. They were postfixed in 1 % solution of buffered osmium tetroxide at pH 7.4 for 1～2 hours. After fixation, tissues were dehydrated and embedded in Epon resin. Sections were stained with uranyl acetate saturated in 50% ethanol or Reynold's lead citrate solution.

The basal cell. Fig. 2 is an electron micrograph of the basal part of the periostracal groove of *Pinctada fucata* and shows the presence of a specialized cell, so-called "basal cell", which markedly differs in appearance from other epithelial cells of the mantle. Basal cells form a row along the junction between the epithelial cells of the outer and middle mantle folds and connects them. The cell is about 9 μ～12 μ thick and pear-shaped (Figs. 3 and 4). Microvilli are absent on the free surface which is concave and plicate. The depth of the hollow measures about 4 μ. The cell has 6～10 lines of the plicae which are parallel each other, at right angle to the tangential line of the mantle and parallel to the dorso-ventral axis of the body (Figs. 1, 3, 6 and 7). The height of the plicae is about 0.5 μ～1.0 μ. The folded and concave free surface is electron-dense and exhibits the presence of secretory substances. The nucleus is located in the basal part near the central region of the cell. Mitochondria are scattered in the cytoplasm and concentrated in the plicae on the side adjacent to the epithelial cell of the outer mantle fold (Fig. 8). The cell contains numerous vesicles, vacuoles, granular endoplasmic reticulum and electron-dense granules (Figs. 3, 4, 5 and 8).

The inner surface of the outer mantle fold. One or more epithelial cells of the

outer mantle fold adjacent to the basal cell have irregularly arranged microvillus-like projections which bend to the outer region of the periostracal groove (Figs. 2, 7 and 9). Mitochondria are abundant in the distal region of the cell. The free surface of columnar epithelial cells of the outer mantle fold except them is provided with numerous microvilli (Figs. 2, 7, 8 and 9). They have numerous granular endoplasmic reticulum, vesicles and small and large vacuoles. The nucleus is situated in the distal part near the central region of the cell. Mitochondria are scattered and few in number. The Golgi apparatus is found in the cells located in the distal region of the mantle fold. The free surface of the epitherial cells swell up and will come off at the root marked by the arrows, as shown in Fig. 15. The terminal part of microvilli swell and is very often in a toy balloon-like expansion.

The outer surface of the middle mantle fold. Some epithelial cells with different appearances are found in the basal region of the middle mantle fold. Several epithelial cells adjacent to the basal cell are more slender and lighter than other cells of the mantle fold (Figs. 2, 5, 7 and 9). The free surface is covered with numerous microvilli. Slender nucleus occupies in the distal part near the central region of the cell, a few mitochondria are scattered, and electron-dense granules are present in the distal part of the cell. Several epithelial cells located on the outside of the lighter cells are characteristic of the cytoplasm filled with numerous vacuoles, vesicles and endoplasmic reticulum (Figs. 9 and 12). The nucleus is situated in the basal part of the cell. Epithelium are shorter immediately toward the middle region of the mantle fold. Few epithelial cell with unusual features as shown in Fig. 19 may be found between the shorter cells in the basal region of the mantle fold. Large numbers of ciliary epithelial cells with microvilli (Figs. 20, 21 and 23) are arranged zonally or in a cluster along the tangential line over the middle region to the distal region of the mantle fold. Characteristic profiles of the ciliary cells are numerous mitochondria distributed between the rootlets of cilia, as pointed out by Lee *et al.* (1965) and Kawakami (1966). They have small and large electron-dense granules in the distal part of the cell and the nucleus is situated in the basal part.

The mucous cell. Secretory substance contained in mucous cells which lie between and under the epithelial cells of the mantle shows a typical metachromasia with 0.01 % toluidine blue solution of pH 3.4 and 7.0. Under an electron microscope, the secretory substance reveals a large granular appearance consisting of loose aggregation of fibers (Fig. 24). The large secretory granules are in the range of diameter of 0.7 μ to 3.8 μ, appear to be extruded into the periostracal groove by the macroapocrine mechanism classified by Kurozumi (1965) and then break up.

The unicellular glandular cell with large eosinophilic granules. The glandular cells are concentrated under the epithelial cells which are located over the basal region in

the middle region of the middle mantle fold of *Pinctada fucata*. These are filled with small and large granules in the range of diameter of 0.5 μ to 4.5 μ (Figs. 19, 20 and 24). The granules are electron-dense in the glandular cells under epithelial cells but sometimes reveal a loose aggregation of fine granules in the cells between epithelial cells (Fig. 24). Tsujii (1960) stated that the glandular cells distributed in the middle mantle fold are involved in the formation of the periostracum.

The periostracum. A layer of electron-dense pellicle which is termed by Bevelander and Nakahara (1966) appears to originate in secretory substance extruded by the basal cell, but it can not be found as a layer or membrane in the folded and concave surface of the basal cell (Figs. 3 and 4). A dense pellicle is revealed in a narrow periostracal groove between the first epithelial cells of the outer and middle mantle folds neighboring on the basal cell and starts from the outlet of the hollow of the basal cell. The thickness of the pellicle is in the range of 60 mμ to 100 mμ over the whole region of the periostracal groove, but its appearance changes in different regions (Figs. 12, 13, 16 and 17). The membrane of the pellicle begins to be folded from the inner surface of the outer mantle fold toward the outer surface of the middle mantle fold. This occurs at the portion which the periostracal groove enlarges in the basal region of the mantle folds (Figs. 10 and 11) and thereafter is folded many times over. Consequently, the pellicle exhibits a complex, folded or branch-like appearance in the basal region of the groove in a longitudinal section of the mantle (Fig. 12). The width of folds of the pellicle increases in the middle region of the groove (Fig. 16) and at last it shows a simple wavy layer in the outer region (Fig. 17). Secretory substances (Figs. 10, 11, 16, 17 and 25) are present between the pellicle and the inner surface of the outer mantle fold, however this substances never develop in periostracum. The fine granular secretory substance (Figs. 13 and 25) embedded between the pellicle and the outer surface of the middle mantle fold disappears in the outer region of the groove. On the other hand, eosinophilic matrix which corresponds to periostracum is formed on the inner surface of the pellicle and prismatic layer through the outer epithelial cells located in the distal region of the outer mantle fold. The periostracum appears, therefore, to be added from the outer epithelial cells, and that enclosed in the prismatic layer may be called a "interperiostracum". The facts suggest that secretory substances extruded by the unicellular glandular cell with large eosinophilic granules, the outer epithelial cells of the middle mantle fold and the inner epithelial cells of the outer mantle fold appear not to transform into the constituent parts of the periostracum in *Pinctada fucata*.

文　献

Beedham, G. E. 1958$_a$. Observations on the mantle of the Lamellibranchia. Quart. J. micro. Sci. **99**: 181—197.

———— 1958$_b$. Observations on the non-calcareous component of the shell of the Lamellibranchia. Quart. J. micro. Sci. **99**: 341—357.

Bevelander, G. and Nakahara, H. 1967. An electron microscope of the formation of the periostracum of *Macrocallista maculata*. Calc. Tiss. Res. **1**: 55—67.

Hare, P. E. 1963. Amino acids in the proteins from aragonite and calcite in the shells of *Mytilus californianus*. Science **139:** 216—217.

Hillman, R. E. 1961. Formation of the periostracum in *Mercenaria mercenaris*. Science **134**: 1754—1755.

Kawaguti, S. and Ikemoto, N. 1962. Electron microscopy on the mantle of the bivalved gastropod. Biol. J. Okayama Umiv. **8**: 1—20.

Kawakami, I. K. and Yasuzumi, G. 1964. Electron microscope studies on the mantle of the pearl oyster *Pinctada martensii* Dunker. Preliminary report. The fine structure of the periostracum fixed with permanganate. J.Electron Microscopy **13:** 119—123.

Kawakami, I. K. 1966. Electron microscope studies on the structure of mantle of the pearl oyster. Electron Microscopy **2**: 417—418. Sixth Inter. Cong. Electron Microscopy, Kyoto.

黒住一昌　1965. 分泌の形態学に関する電子顕微鏡的研究. 電子顕微鏡学会誌 **14:** 12—26.

李国震, 岡田清文, 吉田政子, 福井秀子, 川上いつえ　1965. アコヤガイ外套膜の表面構造の電子顕微鏡的研究. 奈良医学雑誌 16：597—606.

中原　皓　1962. アコヤガイ外とう膜と真珠袋上皮細胞におけるカーミン粒子の摂取について. 国立真珠研報 **8:** 879—883.

Nakahara, H. and Bevelander, G. 1967. Ingestion of particulate matter by the outer surface of the mollusc mantle. J. Morph. **122:** 139—146.

Sugihara, R., Lee, K. J., Sugioka, T. and Yasuzumi, G. 1966. Experiments on triple fixation for electron microscopy. Electron Microscopy **2**: 25—26. Sixth Inter. Cong. Electron Microscopy, Kyoto.

Takatsuki, S. 1934. On the nature and function of the amoebocytes of *Ostrea edulis*. Quart. J. micro. Sci. **76:** 379—431.

Tsujii, T. 1960. Studies on the mechanism of shell- and pearl- formation in mollusca. Jour. Fish. Pref. Univ. Mie **5:** 1—70.

Wada. K. 1964. Studies on the mineralization of the calcified tissue in molluscs—VII. Histological and histochemical studies of organic matrices in shells. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. **9:** 1078—1086.

———— 1966. Studies on the mineralization of the calcified tissue in molluscs—XII. Specific patterns of non-mineralized layer conchiolin in amino acid composition. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. **33:** 304—311.

———— 1967. Studies on the mineralization of the calcified tissue in molluscs—XVI. Amino acid composition of mucous substance secreted through inner surface of mantle of some marine bivalves. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. **33:** 1007—1012.

———— 1968$_a$. 外套膜の分泌物の放出機序の電子顕微鏡的研究. 日本水産学会年会にて口頭発表.

———— 1968$_b$. 軟体動物の貝殻形成機構—とくに鉱物化について—. 医歯薬出版（印刷中）

Yonge, C. M. 1957. Mantle fusion in the Lamellibranchia. Pubbl. staz. zool. Napoli. **29:** 151—171.

Explanation of Figures

Abbreviations used in Figures

B, basal cell; *bm*, basement membrane; *c*, cilia; *cj*, cell junction; *g*, granular layer; *Ga*, Golgi apparatus; *m*, microvilli; *mc*, mucous cell; *mi*, mitochondria; *MF*, middle mantle fold; *n*, nucleus; *OF*, outer mantle fold; *p*, plica; *Pel*, pellicle; *Pg*, periostracal groove; *ugc*, unicellular glandular cell with large eosinophilic granules.

Fig. 2 Longitudinal section of the basal part of the periostracal groove, showing a "basal cell" located at the junction between the epithelial cells of the outer and middle mantle folds. Note fine wrinkles in the dense part of the basal cell. A thin layer of electron-dense pellicle formed in narrow groove between the epithelial cells of each mantle fold originates in the basal cell. × 4,400.

Fig. 3 Electron micrograph of the basal cell in the tangential section of the mantle. Note that the dense part of the basal cell seen in Fig. 1 is the free surface caving in at its center and indented by several plicae. × 5,800.

Fig. 4 Electron micrograph of the basal cell, showing the folded and concave surface and pear-like shape of the cell. × 5,800.

Fig. 5 Showing numerous vacuoles, vesicles, granular endoplasmic reticulum and electron-dense granules contained in the basal cells. × 4,500.

Fig. 6 Electron micrograph showing a cross section of the plicae of the basal cell. The electron-dense zones are the surface of the plicae. × 32,000.

Fig. 7 Cross section of the basal part of the periostracal groove. The epithelial cells of the middle mantle fold are found around the basal cells, and microvillus-like projections of the epithelial cells of the outer mantle fold in secretory substances filled between the pellicle and the inner surface of the outer mantle fold. ×5,600.

Fig. 8 Oblique cross section of the basal part of the basal cells. Small chambers are representative of a row of the plicae and occupied with numerous mitochondria, vesicles and vacuoles. Note that many branches of the basement membrane are interposed into the cytoplasm of the basal cells and between them. × 3,200.

Fig. 9 Electron micrograph of the epithelial cells of the outer and middle mantle folds adjacent to the basal cell. The epithelial cell of the outer mantle fold is characteristic of microvillus-like projections and that of the middle mantle fold lighter cytoplasm and electron-dense granules immediately under the free surface. × 7,600.

Fig. 10 A thin layer of electron-dense pellicle and secretory substances enclosed between the pellicle and the inner surface of the outer mantle fold, showing the beginning of the fold of the pellicle. ×5,500.

Fig. 11 Electron micrograph showing the advance stage of folding of the pellicle in the portion which the periostracal groove enlarges. Note that the projections of the pellicle are pushed out into the groove by the pressure of the secretory substances extruded by the epithelial cells of the outer mantle fold. ×3,800.

Fig. 12 Complex branch-like appearance of the pellicle in the basal region of the periostracal groove. × 2,300.

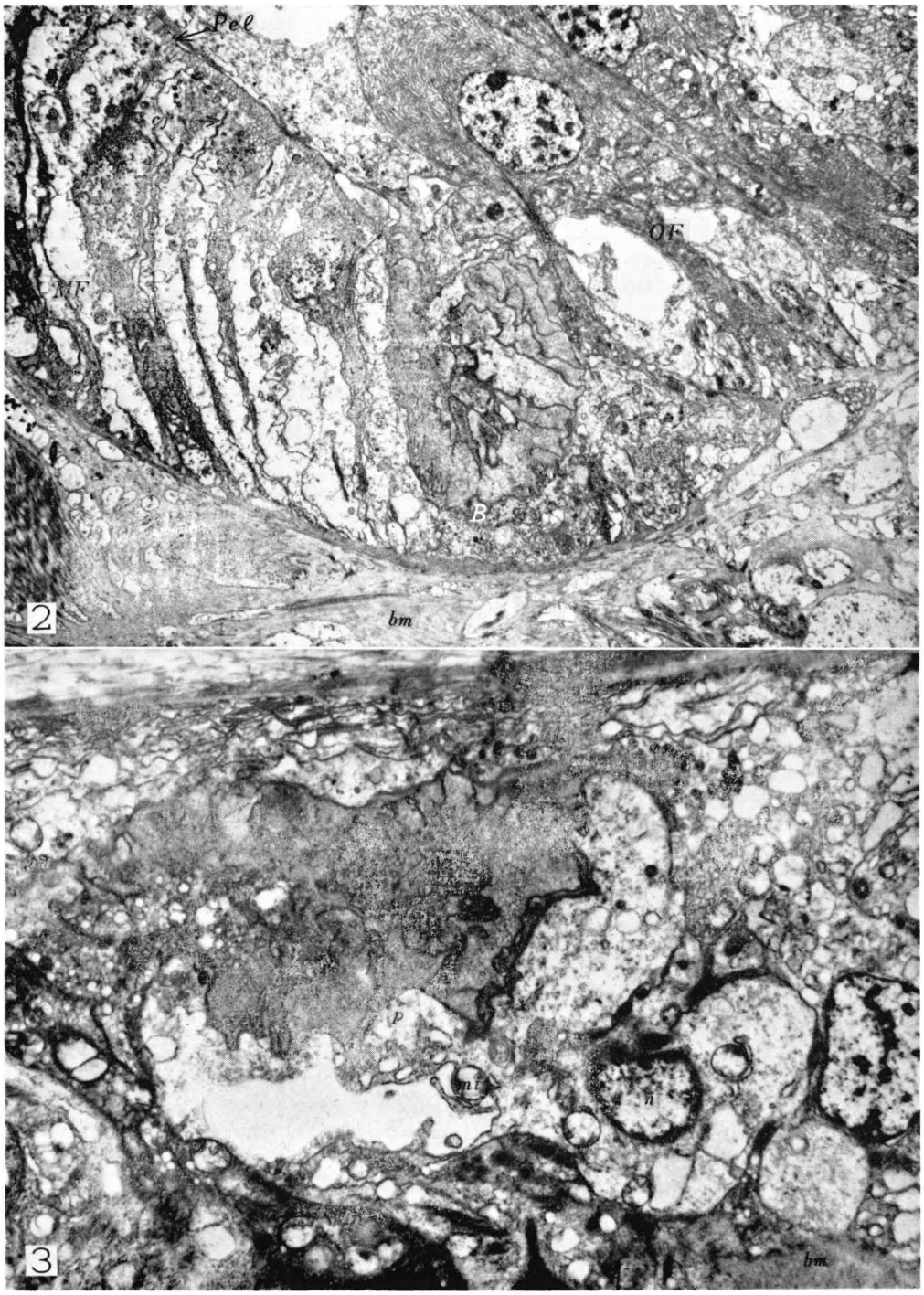
Fig. 13 Laminar appearance of the pellicle in a tangential section of the basal region of the periostracal groove. Note granular substance filled between the folds of the pellicle on the outer surface of the middle mantle fold. × 2,600.

Fig. 14 Electron micrograph showing the structureless membrane of the pellicle of *Pinctada fucata*. × 11,000,

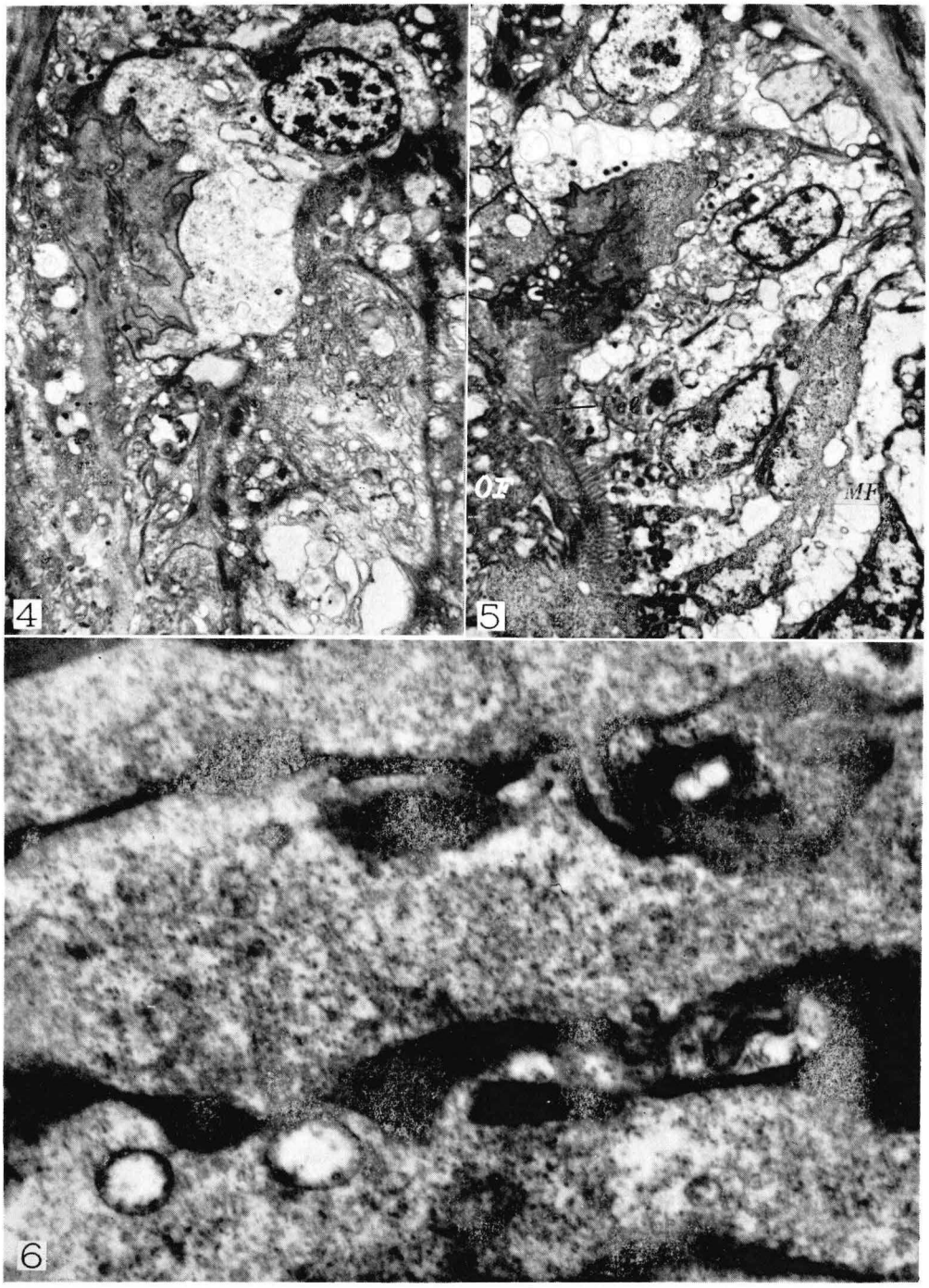
Fig. 15 Toy balloon-like projections of the free surface of the epithelial cells of the outer mantle fold. × 3,100.

Fig. 16 Expansion of the projections of the pellicle covering the epithelial cells of the outer mantle fold in the middle region of the periostracal groove. × 3,500.
Fig. 17 Simple wavy membrane of the pellicle covering the epithelial cells of the outer mantle fold in the outer region of the periostracal groove. × 5,600.
Fig. 18 Granular endoplasmic reticulum surrounding nucleus in the epithelial cell of the outer mantle fold located in the basal region of the periostracal groove. × 20,000.
Fig. 19 Unusual cells located in the basal region of middle mantle fold. × 4,000.
Fig. 20 Ciliary cells with microvilli and unicellular glandular cells in the middle region of the middle mantle fold. × 3,100.
Fig. 21 Higher-power electron micrograph of the distal part of the ciliary cell. × 8,200.
Fig. 22 Cross section of the inner epithelial cells located in the middle region of the outer mantle fold. ×. 11,000.
Fig. 23 Cross section of the ciliary cells. × 5,500,
Fig. 24 Electron micrograph of mucous cell and unicellular glandular cell interposed between the inner epithelial cells of the outer mantle fold. × 5,000.
Fig. 25 Loose network or fibrous structure formed in the secretory substances extruded by the inner epithelial cells of the outer mantle fold in the basal region of the periostracal groove. × 5,500.

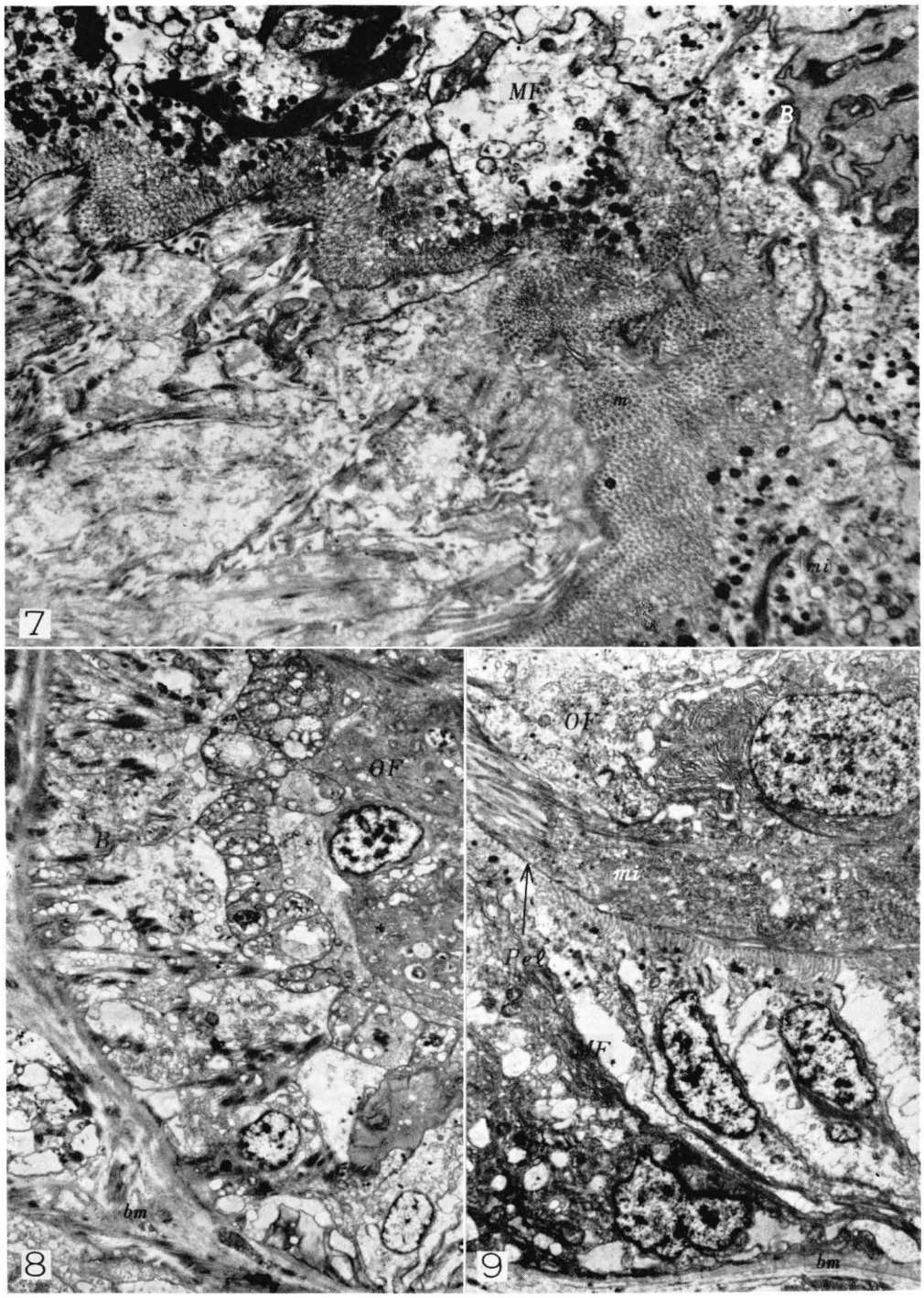
Figs. 2, 3.



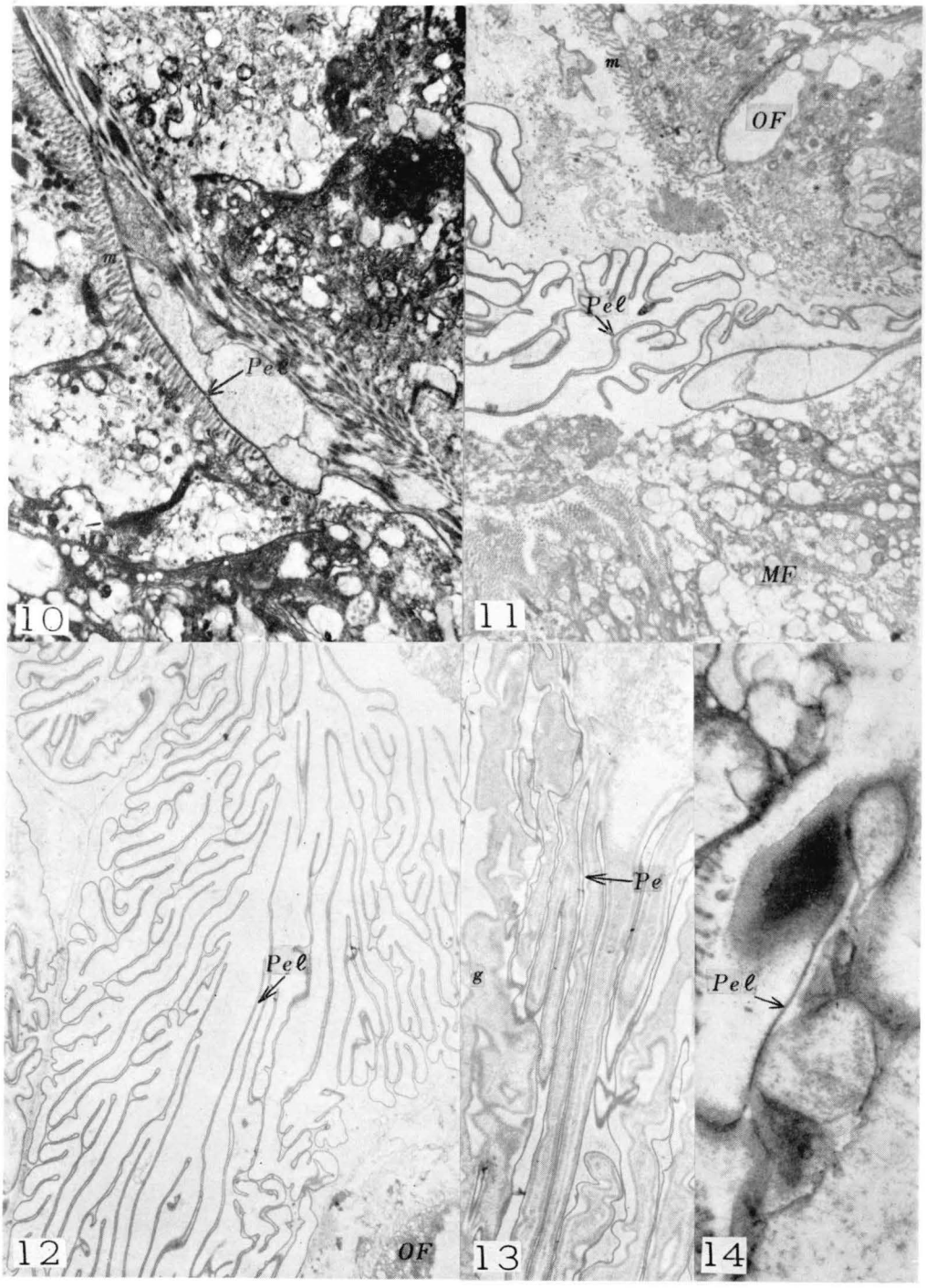
Figs. 4 ～ 6.



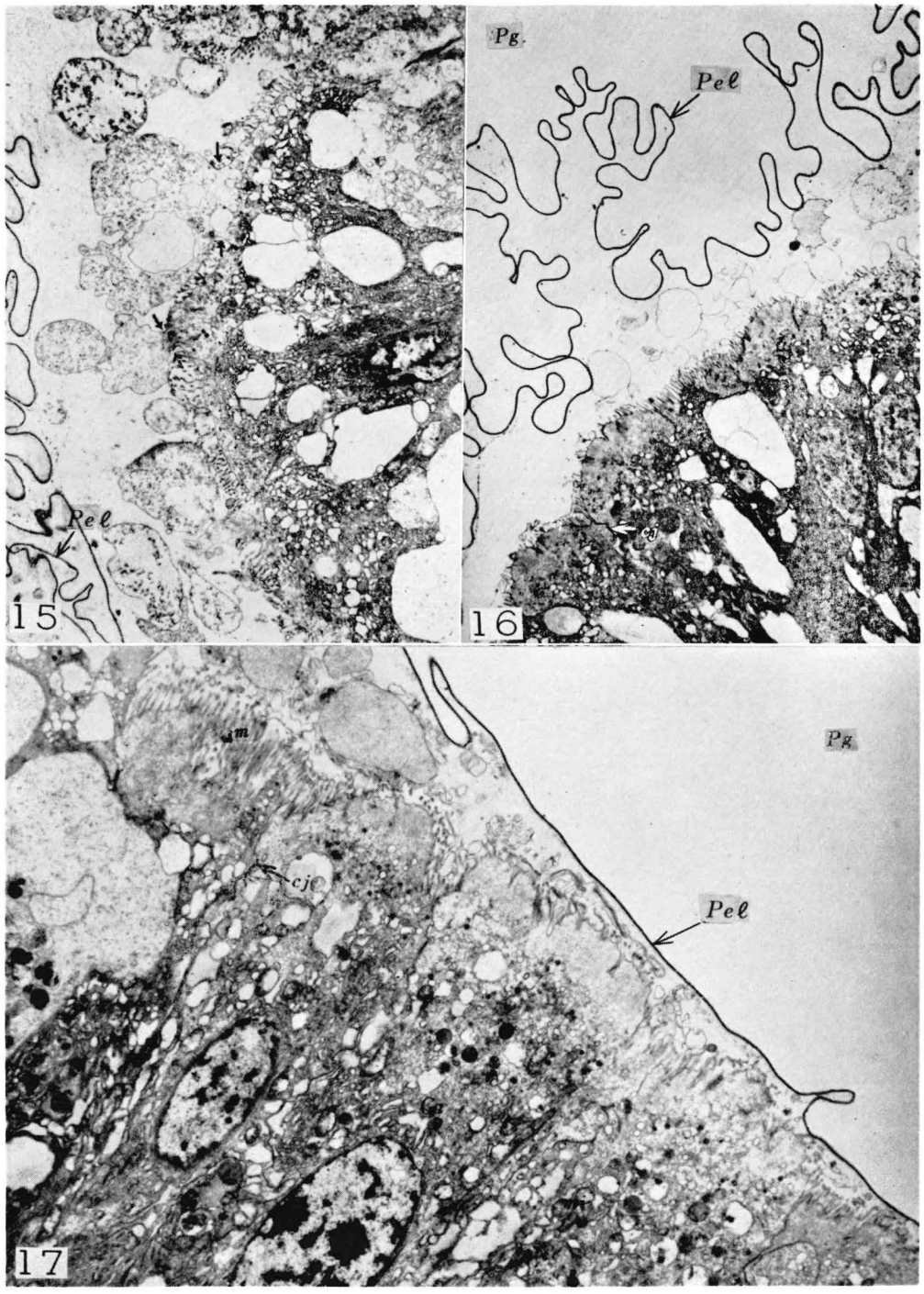
Figs. 7 ～ 9.



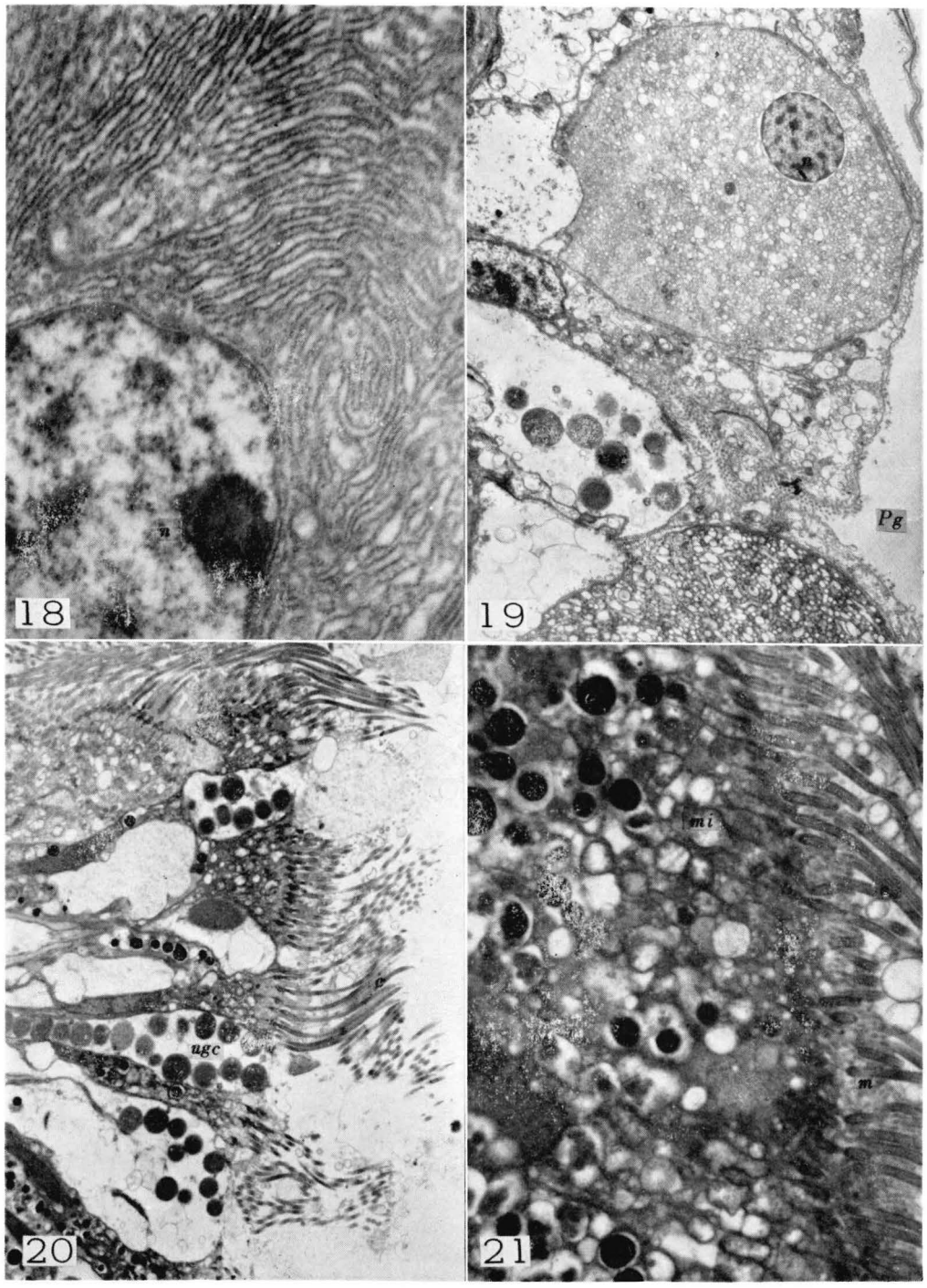
Figs. 10 ～ 14.



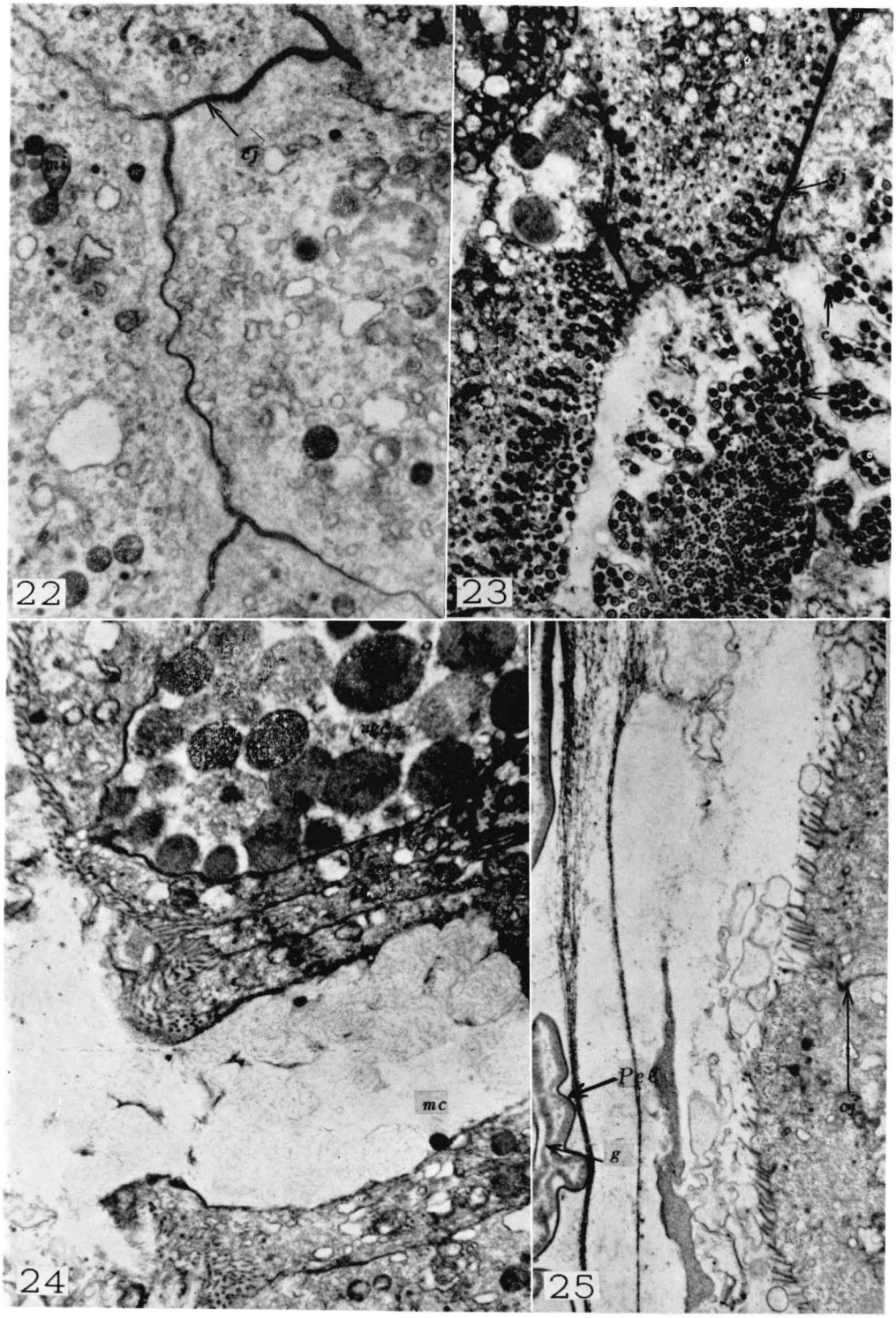
Figs. 15 ～ 17.



Figs. 18 ～ 21.



Figs. 22 ～ 25.



真珠層の成長機構*,†

和　田　浩　爾
国立真珠研究所

内　　容

Ⅰ. はじめに …… 1561
Ⅱ. 観察材料と方法 …… 1563
Ⅲ. 観察 …… 1563
Ⅳ. 考察 …… 1570
1. 貝殻の鉱物化 …… 1570
2. 鉱物薄板の生成 …… 1572
3. 鉱物結晶と conchiolin との交互沈着 …… 1574
4. 真珠層構造の形成 …… 1578
5. 真珠品質論とその養殖への展開 …… 1580
Ⅴ. 要約 …… 1581
Ⅵ. 謝辞 …… 1582
Ⅶ. English Summary …… 1582
Ⅷ. 文献 …… 1586
Ⅸ. Explanation of Figures …… 1589
Ⅹ. Figures …… 1590

はじめに

真珠や貝殻の真珠層は真珠袋ないし外套上皮から分泌された溶液からの晶出物で，conchiolin と称する膜状の有機基質と aragonite の微結晶とが交互に繰返し重畳した層状構造を示す。分泌液から有機基質と鉱物結晶とが交互に沈殿する機構については，上皮細胞

* Koji Wada. Mechanism of growth of nacre in bivalvia. With English summary, p. 1582. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 13 : 1561—1596. 1968.
† 国立真珠研究所業績 No. 167.（国立真珠研究所報告 13 : 1561—1596. 昭和43年7月）

—粘液細胞も含む—が conchiolin と $CaCO_3$ とを周期的に交互に分泌すると従来は考えられており，鉱物薄板の形成周期について3説が発表されている。すなわち大森（1948）は養殖真珠の真珠層の単位鉱物薄板の厚さを光学顕微鏡によって測定し，単位鉱物薄板の形成周期は1日に2回おこり，潮汐変化が一作用因子であるとし，1日2層形成説を唱えた。内田・上田（1947）は真珠層による光の反射スペクトルをとり，1日1層形成説を唱えた。森（1948）は貝の日周期活動から1日1層形成説を支持し，その作用因子として太陽エネルギーの変化による貝の新陳代謝の日周期変化を考え，小林・東畑（1949）も貝殻成長の年変化を調べ，これを支持した。一方，渡部（1950）は同一期間養殖して巻きの異なる真珠の単位鉱物薄板の厚さを測定し，層の厚いものほど1日平均の成長数は多く，2，3，4など変化がきまっていないと指摘し，多層形成説を唱えた。その後 Wada（1961$_b$, 1962, 1964$_b$）は真珠層表面の aragonite の微結晶の成長を調べ，冬期あるいは何かの原因で貝の生活活動が低下すると既に沈着していた結晶が溶解すること，外套から分泌された^{45}Caは各単位鉱物薄板の成長前線に取り込まれることを観察した。また歪形真珠の層の厚い部分と薄い部分との単位鉱物薄板の厚さを測定し，細胞の分泌活動の差にともなって単位時間に供給される貝殻物質の量と conchiolin 化（和田，1968$_b$）とに差を生ずると単位鉱物薄板の成長量が変化すると考えられることなどから，1日に幾層が形成されるか決め難いことを暗示した。

組織学的および組織化学的研究は機能的に専ら conchiolin あるいは Ca のいずれかを分泌する特殊な腺の発達は外套に認められないことを示し（Hayashi, 1937; Bevelander and Benzer, 1948; Ojima, 1952; Beedham, 1958; Tsujii, 1960），生化学的研究は Ca は酸性ムコ蛋白と結合した状態で外套外面上皮を通過し conchiolin 化にともない遊離するもの（田中・波多野，1956, 1963）と無機イオン状態で分泌されるもの（堀口, 1959, 1968）との2形がある可能性を暗示した。

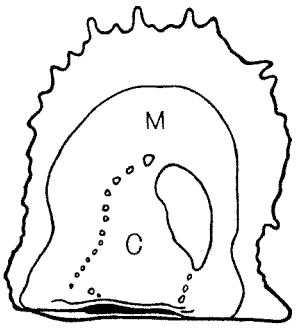
中原（1961$_a$）は真珠と真珠袋とをはなさずに組織切片として観察し，真珠と真珠袋との間にある粘液層は真珠の表面に近づくにつれて明瞭な層状構造を示すようになることを認めた。この事は真珠の鉱物化は conchiolin によって形成された層状構造の中でおこることを暗示する。もし真珠層の骨格が conchiolin によって粘液層中に先ず形成されたのち鉱物化がそこにおこるとすると，鉱物結晶の成長にともなう層状構造の乱れはおこらないことが期待される。渡部（1950）は真珠の成層状態は同心円的でなく，むしろ規則性を欠くと報告した。層が途中で消失したり，2ないし3層に分岐する理由として，渡辺(1950)はある方向に1日でおこった変化が他の方向では数日を費しておこなわれたと推定し，有機膠状体 conchiolin 中に $CaCl_2$ が拡散する際に　膠状 $CaCO_3$ の沈殿→過飽和限界に達して aragonite 化→膠状 $CaCO_3$ の沈澱　という周律変化をおこし，途中で分岐したり消失することのある縞を生ずると考え，真珠層の形成機構はリーゼガング環の生成機構と同じであると報告した。

以上のように，真珠層の成長機構やそれに関与する分泌活動については不明な点が多い。これらの問題を生鉱物学的に追究することは軟体動物の鉱物化組織の成長機構を明らかにするための基礎研究として重要であるだけでなく，成長模様の変化と Ca 分泌活動との関

係を求め，その実体を明らかにすれば，成長模様の観察により貝の生理状態におよぼす生息環境条件の影響を Ca 分泌活動の立場から推察でき，漁場診断および貝の生理状態を判定する指標として，養殖管理に有益な知識をもたらすであろう。著者は真珠層の鉱物薄板の成長機構を今回は特に詳細に調べたので，その結果にもとづいて真珠層の成長機構について種々の考察を試みた。

観察材料と方法

観察に用いた材料は1961年から1967年までの毎年8月から10月に採集した3年ないし4年生アコヤガイの新鮮な貝殻真珠層である。材料は採集して直ちに軟体部を切除し，流水にて真珠層表面に付着する粘液を裸手で洗い，蒸溜水で十分に清浄し，室温で2日間乾燥した。そのほか軟体部を切除してのち付着粘液を洗い落さずに，(1)直ちに乾燥したもの，(2)80%エタノールに数分間固定したのち乾燥したもの，(3)蒸溜水に数分間漬けてのち乾燥したものなどについても観察をおこなった。



Text-fig. 1 Showing the regions of nacre observed by an electron microscope. C: central area. M: marginal area.

鉱物薄板の成長過程を観察するため，アセチルセルロース・カーボン2段レプリカの常法に従って Text-fig. 1 に示した M, C の部分から真珠層表面のレプリカをつくり，日立 HS-7 型電子顕微鏡で観察した。

結晶粒の大きさは写真から長径 d_l と短径 d_w を測定し，二軸平均径 d_{l+w} として表示した。単位鉱物薄板の厚さおよびそのテラス面に成長した結晶粒の厚さ d_h を概測するため，シャード・アングルを $\tan\theta=1$ ないし½とした。なおシャドー金属には高純度の Cr ないし Ge を使用した。

観　　察

真珠層の成長面を反射顕微鏡で観察すると，種々の成長模様がみられる。この成長縞は方位配列した鉱物結晶が接合してできた単位鉱物薄板の成長前線が集合してつくる階段で (Fig. 1)，あるものは途中から追加されあるいは消失し，また生成条件により外見を変える。すなわち真珠層はその表面に階段をつくり，それが前進することによって成長する。

(1) 階段の形成

Fig. 1 に矢印で示した成長縞の起点を電子顕微鏡で観察すると三つのタイプに区別できる。

第一のタイプは，ラセン転位の束を媒介とした成長によってできた aragonite 結晶の (001) 面上の高さの大きい渦巻階段が真珠層の成長階段としても役立つ場合である (Fig. 1 の矢印 *a* と Fig. 2)。このタイプは真珠層の渦巻成長丘の中心ではごく一般的に，他の

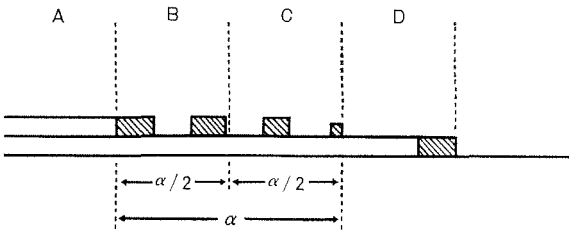
部分でも頻繁に観察できる。一方，単結晶上の厚い段高からなる渦巻はせいぜい1～2回転する程度にしかすぎない。たとえば，Fig. 2 で階段 S_2 は鉱物薄板のテラス T_2 に矢印で示した結晶の（001）面の渦巻成長を介して先ず生ずる。単結晶の渦巻階段に結晶 a_1, a_2, a_3, ……が接合すると新しい単位鉱物薄板の階段 S_2 が発達する。このラセン成長した結晶をはじめとし，s_1, s_2, s_3, …… の結晶はテラス T_1 と小角度で傾むき，のりあがり，階段 S_1 をつくる。このように小傾角で接した結晶の境界に生じた階段は多くの場合その起点にラセン成長した単結晶が位置している（Fig. 1 の矢印 *a*）。単結晶の渦巻階段は真珠層の渦巻成長丘の中心に発達したものを除くと新しい階段をつくる前にしばしば消滅する。

Fig. 3 は第二のタイプを示す。結晶 s_1, s_2, s_3, …… および s_1', s_2', s_3', ……はそれぞれテラス T_3 に対して小角度で傾むきながらのりあがり階段 S_4, S_5 をつくるが，階段の起点 O_1 および O_2 に位置する場所にラセン成長した単結晶がみられない（Fig. 1 の矢印 *b*）。第一と第二のタイプとは外見的に多少異なるが，第一のタイプで指摘したラセン成長した単結晶の渦巻階段が真珠層の成長階段の形成に寄与しない場合，両タイプは本質的に同一とみなせる。

第三のタイプはテラス面に散在して生成した二次元核から成長した微結晶がやがて互いに接着し，島状の鉱物薄板に発達し，そこに階段とテラスとがつくられる場合で，Fig. 4 に示した。真珠層が成長する最初は総てこのタイプであるが，島状の鉱物薄板が生成したのちは環状の成長丘の中心以外には観察できない。Fig. 4 に示した環状の成長丘の最上段のテラス面 T_5 に生成した3コの結晶 f_1, f_2, f_3 は，後述するように粒子径から結晶 f_3 が先ず生成したと考えられる。最初の結晶は多くの場合にテラスのほぼ中央に位置して生成するが，必ずしもそうするとはかぎらずテラスの縁に近接して形成される場合もある。新しい結晶がやがてその周辺に次々に生成し，大きさを増大して互いに接着し，テラスの上に島状の鉱物薄板を形成する。このタイプは階段の前進に寄与する結晶がテラス面に生成する機構と全く同一の機構を介して生ずる。

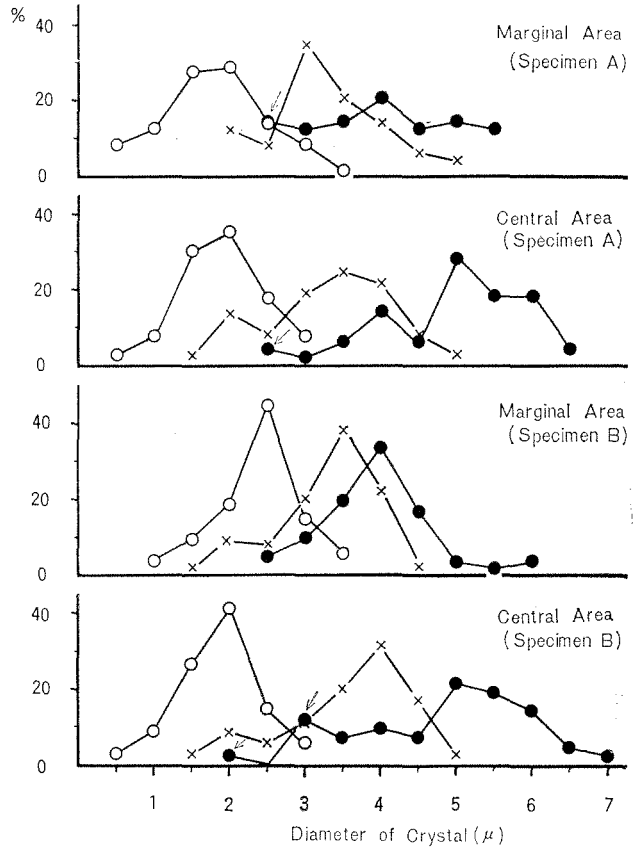
(2)　階段の前進

鉱物薄板の成長前線に成長した結晶粒径を，(A)テラス部分，(B)階段基部から結晶の生成前縁までの距離を½にし，その階段基部側，(C)その結晶の生成前縁側，とにわけて（Text-fig. 2）測定し，Text-fig. 3 に示した。階段に包含されてない結晶粒の二軸平均径 d_{l+w} のモードは貝殻の腹側（Text-fig. 1 の M）の真珠層で 2.5～3.5μ，その生成密度は 8×10^2～1.1×10^2/mm^2 であり，貝殻中央（Text-fig. 1 のC）の真珠層で 1.5～2.0μ と 3.5～4.0μ，4.8×10^2～5.5×10^2/mm^2 である。またテラスをつくる結晶粒の d_{l+w} のモードとその生



Text-fig. 2 Schematic representation of the growth front of a mineral lamella. A : terrace. B : basal region. C : middle region. D : peripheral region.

成密度は真珠層のM附近でそれぞれ 3.5～4.5μ, 8×10^2～9×10^2/mm^2, C附近でそれぞれ 5.0～6.0μ, 5.3×10^2～5.5×10^2/mm^2 である。一般的に接合していない結晶粒の大きさは階段の基部近くほど大きく，その生成密度は A, B, C の3領域間で大差が認められない。しかし結晶粒径は生成密度が大きいと小さく，同一貝殻のM, C域の真珠層では貝殻腹部の結晶粒径が中央部のそれよりも小さいことがわかる。また Text-fig. 3 からわかるように，単位鉱物薄板ごとに成長前線に散在して成長した結晶の粒径を調べると，位相を生じており，この位相は真珠層の同一域で上下に接して重畳した鉱物薄板でも互いに多少ずれる。このことは階段の前進に寄与する結晶が各鉱物薄板の成長前線ごとに独立に生成していることを暗示する。結晶の生成密度は晶出条件によって著しく変動するが，夏から秋に採集した標本について言えることは，生成密度がある程度以上に達すると可顕的な結晶の生成が著しく減少し(Fig. 5 の f_{10} および Text-fig. 3 で矢印したピークの一部がこれに相当する)，階段附近にできた空孔や湾入中には生成しにくくなる。しかし結晶の粒度，形態，集合状態，生成密度などは採集時期や貝の生理状態によって著しく異なり，晩秋から冬眠まで冬眠覚醒から夏までは以上の観察結果と異なる点も多い。



Text-fig. 3 Comparison of the crystal size ($d_{l+\infty}$) at the growth front of a mineral lamella developing in the marginal and central regions of the nacre of two shells in *Pinctada fucata*. —●— : the region A. —×— : the region B. —○— : the region C. (refer to Text-figs. 1 and 2).

(3) 結晶の生成

鉱物薄板のテラス面に成長した結晶の多くは Figs. 2～5 に示したように 1.0 μ 以上である。この理由として (i) 結晶は 1.0 μ の大きさに達するまで急速に成長するため低倍では微細な結晶をみおとす，(ii) 1.0 μ 以下の結晶は基板にたいして付着力が弱いため試料の水洗およびレプリカ作製中に脱落して失なわれる，あるいは (iii) 結晶は分泌液中で約0.5～1.0 μ の大きさになる

まで成長してのちテラス面に沈澱するなどが考えられる。

軟体部を除去して直ちに真珠層内面を乾燥して作製したレプリカを観察すると真珠層の成長面にみられる結晶や階段は非晶質物によっておおわれて不明瞭であり，d_{l+w} が 1.0μ 以下の結晶粒が大きな結晶間を埋めて多数沈着している像がしばしば認められる (Fig. 6)。この粒状結晶のほか，立方状および針状の結晶が非晶質物の中や上に沢山沈澱している (Figs. 7 と 8)。真珠層から剝離した結晶は認められない。

軟体部を切除した試料面を80%エタノールで固定し，乾燥してのちレプリカを作製すると，部分的に繊維状構造がみられることのある非晶質物が真珠層表面をおおうため，成長している結晶と階段との輪廓はあまり明瞭でない。d_{l+w} が約 1.0μ 以下の粒状の結晶が非晶質物の中や上に沢山認められ (Fig. 9)，針状結晶が沈着していることもある。しかし真珠層表面から剝離した結晶は認められない。

軟体部を切除した試料面を蒸溜水に漬けて乾燥ののちレプリカを作製して観察すると，そこに成長していた結晶や階段の輪廓は非晶質物が厚くおおっているところでは不明瞭であり，そのほかのところでは水洗した試料に類似している (Fig. 10)。テラス面や結晶面をおおう膜状物の構造は水洗した試料と大差なく，また繊維状構造が部分的にきわめて明瞭にみられるが，テラス面の結晶境界は不明瞭なことが多い。d_{l+w} が 0.5～1.0μ の結晶は他の各サイズ別の結晶の数に匹敵するほど認められ，0.1μ 以下の結晶が多数生成している。しかし未処理試料やアルコール処理試料にみられた立方状および針状の結晶は認められない。真珠層から剝離した結晶はみられない。

軟体部を切除して流水で粘液を流し落し，乾燥した真珠層表面からレプリカを作製すると，d_{l+w} が 0.5～2.0μ の大きさの結晶がかなり剝離し，その数は乾燥時間に比例して増加する傾向を示す。テラス面を10,000から20,000倍で観察すると，d_{l+w} が 0.1μ 以下の小さな結晶がテラスをつくる結晶の境界，隅，稜および面にかなり生成しており (Fig. 13)，また散在して成長した結晶の (001) 面にもみられることがある (Fig. 14)。この小さな結晶はテラス面ないし散在した結晶の(001)面に吸着した interlamellar matrix* 上に生成していることが微粒子状ないし繊維状構造膜の存在から推察できる。Fig. 5 と 13 を比較するとわかるように d_{l+w} が 0.5μ 以上に成長した結晶の多くがテラス面にみられる結晶境界に位置して成長するのに対し，d_{l+w} が 0.1μ 以下の結晶は結晶境界のほか結晶の隅，稜，面などにも盛んに生成する。

以上に述べた試料処理法の差によりおこった異像から，結果を次のようにまとめることができる。

(i)　結晶核は鉱物薄板のテラス面および散在して成長した結晶の (001) 面に吸着した interlamellar matrix 上に生成する。

(ii)　テラス面にあらわれた結晶境界あるいはその附近に生成した結晶核が安定して

---

* 貝殻に含まれる有機基質は総括して conchiolin と呼ばれ，その分布状態から真珠層で (i) 結晶粒間に分布するものは intercrystalline matrix，(ii) 結晶中に含まれるものを intracrystalline matrix，(iii) 鉱物薄板間に分布するものを interlamellar matrix とそれぞれ名付けられた (Grégoire, 1957, 1966; Watabe, 1965)。

成長しやすく，分泌液中の Ca^{++}イオン，$CO_3^{=}$イオン，あるいは $CaCO_3$ 分子の吸着によって成長すると同時に，附近に生成した結晶を融合し，あるいは消費しながら成長すると思われる。

(iii)　d_{l+w} が 0.5～2.0μ の結晶は他の大きさの結晶に比べて剝離しやすい。この大きさの結晶は厚化速度が低下するか停止した直後の結晶の大きさに相当する。

Table 1. The size of aragonite Crystals in Figs. 4 and 5.

No.	Diameter*			
	d_l	d_w	d_{l+w}	d_h
	μ	μ	μ	μ
f_1	1.04	1.20	1.12	0.40
f_2	2.19	1.89	2.04	0.32
f_3	2.19	2.00	2.10	0.40
f_4	2.30	2.19	2.25	0.40
f_5	2.99	2.30	2.65	0.37
f_6	3.11	2.65	2.88	0.37
f_7	3.68	3.22	3.45	0.42
f_8	4.03	4.03	4.03	0.43
f_9	4.49	4.26	4.38	0.40
f_{10}	0.59	0.42	0.51	0.21
f_{11}	1.58	1.30	1.44	0.32
f_{12}	1.58	1.30	1.44	0.32
f_{13}	1.72	1.51	1.62	0.37
f_{14}	1.89	1.58	1.74	0.40
f_{15}	2.52	2.00	2.26	0.32
f_{16}	2.65	2.00	2.33	0.32
f_{17}	2.56	2.31	2.44	0.32
f_{18}	2.94	2.42	2.68	0.28
f_{19}	3.05	2.73	2.89	0.32
f_{20}	3.15	2.63	2.89	0.32
f_{21}	3.26	2.73	3.00	0.32
f_{22}	3.49	2.84	3.17	0.37
f_{23}	3.89	2.63	3.26	
f_{24}	3.68	3.15	3.42	0.37
f_{25}	4.10	3.36	3.73	0.32
f_{26}	4.10	3.36	3.73	
f_{27}	4.10	3.68	3.89	
f_{28}	4.20	3.47	3.84	0.32
f_{29}	4.73	3.26	4.00	
f_{30}	4.41	3.78	4.10	0.40
f_{31}	4.73	3.99	4.37	0.37
f_{32}	5.04	4.20	4.62	
f_{33}	5.25	4.20	4.73	0.32
f_{34}	5.36	4.52	4.94	0.37
f_{35}	5.67	3.99	4.83	0.32
f_{36}	5.67	4.31	4.99	0.37
f_{37}	5.88	5.67	5.78	0.37

* d_l, the lenght of a crystal: d_w, the width: d_h, the thickness: d_{l+w}, $(d_l+d_w)/2$.

(iv)　ある処理法で観察できる立方状，針状，および一部の粒状の結晶は処理過程に生じた異種物質の結晶，たとえばNaClと考えられる。

(v)　したがって$d_{l+\omega}$が0.5～1.0μの結晶が分泌液中に生成し，あるいは外套から分泌され，真珠層表面に沈澱することは一般に考えられない。

(4)　結晶の厚化速度

鉱物薄板の成長前線に成長している結晶の厚さd_hをシャドウイング法で概測し，結晶の$d_{l+\omega}$との比をとると，$d_{l+\omega}$が小さいものほど小さく，大きいものほど大きくなることがTable 1からわかる。すなわち，Text-fig. 1のCで示した貝殻中央部の真珠層の鉱物薄板では階段に包含されつつあるf_8やf_9のd_hはそれぞれ0.43μ，0.40μ，散在して成長するf_1からf_7のd_hは0.32～0.42μ，$d_{l+\omega}$が階段縁のf_8やf_9に比べて½～¼以下であるf_1やf_3のd_hですらすでに約0.40μに達し，f_8やf_9のそれとほぼ類似する(Fig. 4)。また別の貝殻中央部の真珠層から得たFig. 5において$d_{l+\omega}$が約0.5μ(f_{10})，1.4～1.6μ(f_{11}, f_{12}, f_{13})，4.6～4.9μ(f_{31}, f_{32}, f_{33})と階段に包含されたf_{36}，f_{37}とのd_hを比較すると，f_{10}を除いて0.32～0.37μの範囲内にあり階段に包含したf_{36}やf_{37}と大差ない。$d_h/d_{l+\omega}$比では，f_{10}は½～⅓，f_{11}, f_{12}, f_{13}は⅑～$^1/_{11}$，f_{31}, f_{32}, f_{33}は$^1/_{70}$以下である。このことから結晶の(001)面に垂直方向の成長は$d_{l+\omega}$が1.5μに達するまでに急速にすすみ，そののちはごくゆっくりすすむか，あるいは殆んど完全にとまることがわかる。したがって(001)面の発達は結晶側面の成長によっている。なお貝殻腹縁の階段に包含された結晶のd_hは貝殻中央部のそれに比べ一般に小さい傾向を示し，また個体差によってd_hが異なる。

(5)　結晶の形

上述のように結晶の厚化速度は$d_{l+\omega}$が1.0～1.5μに達する頃から著しく遅くなるか完全にとまり，そののちは主に側面が成長して(001)面が大きく発達した板状の結晶となる。Fig. 13にみられる$d_{l+\omega}$が1.4～1.7μの結晶f_{11}，f_{12}，f_{13}およびf_{14}の(001)面には成長階段が密に認められ微斜面をつくるが，$d_{l+\omega}$がそれより大きいものでは階段間隔が広く(001)面は平坦になる。平坦な(001)面が発達しはじめた結晶の(001)面を観察すると，鉱物薄板のテラス面にみられるような繊維状および微粒子状の有機基質が膜状に形成されている(Figs. 3, 4, 13, 14, 15)。結晶の側面は隣接した結晶と接合するまで成長をつづける。多くの二枚貝の真珠層のaragonite結晶では成長が相対的に速い時には側面が凸状に彎曲し，成長が緩漫な時は良く発達した(010)と(110)で境され，また時には(100)と(110)，(100)と(010)と(110)とから，あるいは(110)のみからなる。ハボウキガイでは(100)と(010)が主として発達するほか上述の組合せ面からなる結晶もしばしば成長する。テラスに包含された結晶の側面は隣接した結晶との接合状態により種々に変形し，面指数を決めることが困難な多角形を呈する。散在して成長した結晶が隣接結晶といつどのような状態で接合するかは更に粒子径に影響する。たとえば，Text-fig. 3に矢印で示したピークの一部は階段に包含される以前に隣接した結晶の間にはさまって側面の成長が妨害され，大きく成長できなかった結晶を含む(Fig. 5の結晶f_{28})。

(6)　テラス面の構造

テラス面はaragonite結晶の(001)面に相当し，結晶境界は深さ約100Åの溝として

テラス面にあらわれる（Figs. 3, 4, 5, 13）。鉱物薄板の形成当初には結晶境界の所々に大小の空孔が残されている（Figs. 1, 3, 5）。テラス面には aragonite の（001）面に形成されていた成長階段がしばしば認められるが，その表面は interlamellar matrix によりおおわれていることが表面の繊維状および微粒子状構造からなる平坦な膜の存在によって確認できる（Figs. 3, 4）。脱灰した材料の超薄切片をつくるとわかるように，結晶境界および鉱物薄板間には intercrystalline matrix および interlamellar matrix がそれぞれ存在している。しかし真珠層を酸で腐蝕すると結晶境界に沿って蝕孔が生ずるから，結晶境界は intercryetalline matrix だけが挟まっていると単純にかたずけられない。

(7)　結晶と有機基質との関係

鉱物薄板の成長前線に散在した結晶の面指数を決めるとわかるように，aragonite の微結晶は互いに平行に並んで成長している。Fig. 15 は新鮮な真珠層の自然表面に成長した aragonite の結晶とその（001）面をおおって沈着した interlameller matrix との関係を示す一例である。写真中央の六角板状の aragonite の単結晶は基板結晶と平行成長しており，結晶側面は（001）面にあらわれた面角から（010）と（110）とで境されていることがわかる。したがって，この結晶に記入した+印の長軸方向が結晶のb軸方向に相当し，これと直角に交わる短軸方向および（001）面に垂直な方向がそれぞれａ軸およびｃ軸に相当する。この結晶および基板結晶の（001）面に沈着した interlamellar matrix にみられる繊維素は一定方向に配列して走っており，繊維素の走向を矢印で写真の数カ所に記入した。これによると，結晶のｂ軸は interlamellar matrix を構成する繊維素の走向と非常に良く一致する。また他の例で，繊維素が（110）面にほぼ平行に走っている像を時々認めた。このように結晶はｂ軸を interlamellar matrix の繊維素と良く一致した状態で平行成長するから，ｂ軸は鉱物薄板の階段の前進方向とは必ずしも一致しない（Fig. 4）。

しかし Fig. 5 の結晶 f_{16} のように繊維軸に対して大きな角度差をもって沈着する結晶が時々みられ，また配列が乱れた多数の結晶が吹き寄せられたようにして沈着することもある。

(8)　interlamellar matrix と分泌液中の有機物質

アコヤガイの貝殻および真珠の真珠層を９%EDTA 水溶液（NaOH で pH を 7.4 に調整）で脱灰し，遠心分離器で数回水洗したのち超音波（周波数 50 KC/sec，出力 110 W/sec/cm^2）を使用して破壊すると，Fig. 11 に示すような interlamellar matrix に相当する平坦な膜が得られる。この膜は直径 0.1 μ 以下の円形ないし楕円形の孔が開いたレース状の網目構造を示す。またこの膜には直径 200～300 Å からなる繊維状構造要素が矢印方向に統計的に並んで走るのが認められる。interlamellar matrix に相当する有機基質はレプリカ像では Fig. 13 にみられるように直径約 140～200 Å の微粒子が一列に並んだ繊維素が矢印方向に方位配列した膜として，また Fig. 15 にみられるように微粒子状構造が不明瞭な直径約150～200 Åの繊維素が方位配列した膜としてあらわれる。

真珠層に接する外套外面に粘着した粘液を注射器で採集し，遠心分離器で数回水洗してのち超音波で同様に破壊すると，Fig. 12 に示すような疎な網目構造を示し，matrix にみられるような緻密な膜に発達していない。いずれにせよ，一般的に孔が大きく，多量の非

晶質物をともなっている。また微粒子状ないし繊維状の構造がみられることもある。これら貝殻基質蛋白および粘液物質については超薄切片による観察も加えて別報で詳述する。

考　　察

盛んに成長している真珠層には鉱物薄板が次々に形成される。鉱物薄板は真珠層構造の基本単位であり，方位配列した aragonite の微結晶が intercrystalline matrix を挟んで石畳状に敷きつめられた多結晶集合体で，interlamellar matrix と交互に重畳して一種の“くりかえし多重層薄膜”である真珠層構造をつくる（Wada, 1961$_b$, 1962)。緒言で述べたように真珠層構造の形成機構については未だ明らかでなく，その核心にふれた論文はみられない。今回の観察結果を詳細に生鉱物学的に解析し，真珠層の成長機構を数項目にわけて従来の研究結果と比較して以下に論ずる。

1. 貝殻の鉱物化

ある二枚貝の外套の内外面に分泌された粘液はアミノ酸組成（Wada, 1967$_b$）や酸性ムコ多糖体（古橋・和田，未発表）において良く類似するにもかかわらず，鉱物化は外面に分泌された溶液でのみおこる。すなわち貝殻や真珠の鉱物化にとって外套外面上皮細胞—粘液細胞も含む—あるいはそれに由来する上皮細胞が必要であり，貝殻形成にみられるように上皮細胞と殻皮との間には生息環境が直接関与しない鉱物化の場がつくられるか，あるいは真珠形成やコウイカの甲形成にみられるように上皮細胞は袋として発達し，その内側に周囲組織と直接連絡のない鉱物化の場をつくることが必要である。かかる場がつくられても多くの頭足類や一部の腹足類は鉱物化しない角質からなる甲しかつくれないし，有機質真珠は鉱物化しない有機物からなっている。これらの事実からみると外套外面上皮細細は生物の進化の過程で貝殻や真珠の鉱物化に必要な晶出環境をつくる機能を獲得したに違いないと思われる。すなわち，(i)鉱物化可能な有機基質の前駆物質の合成と分泌，(ii)豊富な Ca と CO_3 の濃縮と分泌とをおこなう機能の獲得，同時に (iii) 分泌された前駆物質を貝殻および真珠の有機基質へ変化させ，そこに鉱物化をおこしうる晶出環境を生みだす機能を獲得したにちがいない。このような機能獲得の結果細胞外に適当な晶出環境がつくられたとしても，細胞は $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ の極端に大きい過飽和濃度をつくることは困難であるから，鉱物化をおこすためには他の適当な機構が存在する筈である。

(1) 鉱物化基質の形成

真珠層有機基質の前駆物質には繊維状，微粒状および膜状の3つの最小単位がみいだされている（和田，1968$_c$)。このうち前二者は糸状ないし疎な網目構造をつくり，膜状のものは少量成分として存在する。このゾル状の前駆物質は貝殻形成過程でゲル状の基質蛋白に不可逆的に変わる。基質蛋白への変化とその鉱物化との過程において酸性ムコ多糖体の著しい減少と蛋白成分の著しい増加とがおこり（和田，1968$_b$)，形態的には多量の非晶質物をともなう疎な網目構造から真珠層基質蛋白にみられる緻密な網目構造へ組み立てられると考えられる。構成成分および形態的変化をともなう conchiolin 化とその鉱物化との過程に何がおこるかをアミノ酸組成の変化から推察すると，(i) 分泌液に含まれる最小単位はそれぞれの単位別に基質蛋白への移行量が異なり，(ii) 最小単位のある成分は真珠層

の形成には本質的には必要でないため基質蛋白では漂移成分として混じるか分解して消失し，また(iii)アミノ酸のあるものは増減するなどが考えられる（Wada, 1967$_a$)。すなわち貝殻形成にとって本質的には必要でない成分や分泌物の溶媒としての水は上皮細胞の嚥飲作用(中原, 1962; Nakahara and Bevelander, 1967)や遊走細胞の貪食作用(Takatuki, 1934)によって鉱物化の場から除去され，最小単位は上述のような変化を通して conchiolin にみられる3次ないし4次構造をつくると考えられる。

(2)　結晶核生成

軟体動物における鉱物化の場は血液，体液，生息環境水などと異なり，形成細胞で合成された蛋白や酸性ムコ多糖体などのコロイド状の有機物の存在によって特徴づけられ，細胞膜の能動輸送機作によって無機元素は種類ごとに通過に難易を生ずる。これらの綜合的な結果として $CaCO_3$ の結晶が生成しやすい条件がつくられると考えられる(和田, 1968$_a$)。分泌液に含まれる最小単位の有機物は貝殻鉱物と類縁した表面構造をもつ有機基質に変化する。これを核として aragonite の核形成が起る際には，核形成エネルギーは自然核発生の場合よりもはるかに低くてすむから，低い $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ の濃度下でも貝殻鉱物結晶の成長が可能となるものと考えられる。有機基質には，同じ *in vivo* の条件で鉱物結晶核生成を誘起できるものとそうでないものとがあり，両者はアミノ酸組成，酸性ムコ多糖体，染色態度，電顕的微細構造などの点で異なっている。これは，立体化学的構造，特に有機基質の表面の特性が貝殻鉱物の形成にとって極めて重要な役割を果していることを示すものといえよう（Wada, 1964$_a$, 1964$_d$, 1968$_b$)。

(3)　結晶の方位配列

軟体動物の貝殻真珠層の aragonite 結晶が方位配列していることは Schmidt (1924), Swamy (1935), Wada(1958, 1961) および Grégoire (1962) によって偏光顕微鏡，X線回折および電子顕微鏡によって明らかにされた。それらによると，二枚貝(Schmidt, 1924; Wada, 1958, 1961) および腹足類 (Swamy, 1935; Wada, 1961) では結晶の b 軸および c 軸が層の水平な成長方向および垂直な成長方向にそれぞれ配列し，頭足類 (Grégoire, 1962) では結晶の a 軸および c 軸がそれぞれの成長方向に配列している。一方，養殖真珠の aragonite 結晶も真珠の表面に水平および垂直な成長方向に b 軸および c 軸をそれぞれ配列している（和田, 1962)。これらの事実は真珠層の成長に関係する生物学的因子が直接あるいは間接に結晶の方位配列に関与することを暗示する。Wada (1961) は X 線回折，電子顕微鏡および偏光顕微鏡などによって真珠層の有機基質に繊維軸があるかどうかを調べ，電子顕微鏡および偏光顕微鏡のもとで繊維軸が存在すると思われる像を観察したが，X線回折では試料作製法あるいは当時のX線回折技術の解析限界をこえていたためか証明することに失敗した。電子顕微鏡や偏光顕微鏡で確認されたように基板の有機基質に繊維軸があると仮定するならば，aragonite 結晶の a および b 軸が基質の構造に規制されて，いわゆる epitaxial growth して真珠層にみられるような結晶の方位配列を生ずると考えられ，この基質が形成される際に加わる外套の拡がる圧力や張力が基質蛋白の繊維軸を規制する一作用因子となると想像できる (Wada, 1961)。Grégoire (1962) は軽く腐蝕した *Nautilus* の貝殻真珠層の表面からレプリカをとり，aragonite 結晶の a 軸が網目構

造を示す interlamellar matrix の膜にみられる瘤の配列方向と一致した配位で成長しているものを認めた。そののち Watabe (1965) は *Pinctada martensii* と *Elliptio complanatus* の貝殻真珠層の aragonite 単結晶の a 軸と b 軸とは intracrystalline matrix の繊維素と平行に配位していることを観察した。Travis *et al.* (1967) は脱灰して得た二枚貝の真珠層の有機基質を超音波で破壊して，その一つの構造要素として方位配列した繊維素を観察している。

今回の観察からわかるように，interlamellar matrix は平坦な網目状の膜であり，主要成分と考えられる直径約 140～200 Å の微粒子状繊維素ないし微粒子状構造が不明瞭な繊維素が方位配列している。微粒子の明瞭な繊維素からなる膜では微粒子は直角に交わる方向にも繊維軸が存在するかのようにみえるが，微粒子の不明瞭な繊維素からなる膜では繊維素に直角な方向には繊維軸が認められない。aragonite 結晶の b 軸はこの繊維素と平行しており，しばしば観察した (110) 面が繊維素と平行したもの—すなわち b 軸と約±30度—を含めると，80～90%以上の結晶が繊維素に並んで成長している。これは，貝殻の鉱物化にあたって先ず形成された基質蛋白の表面構造あるいは電場に関与されて aragonite 結晶が epitaxy に基質上に生成することを暗示する。

2. 鉱物薄板の生成

最初の鉱物薄板は(i)鉱物結晶の基板となる有機基質の形成，(ii)基質面での鉱物結晶核の生成とその成長，(iii)成長にともなう結晶同志の接着 とを経て有機基質のあちこちに島状に生成する。結晶の集合からなる島状の鉱物薄板の階段は微結晶を包含して前進し，それぞれの島状の鉱物薄板が同じ高さで接着して真珠層をおおうと一枚の鉱物薄板として完成し，階段はなくなる。真珠層が成長するためには鉱物薄板のテラス面上に階段が次々に供給されなければならない。ここでは鉱物薄板の生成過程を(1)階段の形成と(2)階段の前進とに大別して考察する。

(1) 階段の形成

鉱物薄板のテラス面は aragonite 微結晶の (001) 面で，外套外面ないし真珠層表面にほぼ平行である。結晶境界には有機物が濃縮され，幅 600Å 以下，深さ 100Å 以下の溝がそこにつくられる。鉱物薄板の段高は真珠層断面で測定した単位鉱物薄板の厚さとほぼ等しく (Wada, 1961*b*, 1962)，また ^{45}Ca がテラス面にほとんど取り込まれない (Wade, 1964*b*) ことから，テラス面の成長は interlamellar matrix の吸着したのち殆んどあるいは全くおこなわれていないと考えられる。したがってテラス面をつくる結晶粒の (001) 面にしばしばみられた微小な高さの成長階段はその結晶面の成長終了時の状態を示すと考えられる。

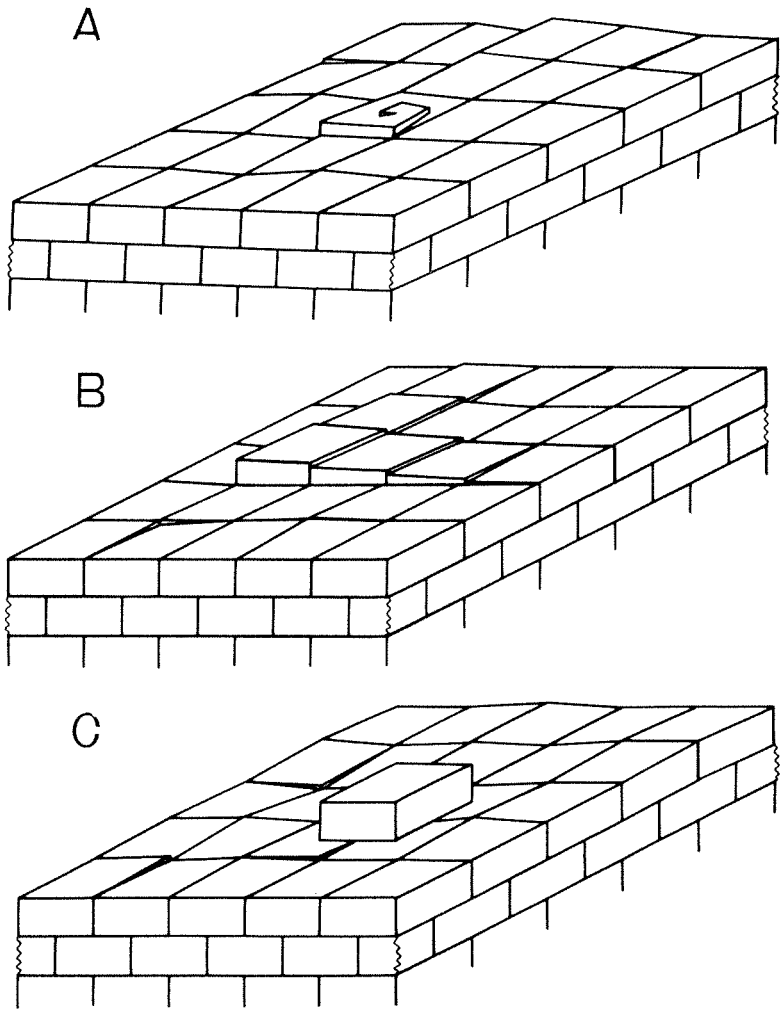
階段がかかる性質のテラス面につくられる様式を今回の観察から三つのタイプに区別することが可能で，それぞれを Text-fig. 4 に模式的に示した。すなわち

(i) ラセン成長した aragonite 単結晶の (001) 面につくられた厚い段高の渦巻成長階段に由来する場合 (Fig. 2, Text-fig. 4A)。

(ii) 小傾角で接合した結晶群ないし結晶間の境界につくられる場合 (Fig. 3, Text-fig. 4B)。

(iii)　テラス面に生成した微結晶が接合して島状の鉱物薄板をつくる場合 (Fig. 4, Text-fig. 4C)。

とである。真珠層に発達する成長丘の中心にはこれら三つの様式の総てがみられ，(i) と (ii) のタイプは本質的に同一で渦巻成長丘をつくり，(iii)のタイプは環状の成長丘をつくる。また成長階段の生成機構を考察すると，(i)と(ii)のタイプは小傾角で接合した結晶群ないし結晶間に生じた stress を解消するためにラセン転位が導入され，その結果真珠層



Text-fig. 4　Schematic representation of three types of formation of a step on the growing surface of nacre.
(A)　From the spiral step on a single crystal.
(B)　From the boundary between two crystals or two groups of crystals which inclined to each other with a small angle.
(C)　From the coalescence of crystals grown on the underlying terrace.

の渦巻成長丘がつくられると考えられ，(iii)のタイプは Kossel model の導入により説明可能と思われる（Wada, 1961$_b$, 1966, 1968$_b$）。真珠層の渦巻成長については別報で詳細に報告する。

(2) 階段の前進

真珠層表面に形成された階段は結晶を包含することによって横方向に2次元的な拡がりで前進し（Wada, 1961, 1964），階段の通過ごとに真珠層は表面に垂直方向にその厚さだけ成長する。すなわち貝殻鉱物の結晶核は基板の有機基質面のあちこちに生成し，ある時は互いに融合し，ある時は消失し，やがて幾何学的に有利に働くと考えられるテラス面につくられた結晶境界に位置する結晶が大きく成長する機会に恵まれると考えられる。結晶は生成当初は結晶の横方向に対する厚み方向の成長が相対的に速く（001）面は凸面を示すが，二軸平均径 d_{l+w} が 0.5～1.0μ に達する頃から結晶の厚化速度は著しく遅くなる。（001）面に垂直方向の成長は有機基質の吸着によって完全にとまり，結晶は横方向の成長がすすむにつれて大きな（001）面をもつ板状に発達する。散在して成長していた結晶は intercrystalline matrix を境界に挟んで互いに接合しながら階段に包含され，階段の前進に寄与する。

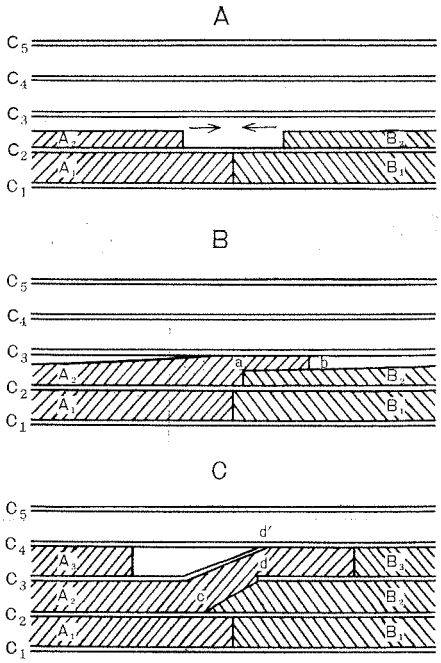
鉱物薄板の前進速度は主として $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ の濃度で規定される結晶核の生成数と成長速度とに比例するから，活動度濃度の過飽和度に比例するといえる。真珠層の場所と結晶の粒子数および粒子径との関係は貝殻腹縁部での方が中央部での粒子径より小さく，単位面積あたりの粒子数は逆に多い（和田，1957$_a$, 1961$_b$）。この事実を Wada (1961$_b$) が報告した $CaCO_3$ の沈着量と結晶の粒子径との関係や中原（1961$_b$）がテトラサイクリンを使用して測定した真珠層の場所による成長量の差と比較すると，$CaCO_3$ の沈着速度の増加にともない粒子数が多くなり粒子径が小さくなるといえる。このことは溶液の $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ の過飽和濃度が大きくなれば結晶核の生成数は多く，粒子径は小さくなることを意味する。一方，結晶粒の形は散在する間は過飽和濃度と関係し（Wada, 1961$_b$），一般に過飽和濃度が小さくゆっくり成長すると（010）と（110）面とがよく発達した板状，過飽和濃度が大きいと側面の彎曲した板状となる。しかし鉱物薄板に包含された結晶は不規則な多角形板状となる。

3. 鉱物結晶と conchiolin との交互沈着

生物がつくる鉱物化組織の多くは無生物界で晶出した鉱物の組織構造では説明の困難な周期構造をもっており，ある周期構造は生物の生理状態の周期的変動と関係することが実験的に証明されている。真珠や貝殻の真珠層組織でも単位鉱物薄板と interlamellar matrix とのくりかえし層状構造と大きな周期で生じた疎い層線構造とが認められる。このうち疎い層線の形成は貝体の内外作用因子に付随しておこる細胞の分泌生理の変化によって生じた像で，木の年輪に相当する生活履歴を反映することが明らかにされているが（渡部，1952; 和田，1957$_b$, 1959, 1961$_a$, 1962），前者は未だ不明な点が多い。したがって著者は真珠層の基本構造である有機相と鉱物相とのくりかえし交互沈着機構について若干の考察をここに試みる。

(1) くりかえし交代形成機構の細胞生理学的考察

Wilbur (1964) は真珠層にみられる conchiolin と鉱物結晶とのくりかえし沈澱構造は外套膜外面が貝殻面あるいは分泌液から受ける刺激によって有機基質を周期的に分泌するため生ずると説明した。しかし Tanaka and Hatano (1963) は Ca は酸性ムコ蛋白と結合した状態で外套膜より分泌されることを報告しており，また多くの研究者は外套膜に conchiolin だけを分泌する特殊な腺を発見していない。一方，中原 (1961$_a$) は真珠袋や外套からの分泌果粒は分泌されてのち上皮細胞の遊離面に沿って拡がりながら均一化し，真珠や貝殻面に近づくに従って真珠層にみられるような層状構造があらわれることを観察して基質形成期の存在を暗示した。また和田 (1968$_b$) は外套膜による分泌果粒の放出様式を調べ，粘液細胞は離出分泌により，上皮細胞は離出分泌と微離出分泌とにより分泌果粒を放出するのを認め，また上皮細胞は透出分泌によっても低分子，特に無機イオンを放出すると推察した。これらの観察からみると，たとえ細胞が $CaCO_3$ と conchiolin 前駆物質とを周期的に分泌したとしても，分泌周期と真珠層にみられる interlamellar matrix の形成周期とが一致するか疑わしい。さらに今回観察した鉱物薄板の生成過程は真珠層のくりかえし交代形成を細胞の周期的分泌によって説明するよりも，外套膜より分泌された有機と無機との2相の混合液から物理化学的機構を介して交互にくりかえして沈澱する機構を考える方がむしろ妥当であることを暗示する。



(A) Extension of the mineral lamellae A_2 and B_2 starting from different sources between the interlamellar matrix C_2 and C_3.

(B) Overlap of the mineral lamella A_2 on another lamella B_2. Note the absence of interlamellar matrix at the boundary $\overline{ab}$ between the lamellae.

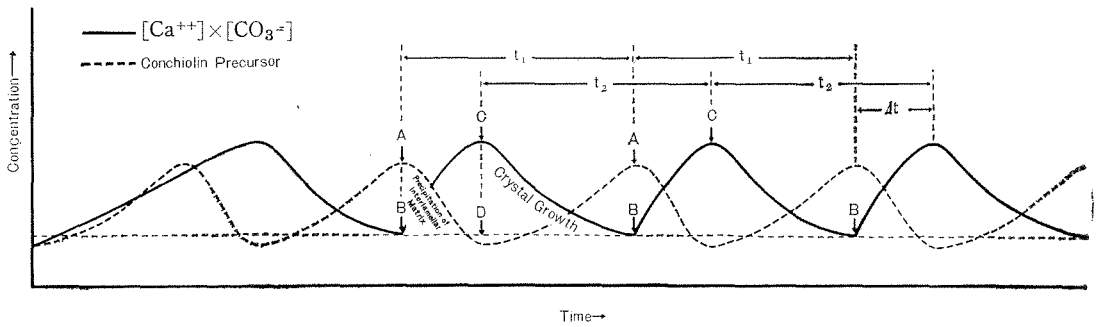
(C) Break of the interlamellar matrix C_3 by overlapping of the mineral lamella A_2.

Text-fig. 5 Contradictory topography of mineral and interlamellar matrix which is considered to be occurred in the case which mineralization takes place in each laminar capsule of organic matrix formed in the mucous layer secreted through a mantle.

基質形成期が存在し，有機基質による真珠層状構造が鉱物化前に分泌液中につくられていると仮定すると，真珠層に近い基質面ほど $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ の濃度が大きくなるような何か特殊な生理機構を備えない限り，結晶核を生成する確率はどの基質面でも類似しているか，あるいは $CaCO_3$ の供給源である外套外面に近い基質面がむしろ大きいと考えられる。したがって真珠層表面にみられるような層成長は生じないであろう。たとえば，Text-fig. 5 に示したように真珠層の階段の形成とその前進とが層状に形成された基質間でおこり，二つの異なる成長丘より発達した鉱物薄板 A_2，B_2 が小傾角で接合し，あるいはそれぞれの厚さが異なるために新しい階段が境界面に形成されるとする。もし新しい階段が基質膜 C_2 と C_3 との間で形成されるならば，interlamellar matrix は鉱物薄板 A_2 と B_2 との間 $\overline{ab}$ 面にはさまらないことになる (Text-fig. 5b)。もし A_2 が C_3 を突き破って C_3 と C_4 との間に前進し B_3 と接着したとすると，A_2 が B_2 に乗り上げた面 $\overline{cd}$ には interlamellar matrix を欠くことになる (Text-fig. 5c)。このような積層があるか明らかでないが，もしあったと仮定しても interlamellar matrix C_3 は d 点で切断し，d′ 点で C_4 と接続することになり，かかる切断と接続が継続しておこらねばならない。

(2)　くりかえし交互沈澱機構の化学的考察

Ca は conchiolin 前駆物質と結合した状態（田中・波多野，1965，1963；波多野，1968）とイオン状態（堀口，1959，1968）とで外套膜外面から放出され，そののち前駆物質は conchiolin に変わる。前駆物質と結合した Ca は conchiolin に変化するとき遊離し，他の経路より結晶成長の場に達した代謝性 CO_2 に由来する HCO_3^- イオンと反応して $CaCO_3$ 結晶が沈澱する（左右田，1937；Tanaka and Hatano, 1963；波多野，1968）。したがって分泌液中の $CaCO_3$ の全量は単位時間に外套から分泌された前駆物質と結合した Ca とイオン状態の Ca との和に依存する。しかし，鉱物結晶の生成に有効に働く $[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ の濃度は前駆物質が conchiolin に変化する速度とイオン状態で分泌される Ca 量



Text-fig. 6　Graphical representation of a hypothetical mechanism for the alternate precipitation of mineral lamella and interlamellar matrix in nacre. Interlamellar matrix will begin to adsorb on the basal face of aragonite crystals at the point A at the periodic intervals of t_1. As a result, the growth of the basal face will be ceased at the point B, crystal nuclei will occur on the matrix at the point D, and the growth vertical to the basal face continues the time $(t_2-\Delta t)$.

とに比例し，競争イオンの量に反比例すると考えられる。いま無機イオン状態で分泌されるCaが一定で，$CO_3^=$イオンが充分に存在し，競争イオンの存在を無視して真珠層における$CaCO_3$の沈澱機構を考察してみる。Text-fig. 6に示すように$CaCO_3$の活動度濃度は前駆物質がconchiolinに変わるのに比例して真珠層に接したごく薄層の溶液で増加し，基板のconchiolin面で貝殻鉱物の安定な結晶核の生成を誘起するのに充分な濃度（活性化エネルギー）に達することが期待される。一度安定な結晶核が生成すると，結晶は過飽和濃度であればconchiolinが吸着し阻害するまで成長をつづける。しかも分泌に関与する生理条件が類似すれば，conchiolin前駆物質の合成，放出速度をはじめ，前駆物質と結合したCaおよびイオン状態のCaとHCO_3^-イオンとの供給量，分泌液の生物物理化学的条件も類似すると考えられる。したがって前駆物質溶液は比較的均一な速度でconchiolinに変わり，基板結晶の（001）面に吸着するであろう。これにともない溶液中の$[Ca^{++}]\times[CO_3^=]$の濃度が増加し，Text-fig. 6に示すようにconchiolin化とその吸着の周期t_1に遅れることΔtでconchiolin面に結晶核の生成とその成長がおこり，t_1とほぼ等しい時間t_2に鉱物結晶の厚化がすすむ。結晶が成長する間は溶液中の$[Ca^{++}]\times[CO_3^=]$の濃度はCa^{++}イオンと$CO_3^=$イオンとが供給されるにもかかわらず減少するであろう。ここでΔtはむしろ短い時間と考えられるから，外套膜と貝殻間に挿入したガラス面での鉱物化（Wada, 1964_a, 1961_b）や貝殻再生部の鉱物化（Abolins-Krogis, 1958）を観察しないかぎり明瞭に確認できない。このような実験条件下でconchiolin化とその吸着および$[Ca^{++}]\times[CO_3^=]$の濃度の増加との関係はText-fig. 6の第一番目のピークにみられるようにΔtの時間が比較的長くなるため，organic crystalのような前鉱物化基質が極めて明瞭に観察できると考えられる。以上の考察が正しいならば，前駆物質がconchiolin化し，基板結晶へ吸着する機構が鉱物結晶の生成と成長停止を周期的におこさせ，有機相と鉱物相とのくりかえし交互沈着がおこると考えられる。2—(2)の考察と比較するとこの沈着現象はおそらく個々の結晶に接する薄層溶液中で局所的におこるものと考えられる。

(3)　蛋白基質と$CaCO_3$との混合層鉱物の生成機構

真珠層における有機相と鉱物相とのくりかえし交互沈着機構を物理化学的に説明しようとする試みは古くからあった。緒言で紹介した渡辺（1950）のほか，Schmidt（1934），渡部（1950）および小林・渡部（1959）はリーゼガング現象で同様に説明を試みた。Watabe（1950）は不純物としての有機物を含む溶液から樹枝状成長によって成長した単結晶が接合する際intercrystalline matrixをはさみ，interlamellar matrixが周期的に沈着して成長を阻害するために層状構造が生ずると報告した。しかしinterlamellar matrixの周期的沈着がどうしておこるかについてはふれていない。一方，今井（1961，1966）は真珠層構造はリーゼガング環と異なることを指摘し，分泌液中に成長した$CaCO_3$と有機物とからなる球状無定形粒子が外套膜によって基板に塗りつけられるためと考えた。

今回の観察からわかるように，鉱物の結晶核は有機基質の全面に沢山生成するが，このうちでも基板結晶の境界に位置するものが0.5μ以上の大きさに成長する機会に恵まれているといえる。$d_{+\infty}$が0.5μ以上の結晶について一般的にいえることは，結晶粒の大きさは階段からの距離に比例して小さくなる傾向を示し，しかもその生成密度は一枚の鉱物薄

板の成長前線A, B, Cの各域で大差ない。しかしFig. 13と14に示したように1000 Å以下の結晶はかなりの密度で全域に生成している。この小さな結晶はB域では稀にしか大きく成長しないが，CとD域ではd_{l+w}が0.5 μ以上に成長する結晶が基板結晶の境界に位置してある密度に達するまで増加する。更に結晶の厚化速度とmatrixの吸着とに着目すると今回の観察結果を次のようにまとめることができる。

(i) 鉱物薄板のA域，すなわちテラスをつくる結晶は（001）面をmatrixによって完全におおわれ，側面は互いに接合しているから，ともに成長は終っており，わずかに空孔を囲む面で成長がみられる。

(ii) 鉱物薄板の成長前線のB域ではmatrixが（001）面に吸着し，結晶の厚さ方向の成長は終り，結晶の横方向の成長と結晶同志がintercrystalline matrixを挟んで接合するのとが優勢である。

(iii) 鉱物薄板の成長前線のC域では結晶の厚化は著しく遅いか，あるいはmatrixが（001）面に吸着して阻害され，結晶の横方向の成長が優勢である。

(iv) 鉱物薄板の成長前線D域では結晶核生成とその成長が盛んで，小さな結晶粒同志が盛んに融合していると考えられる。

これらは鉱物薄板の成長過程を示しており，分泌液中に含まれるmatrixの前駆物質の変化と結晶面（001）への吸着とが交互沈澱の重要な鍵を握っていることを暗示する。したがって，著者は混合層鉱物の生成機構理論（Kleber, 1959）が真珠層にみられる板状の鉱物結晶とinterlamellar matrixとのくりかえし多重層構造の発達機構に導入できるか検討している。

4. 真珠層構造の形成

(1) 真珠層のレンガベイ構造の形成機構

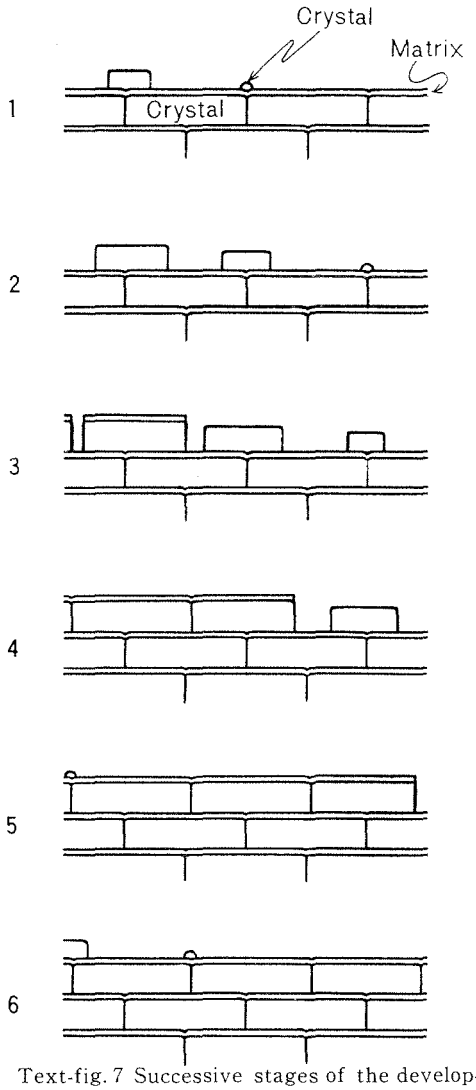
真珠層の基本的構造は層状構造で代表される。真珠層の層状構造はすでに論じたように鉱物薄板とconchiolin膜とが交互に繰返して沈着した結果つくられる。真珠層の単位鉱物薄板は多数の結晶粒の集合からなり，結晶粒の境界にもconchiolinが分布し，両者は形態的にも（Watabe and Wilbur, 1965）組織化学的にも（Wada, 1964$_c$）類似の性質を示す蛋白であることが指摘されている。

アコヤガイの貝殻および真珠の真珠層はText-fig. 7に示すようなレンガベイ構造からなる。すなわちレンガベイのレンガに相当する部分に結晶が分布し，レンガを接着するセメントに相当する部分にconchiolinが分布する。新しい結晶はinterlamellar matrixでおおわれた鉱物薄板のテラス面につくられた結晶の境界およびその付近に生成し，周囲に向って大きさを増す。したがって別々の核から成長した結晶は基板の結晶の面に相当する位置で接合し，そこにintercrystalline matrixがはさまる。すなわち隣接して重畳した鉱物薄板を構成する結晶粒の境界は一致しないから，レンガベイ構造が形成される。しかし真珠層の鉱物薄板の成長様式の種類によって三つのタイプに大別され，ハボウキガイや腹足類などでは典型的なレンガベイ構造をつくらない。

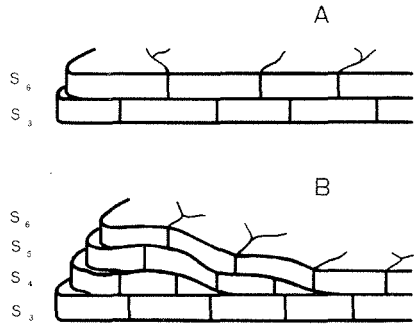
(2) 層状構造の乱れ

渡辺(1950)は真珠層の断面にみられる縞が途中で消失したり，あるいは分岐したりする

ことを指摘し，リーゼガング環の生成機構からこれらを説明した。そののち Wada and Sakai (1963) は養殖真珠を脱灰しないでダイヤモンド・ナイフを使用して超薄切片をつくり，鉱物薄板が途中で消失あるいは追加される像を電子顕微鏡によって直接観察した。今回の観察からわかるように，階段は三つのタイプのいずれかの様式によって鉱物薄板のテラス面につくられる。このうち Fig. 2 と 3 に示したタイプにより階段がつくられると，鉱物薄板は真珠層の成長過程で途中から不連続に増加する。たとえば，Fig. 3 において鉱物薄板 S_6 が S_3, S_4, S_5 をおおって成長したのち A 線と B 線の位置で鉱物薄板に垂直な断面をつくると，Text-fig. 8 に示したようにA断面では S_3 と S_6 の鉱物薄板が直接重畳しているのにB断面では S_3, S_4, S_5, S_6 の鉱物薄板が重畳し，S_4, S_5 が途中から増加することがわかる。一方，別々の起点から成長した鉱物薄板が接合する際，それぞれの鉱物薄板の段高，配列方向や傾斜などが必ずしも等しくないから，一枚の単位鉱物薄板に成長せず，一方が他方の鉱物薄板に乗り上げて成長することがしばしば観察できる。この場合おおわれた鉱物薄板は成長を阻害されるから，その形成過程から考えると鉱物薄板の消失である。しかし両者は断面構造では全く区別できない。また鉱物薄板が接合する位置にラセン転位の束を媒介として成長した単結晶が沢山観察できるのは非常に興味深い。



Text-fig. 7 Successive stages of the development of a typical laminar structure of nacre.



Text-fig. 8 Accumulation of mineral lamellae in the sections of the lines $\overline{AA'}$ and $\overline{BB'}$ in Fig. 3, showing the lamellae S_4 and S_5 inserted between the lamellae S_3 and S_6 in the section of the line $\overline{BB'}$.

層状構造の乱れは結晶の大きさ，形，厚さ，集合および重畳様式などの変化によってもおこることが和田(1961$_{a,b}$, 1962)によって報告されている。しかし単位鉱物薄板の厚さがどのような機構によって変化するかについてはふれていない。渡部(1952)は真珠層中に厚いconchiolinの特殊層線とその直前に形成された厚い鉱物板とを観察し，小林・渡部(1959)は普通の成層に際しては結晶が分泌液によって溶解し，一定濃度に達して再結晶するが，冬眠などによる分泌の停止と共に，そのような溶解再結晶現象がおこらないため厚い鉱物板が形成されると解釈した。和田（1957$_b$, 1961$_{a,b}$）は特殊層線の直前に特に厚い鉱物板の形成がみられないこと，および冬眠時に既成層が著しく溶解し，冬眠覚醒直後に溶解面をおおって厚いconchiolin膜が形成されることを電子顕微鏡によって観察した。もし3-(2)で論じたように外套膜より分泌されるCaの状態に二態があり，conchiolin化とその吸着の周期が一定であると仮定すると，単位時間に分泌されるムコ蛋白と結合したCa量に対するイオン状態のCa量の割合が増した場合，$[Ca^{++}]\times[CO_3^{=}]$ の濃度曲線が変形するから，単位時間あたりに分泌されるイオン状態のCa量の変化はt_2時間中の結晶の厚化速度に影響する一つの因子となると期待できる。したがって細胞の分泌活動が類似すれば単位鉱物薄板の厚さは類似すると考えられ，貝の不安定な生理状態のもとでは分泌生理が不安定となるためconchiolin化の周期や結晶の厚化速度などが変動し，鉱物薄板の厚さは相前後して重畳しても乱れるであろう。

5. 真珠品質論とその養殖への展開

歯牙には昼夜による生理変化が刻み込まれ，鱗や耳石には生活履歴が刻み込まれ，あたかも木の年輪のような縞模様がみられる。生物がつくる硬組織には生命の動きが多少にかかわらず組織中に刻まれるし，またその保存が簡単であるだけでなく肉体が滅びてのちも比較的長年月にわたって保存される。したがって水産分野では早くから硬組織に刻まれた生活履歴像を解読して年齢査定，系群の識別，資源量の推定などをおこなうのに使用されているが，硬組織自体の形成機構および生理との関係についての基礎的研究が少ないため，最終的な解読は研究者の判断に全くまかされている。

Wada (1959, 1961$_{a,b}$, 1962) は貝殻および真珠の層状構造と表面に成長しているaragoniteの結晶を反射顕微鏡，偏光顕微鏡，電子顕微鏡，X線回折などによって調べ，層状構造にあらわれる縞模様，すなわち生活履歴像は結晶の粒度，形態，厚さ，集合様式，重畳様式，結晶学的配向などに差を生じておこること，また結晶におこるこのような変化は貝の生理状態の変化あるいは生息環境の変動でおこる分泌生理の変化によって左右されることを指摘した。貝殻や真珠のような多結晶集合体の物性は鉱物や構成成分が同じであっても，結晶の粒度，形，厚さ，集合状態および重畳様式などによって著しく異なり，真珠層は外見的に透明層と不透明層，緻密層と疎密層，均一層と不均一層などの差を生ずる。したがって真珠に刻まれた層状構造の変化は単に養殖履歴をあらわすだけでなく，硬度，色沢，透明性，平滑度，柔硬感に影響し，真珠の品質を左右する。また結晶境界や鉱物薄板間に生じた疎い面や不整合面は真珠の品質にマイナスの効果を与える。一方，単位鉱物薄板の成長前線により真珠層表面につくられる成長模様はCa沈着量と正の相関を示しながら外見を変えるから，成長模様によって貝のCa代謝活動の高低を判断できる。その概略

は次のようにまとめることができる。

(i)　成長模様は認められないか不明瞭である：　この成長模様は Ca 代謝活動が停止しているか，不安定な状態できわめてわずかおこなわれている時にみられ，貝の生理状態の悪化，真珠袋自体の分泌活動の低下，自然あるいは人為的な生息環境の悪化などによっておこる。結晶粒の成長や溶解などの観察を加えると更に詳細に Ca 代謝の状態を判断することができる。

(ii)　成長模様は広い階段間隔からなる：　この成長模様は Ca 代謝活動が低い時にみられる。結晶粒の詳細な観察および階段間隔から Ca 代謝活動の相対的な高低および上昇過程か下降過程かを判断できる。渦巻模様を指標にするならば，階段間隔は広く，歪曲した像を示すのが特徴である。

(iii)　成長模様は狭い階段間隔からなり，乱れる：　この成長模様は Ca 代謝が活発になりはじめたか下降しはじめた時にみられる。この両者の区別は試料を継続的に調べるか，貝殻の成長などと比較すると可能である。渦巻模様を指標にするならば，段数の少ない小さなものが高密度で生ずるため乱れた模様となるのが特徴である。

(iv)　成長模様は狭い階段間隔からなる：　この成長模様は Ca 代謝が活発である時にみられる。渦巻模様を指標にするならば，段数が多く，大きく発達し，模様は歪曲しないのが特徴である。

なお成長模様はそこにつくられつつある層状構造を意味するから，真珠の品質とも関係づけられる。

要　　約

1)　真珠層の鉱物薄板の生成過程を電子顕微鏡によって観察し，真珠層の成長機構を生鉱物学的に考察した。

2)　鉱物薄板の成長前線は階段とテラスの部分とからなり，盛んに成長している真珠層表面に縞模様としてあらわれる。

3)　真珠層に階段ができる様式には次の三つがある。

(i)　ラセン転位の束を媒介とした成長によってできた単結晶の (001) 面上の高さの大きい渦巻階段に由来する場合。

(ii)　小傾角で接合した結晶群ないし結晶間の境界につくられる場合。

(iii)　テラス面に生成した微結晶が接合して島状の鉱物薄板をつくる場合。

4)　二軸平均径が1000Å以下の小さな結晶は鉱物薄板の成長前線のあちこちに生成するが，アコヤガイの真珠層ではこのうちでも基板結晶の境界に生成した結晶が大きく成長する機会に特に恵まれている。

5)　結晶の厚化速度は二軸平均径が 0.5～1.0 μ に達する頃から急に遅くなり，そののち有機基質が結晶の (001) 面の中央付近から吸着しはじめ，厚さ方向の成長は殆んど完全に阻害され，横方向の成長がすすむにともない大きい平坦な (001) 面の発達した板状結晶となる。

6) 散在して成長する結晶の形は生成条件に，その大きさは生成条件と生成後の経過時間に依存しており，鉱物薄板に包含された結晶の形と大きさは散在して成長した結晶が階段に接合する状態や時期によって変化する。

7) 真珠層の aragonite 結晶はその b 軸を interlamellar matrix の繊維軸に平行に並べて成長し，b 軸に約±30度以内の乱れを含めると80～90%の結晶が繊維素に平行に成長している。

8) 真珠層の aragonite の (001) 面にしばしば観察された渦巻および環状模様はこれらの aragonite 単結晶がラセン転位を媒介として成長したことを想わせる。しかし単結晶は方位配列した沢山の crystallites が融合することによっても成長しており，真珠層の部分によって，また真珠層が成長する時の生成条件によっても著しく異なった成長をすると考えられる。

謝　　辞

終りに臨み，この研究の発表の機会を与えられた国立真珠研究所所長池末弥博士，ならびに有意義なご助言を賜り，本論文の校閲の労を煩わせた工業技術院地質調査所砂川一郎博士に対して謹んで感謝の意を表する。また終始懇篤なるご指導と有益なご討論を下さった東京教育大学理学部鉱物学教室須藤俊男教授並びにご鞭撻とご助言を下さった東京教育大学理学部古生物学教室大森昌衛助教授に対して深謝する。なお本研究の一部は文部省科学研究費（「化石の微細構造」，代表者：大森昌衛）によった。記して謝意を表する。

Summary

1) Nacre shows laminar structure, consisting of alternate layers of interlamellar matrix and mineral lamella, in longitudinal and tangential sections of a shell. Individual aragonite crystals which consist of the mineral lamella show tabular form with well-developed (001) face, which is in parallel to the growing surface of the nacre, with the *b* axis in the horizontal growth direction of the layer. Intercrystalline matrix develops in between individual crystals (Grégoire, 1957; Wada, 1961). The mineral lamella has the height of 3000 Å～6000 Å, whereas a reticulated membrane of interlamellar matrix is less than 200 Å in thickness, in *Pinctada fucata* though both vary from species to species (Wada, 1961).

2) The growth fronts of mineral lamellae emerge on the growing surface of nacre to form a stepped surface (Fig. 1). The terrace of the mineral lamella is covered by thin membrane of interlamellar matrix (Figs. 3 and 4). The terrace, which is the (001) faces of aragonite crystals, exhibits narrow grooves at the boundaries between individual aragonite crystals (Figs. 3, 4 and 13). The layer patterns consisting of spirals or closed loops are seen commonly on the surface, which seems to suggest that individual aragonite crystals have grown immediately prior to the adsorption of

the organic matrix (Figs. 3 and 5).

3) The following three are considered to be the process to create a new step on the surface of nacre.

(a) The first type can be seen in Figs. 1 (shown by the arrow *a*) and 2, and illustrated schematically in Text-fig. 4A. The terrace originates from the step of the composite spiral having big step height on the (001) face of single crystal. As can be seen in Fig. 2, it is considered that the terrace T_3 will be formed on the terrace T_2, when the crystals a_1, a_2, ... join with the step S_2 of the spiral.

(b) The second type is the step resulting from the mismatch of the two slightly misoriented crystals or crystal groups, which can be seen in Fig. 3 and illustrated in Text-fig. 4B.

(c) The third type is the step of small mineral lamella formed by the contact of small member of single crystals (Fig. 4 and Text-fig. 4C).

From the steps of type (A) and (B), spiral hills will be formed, as pointed out by Wada (1961, 1966, 1968$_b$). The type (C) steps occur at the top of concentric hills (Wada, 1968$_b$), or in the earliest stage of pearl formation and immediately after the hibernation of oysters (Wada, 1957 $_{a, b}$).

4) Crystals which are responsible for the advance of the step grow on the terrace of the underlying mineral lamella. Large number of minute crystals occurs on all over the surface of the terrace (Figs. 13 and 14), but only a few crystals among them, especially those deposited near or at the boundaries between individual crystals in the underlying lamella, are allowed to grow larger than 0.5 μ in diameter in *Pinctada fucata* (Figs. 3, 4 and 5). It is seen in Fig. 5 and Table 1 that the thickness of the crystals f_{14}~f_{31} which are larger than 1.7 μ in diameter is in the range of 0.32μ to 0.40μ, which agrees well with the thickness of the crystals f_{36} and f_{37} coalesced in the terrace. They have a large flat (001) face covered by reticulated organic matrix. The thickness of the crystal f_{10}, about 0.5 μ in diameter, is about 0.21 μ, and is much smaller than that of the crystals f_{11}~f_{13} (0.32 μ~0.37 μ in thickness and 1.4 μ~1.6 μ in diameter) which is similar to the step height of the mineral lamella. The (001) face of the crystals f_{10}~f_{13} is convex and appears to grow rapidly in the vertical direction. It is evident that in the nacre of *Pinctada fucata*, interlamellar matrix is adsorbed on the (001) face of individual crystals about the time when the crystals reach to about 0.32 μ~0.43 μ in thickness and 1.5 μ~2.0 μ in diameter. As a result, the growth normal to the basal plane is ceased, whereas the side faces can grow further, which results in tabular habit with larger flat (001) face. Then the individual crystals coalesce together to form a mineral lamellae. Probably just before the coalescence, intercrystalline matrix is formed in between the crystals The above mentioned process is shown schematically in Text-fig. 7.

5) It is found that in the regions A, B and C crystals larger than 0.5 μ in diameter occur in similar density at the growth fronts of mineral lamellae (Text-fig. 2), though their size becomes larger in general as we get nearer to the step and the basal face is flatter. In contrast to this, numerous minute crystals smaller than 1000 Å occur in the region D, as well as on the flat basal face of larger crystals and on the terraces of the underlying lamella exposed between larger crystals (Fig. 14). From these observations, the process of the formation of the lamella in the nacre of *Pinctada fucata* can be conjectured as follows.

(a) Reticulate thin membrane of interlamellar matrix coveres completely the (001) face of closely packed crystals in the terrace, in the region A, resulting in the cessation of the growth of these crystals.

(b) Since the growth normal to the basal face of the isolated crystals in the region B is ceased due to the adsorption of the matrix over the basal face, crystals have to extend latelally and join the step, sandwiching intercrystalline matrix in between the two.

(c) The growth speed normal to the basal face of the isolated crystals in the region C is also slow down or ceased due to the adsorption of matrix, resulting in the lateral growth.

(d) Nucleation takes place actively in the region D, and minute crystallites begine to appear at and near the boundaries of individual crystals in the underlying lamella. They grow rapidly in the direction both normal and lateral to the basal face.

(e) When the crystals are formed more densely than a certain critical density on the underlying terrace emerged between larger crystals, it seems that they can hardly grow larger than 0.5 μ, and that some are dissolved away into the mother fluid and others are coalesced into larger crystals.

6) In electron microscopic observations (Wada, unpublish), no evidence to be interpreted an alternate layer of mineral lamella and organic matrix can be found in the general profils of extrusion of secretory substances by the outer epithelial and mucous cells of a mantle. Nakahara (1961, 1962) described that mucous granules, which were secreted into the space surrounded by pearl-sac epithelium or between the mantle and shell, form fluidal substance, which shows a fine lamellar structure resembling nacreous layer prior to mineralization. If mineralization of nacre takes place in each lamellar capsule of organic matrix formed in the mucous layer, the conspicuous contradiction illustrated schematically in Text-fig. 5 is found in the crystal-interlamellar matrix relationship of nacre.

It is probable that the amount of protein increases, acid mucopolysaccharides are reduced, and amino acid components are modified in the process of formation and mineralization of nacreous organic matrix (Wada, 1967, 1968$_b$). The present studies

suggest that loose reticular or fine fibrous component with large amount of amorphous substance is polymerized and transformed into the closely reticulated membrane of interlamellar matrix of nacre (Figs. 11 and 12) and that the rate of polymerization and transformation of the organic component and/or of adsorption and incorporation of the component onto the basal face of isolatad and packed crystals are more or less different from part to part at the growth front of the terrace. In the above process, it is possible that the precursor of the matrix changes to have a stereochemical configuration with close affinity to the shell mineral, particularly on the active surface.

Calcium for shell mineralization may be secreted through the mantle either in the form of complex with acid mucoprotein (Tanaka and Hatano, 1956) or inorganic ion (Horiguchi, 1959, 1968). Presumed that the inorganic calcium is supplied constantly and other factors influencing the concentration of $[Ca^{++}] \times [CO_3^{=}]$ are negligible, crystallization of calcium carbonate may be interrupted at a certain interval due to the transformation and adsorption of the matrix, and will start again when calcium liberated in the course of transformation of the matrix reaches to a critical concentration. This is shown schematically in Text-fig. 6. The critical concentration of $[Ca^{++}] \times [CO_3^{=}]$ to initiate nucleation is considered to be dependent upon the surface properties of the interlamellar matrix and seems to be not very high, as has already been discussed by Wada (1966_a, 1968_b). The ratio of the amount of inorganic calcium to calcium-mucoprotein complex secreted from the mantle is also considered to be one of the factors influencing the speed of thickening the crystal.

7) The morphology of isolated crystals seems to be dependent mainly on the concentration of $[Ca^{++}] \times [CO_3^{=}]$ and the presence of organic substances, as well as the state of coalesence of the adjacent crystals. Closely packed crystals in a mineral lamella can not keep original form.

8) The size of crystals seems to have reverse relation to the density of occurrence of crystal, and is larger in the central region than in the marginal one of the *Pinctada* shell (Text-figs. 1 and 3). This means that the size of crystals is related to the concentration of $[Ca^{++}] \times [CO_3^{=}]$.

9) Oriented fibrils which appear to consist of rows of granules of diameter of 140 Å～200 Å are found in the replica of interlamellar matrix formed on the (001) face of aragonite crystals of nacre (Fig. 13), though the granular appearance of the fibrils is sometimes not very clean (Fig. 15). The *b* axis of aragonite is parallel to the fibrils, as seen in Fig. 15, and its (110) face is sometimes the fibrils. About 70～90% of crystals show this relation with fibrils of interlamellar matrix in *Pinctada fucata*. It is possible on the base of the above facts to conclude that oriented crystallization (epitaxial growth) of aragonite crystals takes place on the surface of interlamellar matrix which plays a role of a substratum, as pointed out by Wada (1961)

and Grégoire (1962).

10) The typical brick-wall-like lamellar structure of nacre is considered to have been formed in the process of development of mineral lamellae, through the process shown in Text-fig. 7. However the such "brick-wall" appearance is not always revealed in the nacre of *Pinna attenuata*.

11) Spiral and closed loop patterns observed frequently on the (001) face of aragonite suggest that the single crystals have grown by the spiral mechanism around screw dislocations. But, in other instances, the single crystals look like to have grown by epitaxial settlement of many minute crystallites on the basal face of a larger crystal, or by coalescence in parallel orientation on interlamellar matrix (Wada, unpublish). These crystals exhibit complicated surface structures. It seems from these observations that the growth process of single crystals in nacre varies according to the difference of the growth conditions, about which will be discussed elsewhere in more detail in near future.

文　　献

Abolins-Krogis, A. 1958. The morphological and chemical characteristics of organic crystals in the regenerating shell of *Helix pomatia*. Acta Zool. (Stockholm) **39** : 19—38.

Beedham, G. E. 1958. Observation on the mantle of the Lamellibranchia. Quart. J. micro. Sci. **99** : 181—197.

Bevelander, G. and Benzer, P. 1948. Calcification in marine molluscs. Biol. Bull. **94** : 176—183.

Grégoire, C. 1957. Topography of the organic components in mother-of-pearl. J. Biophys. Biochem. Cytol. **3** : 797—808.

———— 1962. On submicroscopic structure of the *Nautilus* shell. Bull. Inst. Sc. nat.Belg. **38** : 1—71.

———— 1966. On organic remains in shells of paleozoic and mesozoic cephalopods (Nautiloids and Ammonoids). Bull. Inst. X. Sc. nat. Belg. **42** : 1—36.

波多野博行 1968. アコヤ貝におけるカルシウムの分泌機構とコンキオリンの生成について（医歯薬出版，印刷中）.

Hayasi, K. 1938. Detection of calcium in molluscan mantles I. *Anodonta* and *Cristaria*. Annot. Zool. Japon. **17** : 95—103.

堀口　吉重 1959. アコヤガイ及びイケチョウガイの生化学的研究 VI. イケチョウガイ各組織における動的 Ca と不活性 Ca について. 三重県大水産記要 **3** : 391—398.

———— 1968. 二枚貝の Ca と P の代謝.（医歯薬出版，印刷中）.

今井　壮一 1961. アコヤガイの貝殻成分に関する知見ならびに貝殻構造の形成機序に関する一つの考察. 長大学芸自然科学研報 **12** : 7—17.

———— 1966. 貝殻結晶の成長に関する合成的研究 4. 貝殻内側の表面結晶に関する知見. 長大学芸自然科学研報 **17** : 1—12.

小林新二郎・東畑正敏 1949. 真珠養殖の研究 II. アコヤ貝の冬期の生活力に就いて (1). 日水誌 **14**: 196—199.

小林新二郎・渡部哲光 1959. 真珠の研究. 技報堂.

Kleber, W. 1959. Uber die Theorie der Bildung von Adsorptionsmischkristallen und über der Einbau lumineszenzfähiger organischer Verbindungen.

森　　主一 1948. アコヤガイの日週期活動. 貝類学雑誌 **15** : 46—51.

中原　　晧 1961*a*. 真珠袋の組織学的研究VII. メタクロマジー物質の行動. 国立真珠研報 **6** : 541—545.

——— 1961$_b$. テトラサイクリンの使用による真珠層の生長度の測定. 同上誌 **6**：607—614.
——— 1962. アコヤガイ外とう膜と真珠袋の上皮細胞におけるカーミン粒子の摂取について. 同上誌 **8**：879—883.
Nakahara, H. and Bevelander, G. 1967. Ingestion of particulate matter by the outer surface cells of the mollusc mantle. J. Morph. **122**：139—146.
Ojima, Y. 1952. Histological studies on the mantle of pearl oyster (*Pinctada martensii* Dunker). Cytologia **17**：134—143.
大森　啓一 1948. 真珠の内部構造と色及び光沢. 地質学雑誌 **54**：33—38.
左右田徳郎 1937. グルコーゼ硫酸エステルを分解する酵素 (Glucosulfatase). 科学 **7**：101—103.
Swamy, S. R. 1935. X-ray analysis of the structure of iridescent shells. II. The *Haliotidae*. Proc, Ind. Acad. Sci., A, **2**：345—351.
Takatsuki, S. 1934. On the nature and function of the amoebocytes of *Ostrea edulis*. Quart. J. micro. Sci. **76**：379—431.
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.
Tanaka, S. and Hatano, H. 1963. Formation of conchiolin in molluscs. Report No. 73 of the Nippon Institute for Scientific Research on Pearls：1—8.
Travis, D. F., Francois, C. J., Bonar, L. C. and Glimcher, M. J. 1967. Comparative studies of the organic matrices of invertebrate mineralized tissues. J. Ultrastructure Research **18**：519—550.
Tsujii, T. 1960. Studies on the mechanism of shell- and pearl- formation in mollusca. J. Fac. Fish. Pref. Univ. Mie **5**：1—70.
内田　洋一・上田　正康 1947. 真珠の層状構造と iridescence に就て. 生理生態 **1-3**：171—177.
和田　浩爾 1957$_a$. アコヤガイ介殻構造の電子顕微鏡的観察 II. 真珠層表面の Aragonite Crystals の観察. 国立真珠研報 **2**：74—85
——— 1957$_b$. 電子顕微鏡による養殖真珠の層状構造の観察—I. 真珠層真珠. 日水誌 **23**：302-305.
——— 1957$_c$. 真珠形成初期の顕微鏡的観察 I. 国立真珠研報 3：167—174.
——— 1958. The crystalline structure on the nacre of pearl oyster shell. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 24：422—427.
——— 1959. 真珠養殖過程中におけるアコヤガイの生活活動の変化が真珠形成に及ぼす影響 I. 衰弱した貝での真珠形成. 国立真珠研報 **5**：381—394.
——— 1961$_a$. 真珠養殖過程中におけるアコヤガイの生活活動の変化が真珠形成に及ぼす影響 II. 表面構造と光沢の季節的変化. 同上誌 **6**：586—606.
——— 1961$_b$. Crystal growth of molluscan shells. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. **7**：703—828.
——— 1962. 真珠形成機構の生鉱物学的研究. 国立真珠研報 **8**：948—1059.
Wada, K. and Sakai, T. 1963. Laminary structure of cultured pearls observed with electron microscope—II. Direct Observations of the ultrathin sections of a nacreous layer pearl by using a diamond knife. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. **29**：658—662.
Wada, K. 1964$_a$. Studies on the mineralization of the calcified tissue in molluscs—IV. Selective fixation of ^{45}Ca into or onto the metachromatic matter in the processes of shell mineralization. *ibid.* **30**：393—399.
——— 1964$_b$. Studies on the mineralization of the calcified tissue in molluscs—V. Radioautographic investigations on the patterns of layer formation. *ibid.* **30**：465—471.
——— 1964$_c$. Studies on the mineralization of the calcified tissue in molluscs —VII. Histological and histochemical studies of organic matrices in shells. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. **9**：1078—1086.
——— 1964$_d$. Studies on the mineralization of the calcified tissue in molluscs—VIII. Behavior of eosinophil granules and of organic crystals in the process of mineralization of secreted organic matrices in glass coverslip preparations. *ibid.* **9**：1087—1098.
——— 1966$_a$. Studies on the mineralization of the calcified tissue in molluscs—XII. Specific patterns of non-mineralized layer conchioln in amino acid composition. Bull .Jap.

Soc. Sci. Fish. **32** : 304—311.
——— 1966$_b$. Spiral growth of nacre. Nature **211** : 1427.
——— 1967$_a$. Studies on the mineralization of the calcified tissue in molluscs —XIV. Modification of the amino acid pattern of proteins in the extrapallial fluid during the process of formation and mineralization of nacreous conchiolin in some bivalves. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. **33** : 613—617.
——— 1967$_b$. Studies on the mineralization of the calcified tissue in molluscs —XIV. Amino acid composition of mucous substance secreted through inner surface of mantle of some marine bivalves. *ibid.* **33** : 1007—1012.
——— 1968$_a$. 外套膜の分泌物の放出機序の電子顕微鏡的研究. 昭和43年度日本水産学会年会にて口頭発表.
——— 1968$_b$. 軟体動物の貝殻形成—特に鉱物化について. (医歯薬出版, 印刷中)
——— 1968$_c$. アコヤガイの殻皮形成に関する電子顕微鏡的観察. 国立真珠研報 **13** : 1540—1560.
渡部 哲光 1950. 真珠の層状構造. 真珠の研究 **1** : 3—7.
——— 1952. 養殖真珠の断面に見られる特殊の層線とそれが形成される環境条件に就いて. 真珠の研究 **2** : 27—33.
——— 1965. Studies on shell formation XI. Crystal matrix relationships in the layers of mollusk shells. J. Ultrastructure Research **12** : 351—370.
Wilbur, K. M. 1964. Shell formation and regeneration. in "Physiology of Mollusca". **1** : 243—282. (ed. by Wilbur, K. M. and Yonge, C. M.). Academic Press.

Explanation of Figures

Fig. 1 Natural surface of nacre. Note spiral growth of single crystals of aragonite, shown by the arrow *a*, at the point of emergence of the lamella step.

Fig. 2 The step S_2 created on the terrace T_2 by spiral growth of the (001) face of aragonite.

Fig. 3 The steps S_4 and S_5 formed by the groups of crystals which are inclined to the terrace T_3 with small angles. Note that the reticulated membrane cover the terraces and the (001) faces of isolated crystals near the step.

Fig. 4 Three crystals grown in the central area of the uppermost terrace of a concentric pyramidal hill. Note that grooves of less than 1000 Å in depth develop along the crystal boundaries in the lamellae.

Fig. 5 Most of the crystals occur at the boundaries between the crystals in the lamellae. Isolated crystals with well-developed and flat (001) face have similar thickness as the crystals at the step, and are thicker than smaller crystals (f_{10}, f_{11}, f_{12} and f_{13}) having convex (001) faces.

Figs. 6, 7 and 8 Granular (Fig. 6), cubical or octahedral (Fig. 7), and needle-like (Fig. 8) crystals precipitated when the mucus adhered on the surface of nacre dried up.

Fig. 9 Irregular deposition of small grains after dehydration of the mucus adhered on the surface of nacre in 80 % ethanol.

Fig. 10 Surface structure of nacre when the mucus adhered on the layer is kept in distilled water for 10 minutes and dried up.

Fig. 11 Reticular memdrane of interlamellar matrix revealed after decalcifing the nacre of *Pinctada fucata*.

Fig. 12 Roughly reticulated substance contained in the mucus covering the surface of mantle in contact with nacre of *Pinctada fucata*.

Fig. 13 Many minute crystallites of less than 1000 Å in diameter occur at random on the interlamellar matrix covering (001) faces of the crystals in a mineral lamella. The matrix is the membrane consisting of granular fibrils whose orientation are shown by the arrows. The diameter of the granules of the fibrils is in the range of 140 Å to 200 Å.

Fig. 14 Minute crystallites grown on the (001) face of isolated crystals and underlying mineral terrace.

Fig. 15 Oriented growth of aragonite crystal on the interlamellar matrix, showing the *b* axis of the crystal is in parallel to the fibrils of the matrix. The longer line of a cross indicates the *b* axis of aragonite, and the fibrils run parallel to the arrows.

Figs. 1, 2.

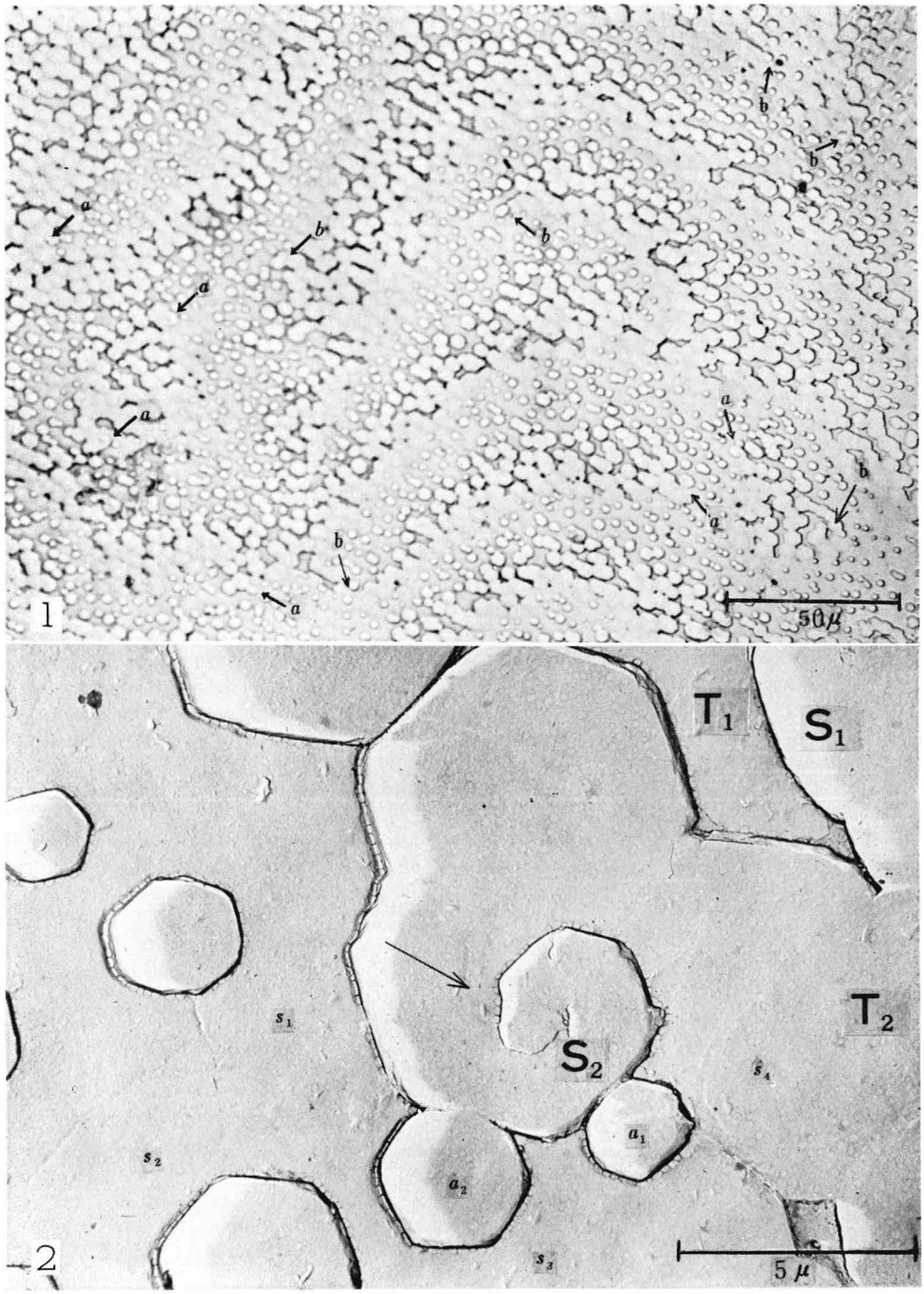


Fig. 3

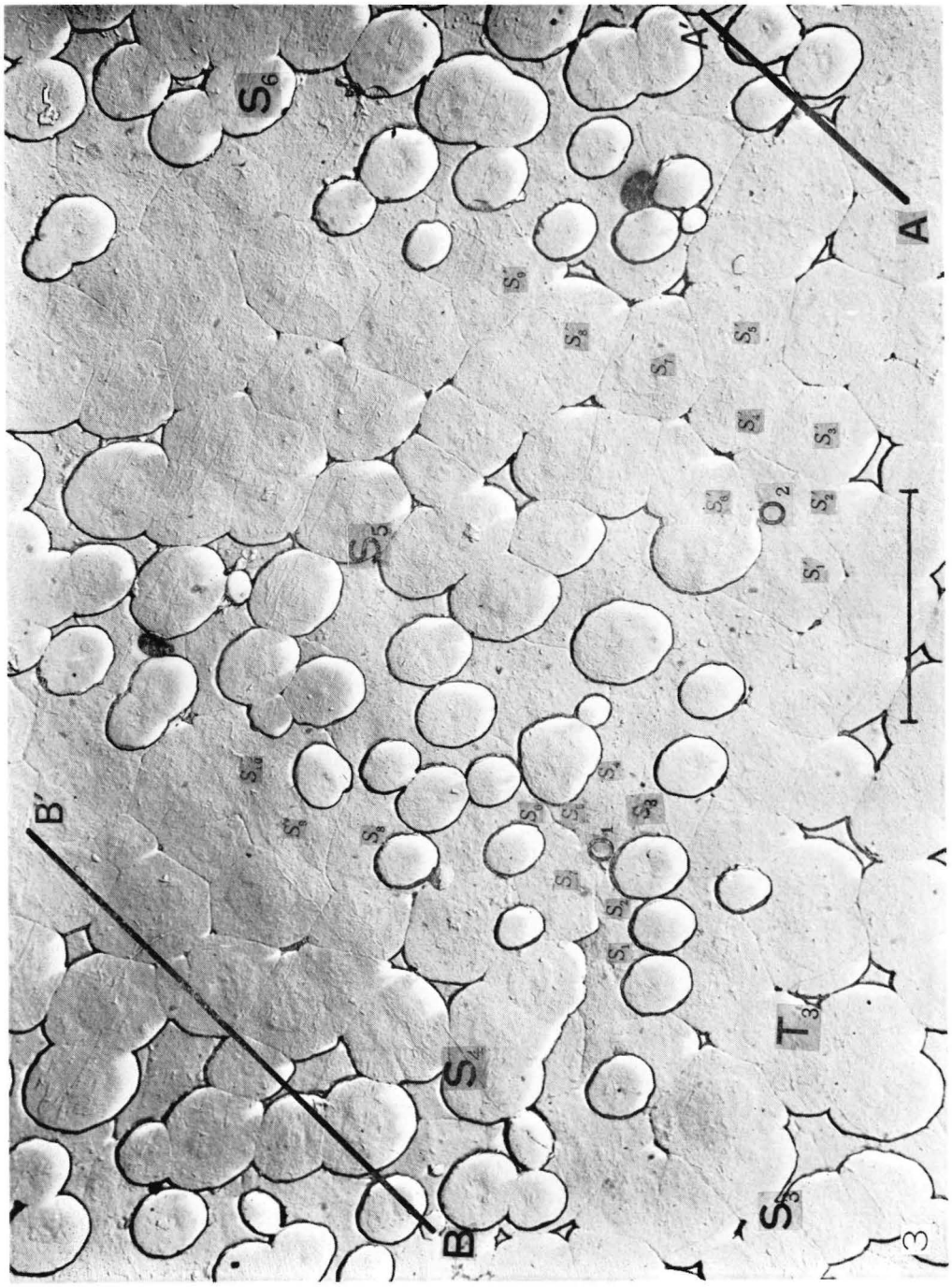


Fig. 4

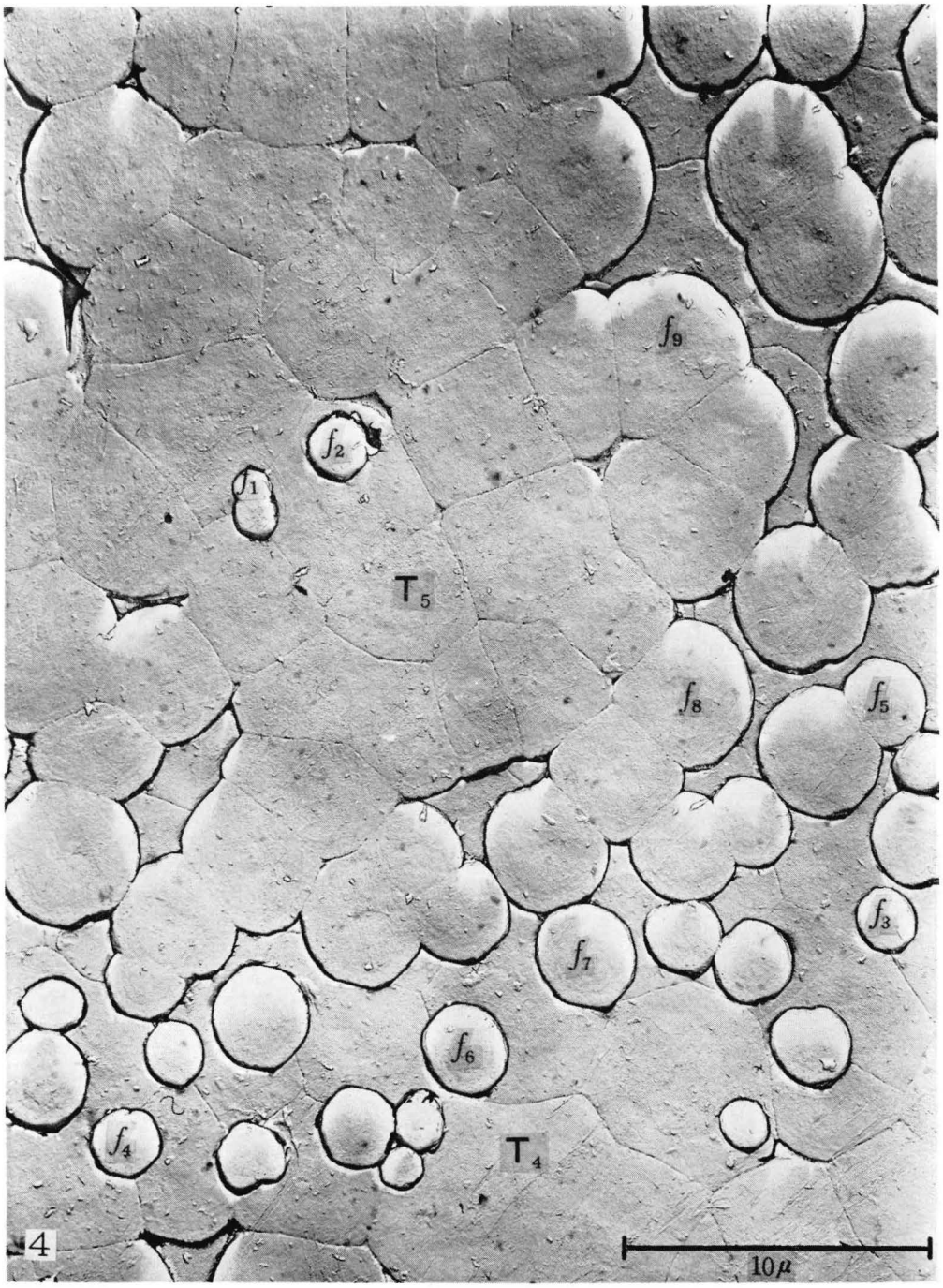
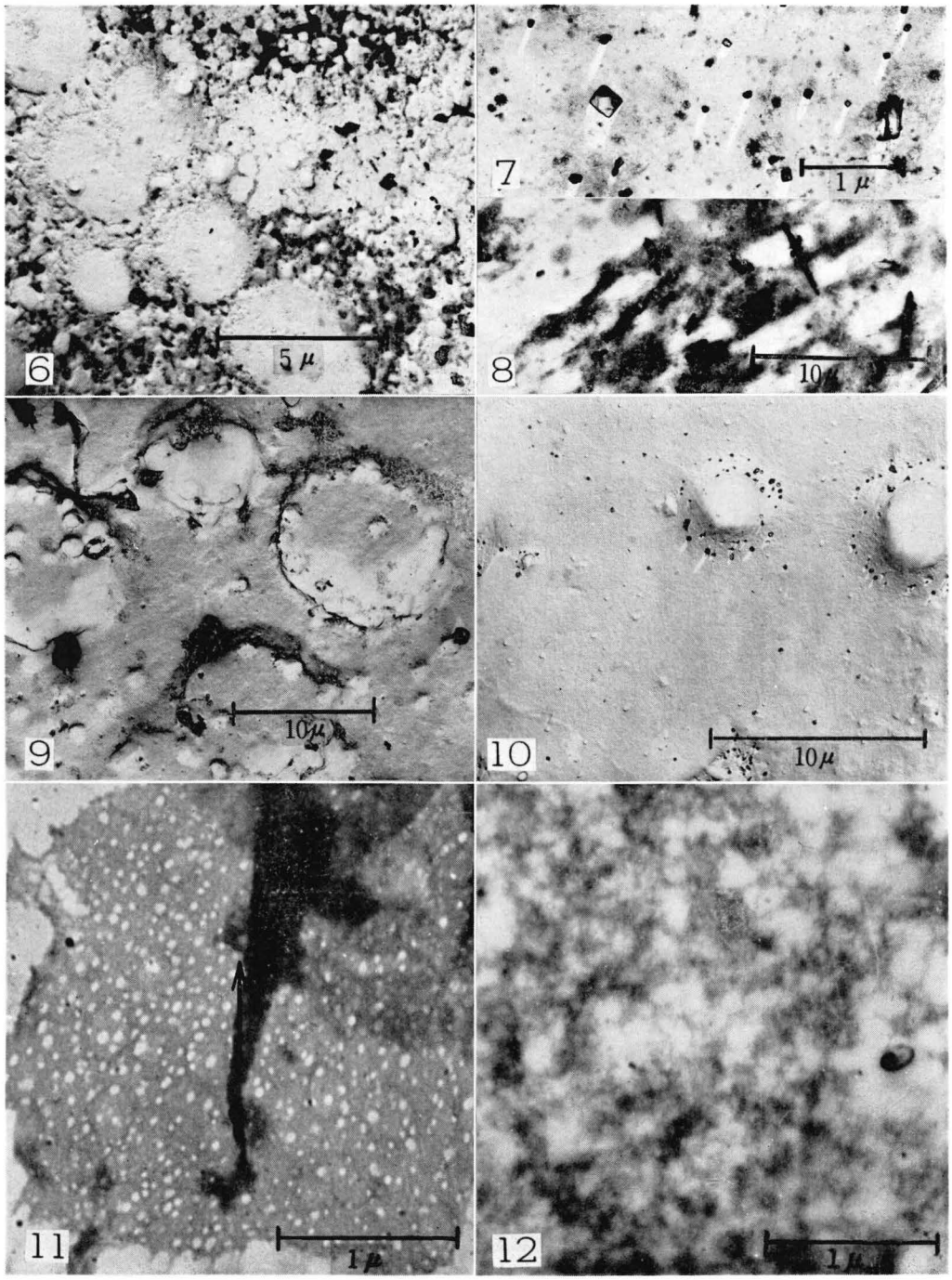


Fig. 5

f12
f
f36
f34
f28
f31
f35
f16
f30
f24
f33
f27
f29
f10
f26
f18
f25
f20
f21
f17
f23
f15
f22
f19
f14
f11
f13
5
10μ

Figs. 6~12.



Figs. 14, 15.

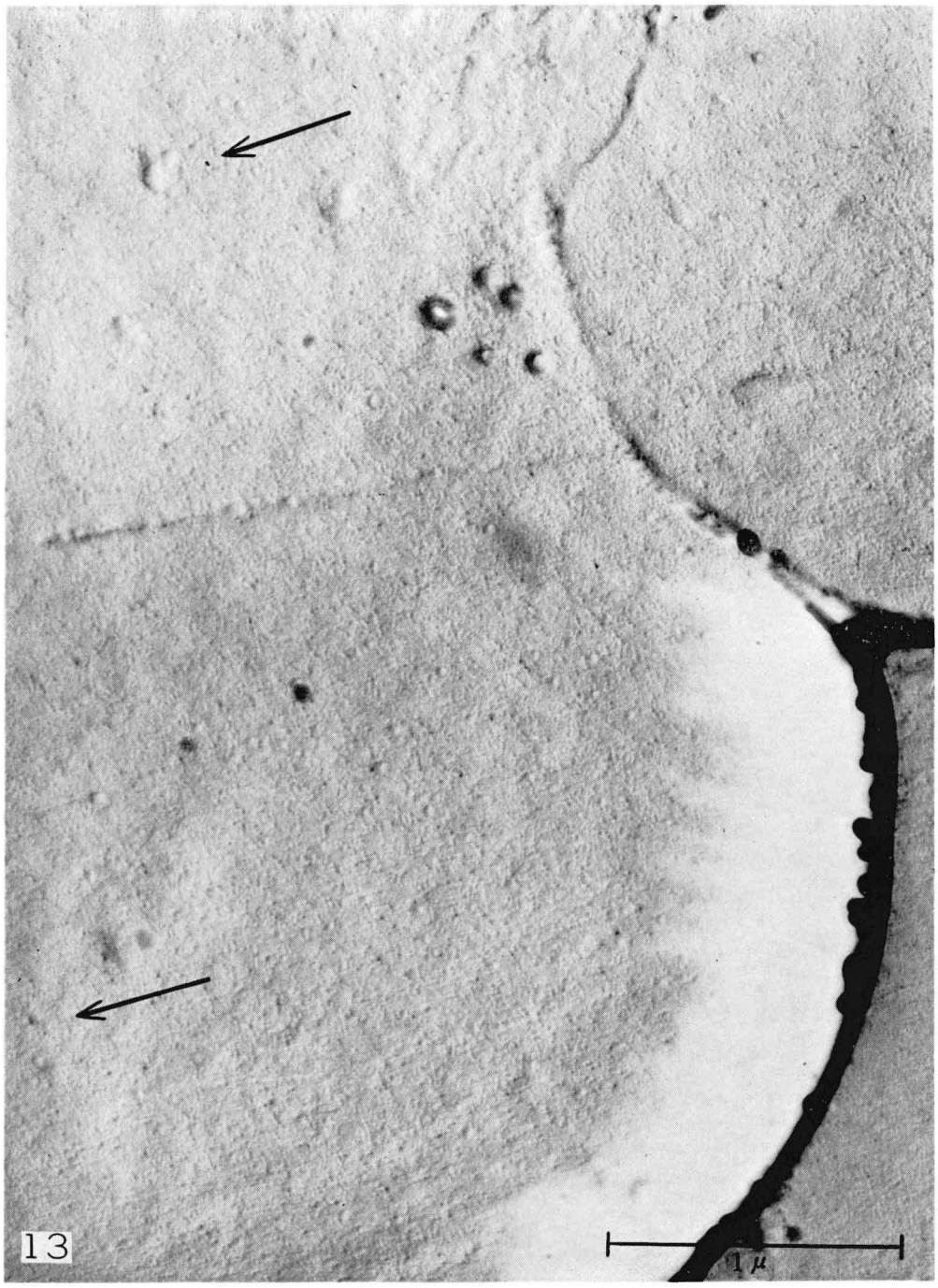
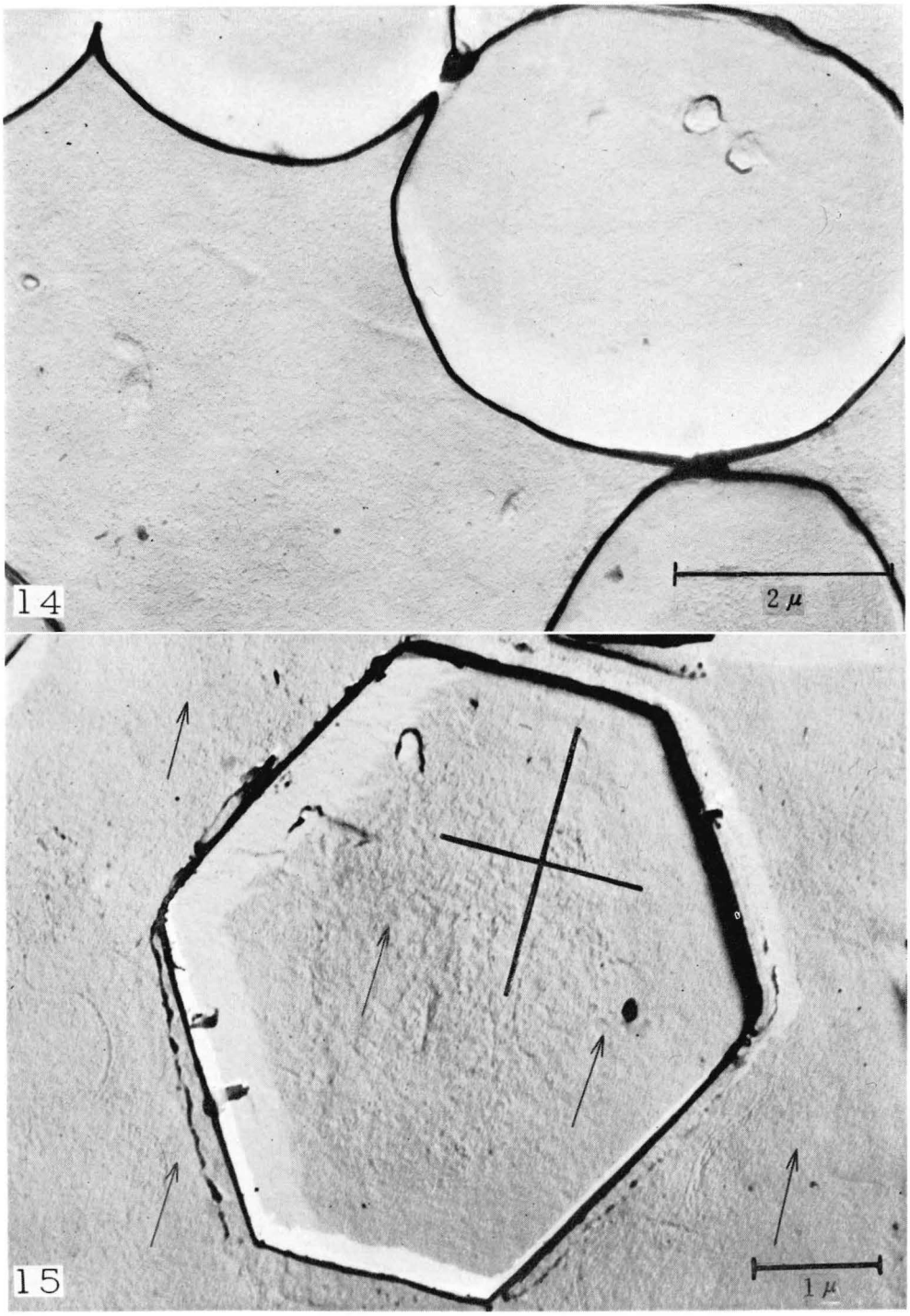


Fig. 13



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*,†

桑谷幸正・西飯保
国立真珠研究所

閉鎖式水槽を用いて魚貝類を飼育すると，飼育水は自然水にくらべて各態窒素，燐酸および炭酸の増加を示すことが知られている。各態窒素および炭酸の増加はそれ自体でも飼育動物に影響を与えるが，とくに硝酸態窒素，それに燐酸および炭酸は飼育水中に蓄積され，そのpH値およびアルカリ度を低下させ，飼育動物の正常な発育を阻害する原因となっていると考えられている。

これまで，多くの海水水族館においては，そのpH調節のために石灰が用いられてきたが[1-3]，Breder and Howley[4] および Breder and Smith[5] は炭酸ナトリウムあるいは重炭酸ナトリウムを使用することの合理性を述べ，また Mc Farland and Norris[6] は魚類輸送中の海水のpH調整にはトリス—bufferがより効果的であるとした。これらの研究の対象動物はいずれも主として魚類であり，またその使用目的は単に生存させるのみで，貝類を対象としたもの，成長を目的としたものは見当たらない。

そこで今回，各種の緩衝試薬を用いて閉鎖循環式水槽水のpHを調節し，飼育アコヤガイの成長と水質の変化とを調査し，それぞれの試薬の緩衝効果および貝に与える影響について比較検討した。

なお，報告に先立ち本報告の英文の校閲をお願いした東京大学，江草周三教授に深謝する。

材料および方法

供試貝：満1年生アコヤガイ70個体の中からまず水中重量が 4.3～5.2 g の範囲にあるものを選び，さらに肉眼的に貝殻の成長が不良とみられるものおよび病害虫に侵されていると認められるものを除き，残り35個体について，ランダムに5個ずつの7群に分けた。

---

* Yukimasa Kuwatani and Tamotsu Nishii. Effets on the growth of Japanese pearl oyster of the various alkaline reagents added to the culture water for the control of its pH. With English summary. p. 1610. Bull. Natl. Pearl. Res. Lab. 13: 1597—1616. 1968.

† 国立真珠研究所業績 No. 168.（国立真珠研究所報告13：1597—1616. 昭和43年7月）

飼育装置および方法：スチロール製水槽（25×25×30 cm）3個を1組として餌料槽，飼育槽，沪過槽とし，送気により飼育水の攪拌と餌料供給および沪過のための循環とを行なった。餌料槽，飼育槽には約15ℓの海水を満し，飼育槽には供試貝を入れたビニール製網籠を垂下し，沪過槽には約9ℓの海水と排水量6ℓ(重量約15 kg)の1～5 mm径の貝殻片まじりの砂を入れた。循環回路のうち餌料投与回路(餌料槽⇄飼育槽)は1日中循環しているが，沪過回路(沪過槽⇄飼育槽)は1日2回の餌料投与時間（8～12時および16～20時）には休止した。各回路の送水量はいずれも毎分約0.5ℓであった。飼育水は原則として交換しないこととしたが，各週測定日の水質分析用の採水，貝水中重量測定時の移動水および蒸発，飛散などによって減量した約3ℓを新らしい海水で補なった。餌料は精白米を1昼夜以上淡水中に浸漬し，その後ホモゲナイザーをもって約30分間粉砕したものを用

Table 1. Alkaline reagents used.

1.	Sodium carbonate (炭酸ナトリウム)	Na_2CO_3
2.	Sodium hydroxide (水酸化ナトリウム)	NaOH
3.	Sodium borate (ホウ酸ナトリウム)	$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$
4.	Calcium hydroxide (Lime water) (水酸化カルシウム)	$Ca(OH)_2$
5.	Tris (hydroxymethyl) aminomethane (トリス-buffer)	$(CH_2OH)_3CNH_2$
6.	Barbltal Sodium (Sodium diethylbarbiturate) (ベロナールナトリウム)	$C_8H_{11}N_2O_3Na$

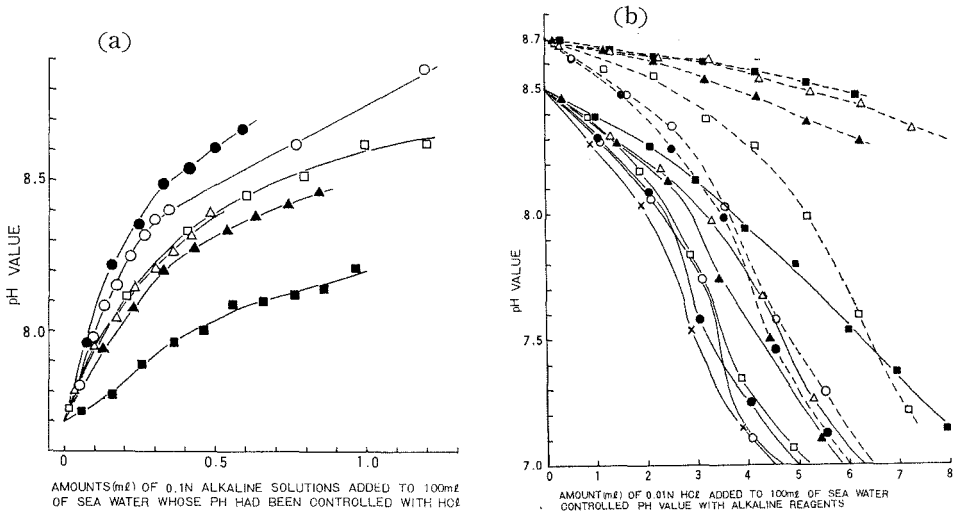


Fig. 1　Titration curve of the sea water employed for the experiments with hydrocloric acid and various alkaline reagents. Open and solid circles; Calcium hydroxide and sodium hydroxide. Open and solid triangles; Sodium borate and Tris-buffer. Open and solid squares; Sodium carbonate and barbital sodium. Cross marks; Natural sea water (untreated control). The same marks were used in Figs. 1-3 and 5-16.

いた[7]。餌料の投与は1日2回とし，1日1貝当りの投与量は精白米重量で40mgとした[8]。

緩衝試薬の種類および添加方法：緩衝試薬は Table 1 に示す6種類を用い，つぎの方法でそれぞれの添加量をあらかじめ決定した。塩酸をもって pH 値を 7.7 に低下させた海水に 0.1N に調整したそれぞれの試薬溶液を加えて得られた Fig. 1a に示すところの滴定曲線から pH 7.7 から 8.1 までの海水を pH 8.2 に上昇させるのに要する種類別の添加量を算出した（Table 2)。なお，参考までにこれらの試薬溶液を加えて pH 値を 8.5 および 8.7 に調整した海水に 0.01 N 塩酸を加えて得られた滴定曲線を Fig. 1b に示す。重炭

Table 2. Amounts of 0.1N alkaline solutions for bringing the pH of HCl sea water (7.7～8.1) to 8.2.

pH_0	$8.2-pH_0=\triangle pH$	Amount sea water	$Ca(OH)_2$	NaOH	$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$	$(CH_2OH)_3CNH_2$	Na_2CO_3	$C_8H_{11}N_2O_3Na$
8.1	0.1	10 l	5.2 ml	2.4 ml	8.8 ml	8.1 ml	7.9 ml	28.6 ml
		39*	20.3	9.4	34.3	31.6	34.0	111.5
8.0	0.2	10	9.4	5.5	15.9	15.4	14.5	51.1
		39*	36.6	21.4	62.0	60.0	56.5	199.0
7.9	0.3	10	12.8	8.5	21.7	21.9	21.1	68.0
		39*	49.5	33.2	85.0	85.5	82.5	266.0
7.8	0.4	10	15.9	11.6	26.3	27.6	27.7	79.3
		39*	62.0	45.3	102.5	107.5	108.0	309.0
7.7	0.5	10	17.3	14.6	29.6	32.5	34.3	85.0
		39*	67.5	57.0	115.3	127.0	133.0	331.0

* Amount of rearing water.

酸ナトリウムの添加量に対する pH の上昇率は他に比較して著しく低いため飼育実験から除外した。飼育水の pH 値を飼育実験前半期には毎日，後半期には1～2日おきに測定し，pH が 8.0 以下となった場合には △pH（8.2－実測値）に応じ Table 2 に基づく添加量をそれぞれの水槽（試薬添加6水槽）に加えた。なお，水酸化カルシウムはその上澄液（石灰水）を，他は 0.25～1.0 N 液を標定して用いた。

飼育期間および水質・貝成長度の調査：1967年8月3日，飼育装置を整備し，沪過砂の熟成のため満2年生貝を5個ずつ各飼育槽に収容し，同21日水質分析の結果いずれも硝酸化成能の発達が認められたので，以後毎日換水し，同26日に2年生貝をとりのぞき前述の供試貝を収容した。飼育実験期間は同28日より10月23日までの56日間で，その間，1週間おきに計9回，水質分析および貝の水中重量の測定を行なった。

水質分析；各測定日の投餌前（8～9時）に採水しつぎの項目，方法に従って分析した。塩素量は日本海洋学会編海洋観測指針[9]にもとづき測定した。pH はクレゾール・レッドを指示薬として標準緩衝液（pH 8.0，9.0）により光電光度計 530 mμ の吸光度線を画き，

供試海水の吸光度からpH値を求め温度および塩誤差の補正を行なった。アルカリ度はB.C.P.を指示薬として0.01N塩酸により滴定した。アンモニア—Nは Witting の沈澱法を用い Nessler 試薬による呈色を光電光度計（波長430 mμの吸光度）により測定した。亜硝酸—N は Griess-Romijn 試薬を用い光電光度計（500 mμ）により測定した。硝酸—Nは硫酸ヒドラジンで亜硝酸に還元して比色定量する Strickland and Parsons[10] の方法によった。比色は光電光度計（530 mμ）を用いた。カルシウムは 2-Hydroxy-1-(2-hydroxy-4-sulfo-1-naphthylazo)-3-naphthoic acid を指示薬として0.01M EDTA-2Na により滴定した。燐酸—P はモリブデン酸アンモニウムおよび塩化第一錫の添加による発色を光電光度計（660 mμ）により測定した。

供試貝の測定；各水質調査日ごとに水槽別貝群の総水中重量を測定し，期間中の増加量を算出した。また，飼育実験終了後，供試貝の全体および貝殻の水中重量，全体・貝殻および肉質の湿重量，貝殻・肉質の乾燥重量を測定した[11, 12]。

結果と考察

飼育水のpH値の変化と試薬の添加量

各飼育水のpH値の測定結果は Fig. 2 に示すとおりで，pH値が8.0以下になった場合は △pH に対応する試薬溶液量（Table 2）を添加した。測定結果を各週ごとに平均す

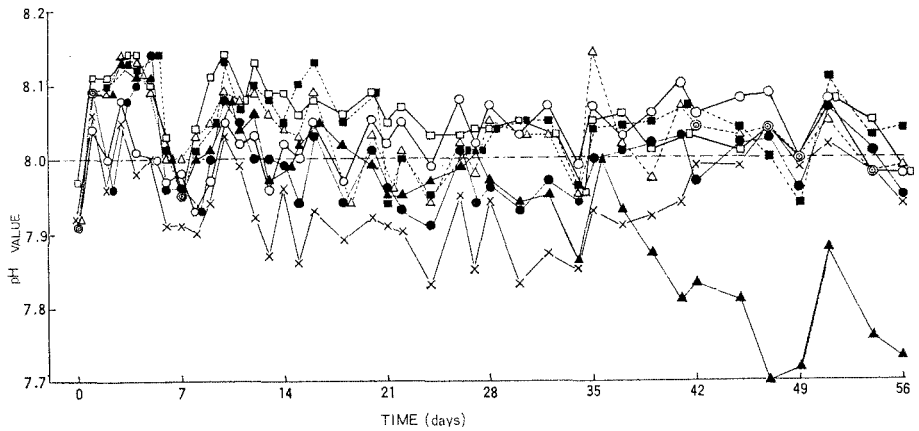


Fig. 2　Changes in the pH of the culture water during the rearing period.

ると Fig. 3 に示すとおりとなる。対照（試薬無添加）飼育水は飼育期間初期にはpH 7.99を示したが次第に低くなり28～35日目には7.89となり，その後次第に高くなり終期には8.00前後を示した。試薬添加飼育水のうち水酸化カルシウム，ホウ酸ナトリウム，炭酸ナトリウム，ベロナールナトリウム添加のものは全期間を通じて週平均pH 8.00以上を示したが水酸化ナトリウム添加のものは対照飼育水と相似の曲線を画きpH 8.02-7.95-8.00と前記4飼育水にくらべやや低い。また，トリス—buffer 添加のものは初期8.07を示した

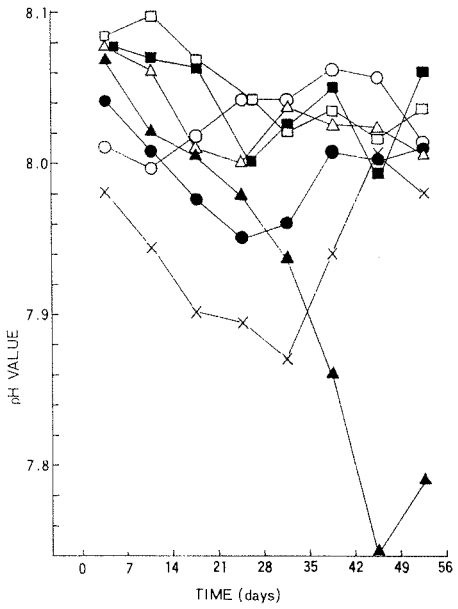


Fig. 3 Changes in the weekly mean pH from the data shown in Fig. 2.

が次第に低下して終期には 7.75～7.80 を示した。各飼育水の飼育期間内平均 pH は Table 3 に示すとおりである。

飼育期間内における △pH 0.3 に対応する添加量（単位添加量）の添加回数および総添加量を Table 4 に示す。添加回数ではベロナールナトリウムと炭酸ナトリウムが最も少なく，水酸化カルシウムとホウ酸ナトリウムがこれにつぎ，トリス—buffer と水酸化ナトリウムが最も多かった。添加回数が少ないものは単位添加量によって自然海水に近い pH の値が得られたか，あるいはその添加量によって pH 8.0 以上に比較的長期間維持されたかのいずれかによるものであって，添加回数の多いものはその逆の現象によるものと考えられる。トリス—buffer 添加水は 35 日目以後 pH の上昇が全くみられず，45日目以後添加を中止した。この理由については水質の変化の項で併せて考察する。水酸化ナトリウムは無生物海

Table 3. Average pH of rearing water during the experimental period.

Alkaline reagent	Average pH
None	7.94
$Ca(OH)_2$	8.03
NaOH	7.99
$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$	8.03
Tris-buffer	7.93
Na_2CO_3	8.05
Barbital-Na	8.04

水中でその添加による pH の上昇率が極めて大きかったため単位添加量が少なく計算されたが，飼育水中では直ちに遊離炭酸と結合して炭酸塩になると考えられ，当初から炭酸ナトリウムとほぼ同量の添加が必要であったと考えられる。

また総添加量についてはトリス—buffer とベロナールナトリウムが著しく多く，その他

はホウ酸ナトリウム，水酸化ナトリウム，水酸化カルシウム，炭酸ナトリウムの順となっている。

Table 4. Amounts of 0.1N alkaline solutions added for rising the pH of culture water to over 8.0.

Alkaline reagent	Amount of 0.1N solution added per time*	Frequency of the addition of the solution									Total amount of the solution added
		Period in days									
		0-6	7-13	14-20	21-27	28-34	35-41	42-48	49-55	Total	
	ml										ml
Calcium hydroxide	49.5	2.5	4	1	1	1	0	0	2	11.5	569.25
Sodium hydroxide	33.2	3	3	1	3	6	0	2	4	22	730.04
Sodium borate	85.0	1	3	1	2	1	1	0	2	11	935.00
Tris-buffer	85.5	1	4	1	3	6	6	2− †	− †	23− †	1966.50
Sodium carbonate	82.5	1	3	0	0	1	0	0	1	6	495.00
Barbital sodium	266.0	1	3	0	1	1	0	0	1	7	1862.00

* The amount of solution for rising pH by 0.3 was calculated from Table 2.

† The addition had been stopped since 45 days because it showed no effect of rising the pH of culture water since 35 days after the begining of rearing.

飼育水の水温および水質の変化

各測定日の水温，塩素量，pH値，アルカリ度，アンモニア—N，亜硝酸—N，硝酸—N，燐酸—Pおよびカルシウムの測定値を Appendix Table I に示す。

1) 水温 (Fig. 4)：期間中 19.8°C から 24.7°C とかなり変化し，平均 21.85°C で水槽相互間の温度差はほとんど認められなかった。

2) 塩素量 (Fig. 5)：期間中各飼育水の塩素量は17.6‰から19.6‰の範囲内にあり，いずれの飼育水も前，後期に高く中期に低くなっている。無換水であるにかかわらず何故この様な著しい変化が生じたか，現段階では明らかでない。飼育水相互間を比較すると対照水が最も高く，ベロナールナトリウム，ホウ酸ナトリウム，炭酸ナトリウムがこれにつぎ，以下，トリス—buffer，水酸化ナトリウム，水酸化カルシウムの順となっている。

3) アルカリ度(Fig. 6)：期間中各飼育水のアルカリ度は1.5～4.0mN の範囲内にあり，ベロナールナトリウム添加水が最も高く，トリス—buffer，ホウ酸ナトリウム添加水がこれにつぎ，以下炭酸ナトリウム，水酸化カルシウム，水酸化ナトリウム添加水の順となり対照水が最も低い。トリス—buffer 添加水は35日目頃より次第に低くなっている。

4) 炭酸： 水温，塩素量，pH 値，アルカリ度の4者から水中に含まれる不解離炭酸〔H_2CO_3〕，重炭酸イオン〔HCO_3'〕，炭酸イオン〔CO_3''〕および炭酸分圧 P_{CO_2} を計算した[13]。計算結果を Appendix Table II に示す。まず炭酸分圧(Fig. 7)についてみると自然海水

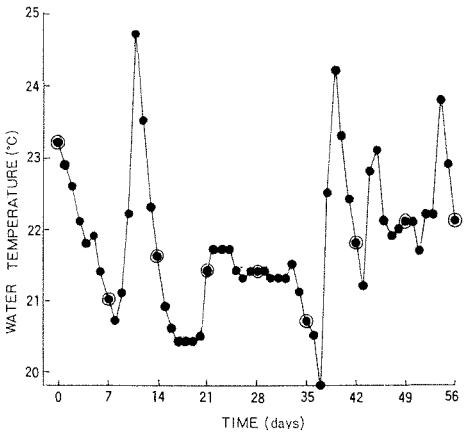


Fig. 4 Changes in temperature of the culture water during the rearing period. Double circles show the temperature of water in work days.

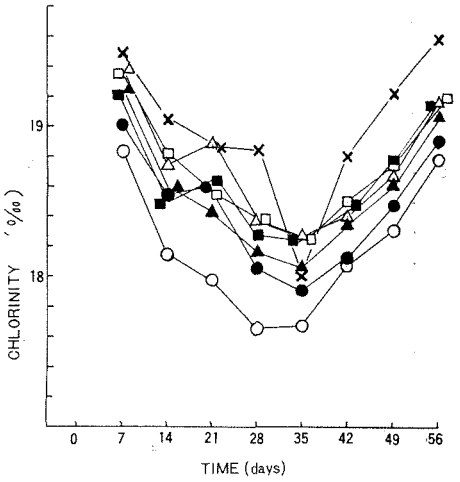


Fig. 5 Changes in chlorinity of the culture water.

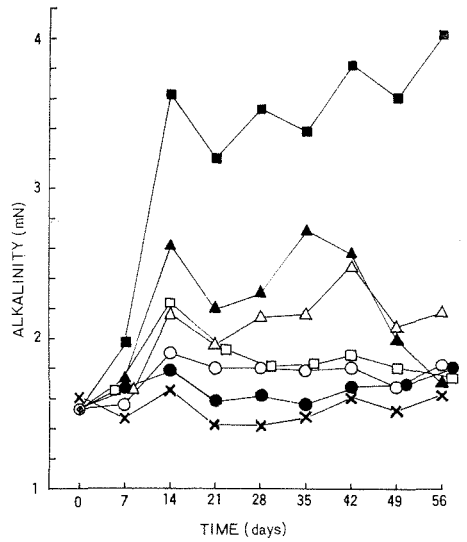


Fig. 6 Changes in alkalinity of the culture water.

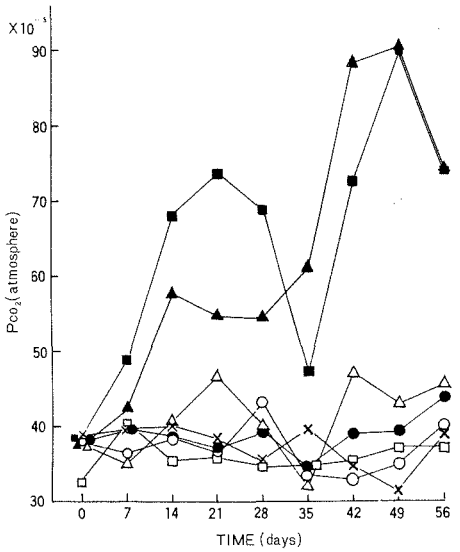


Fig. 7 Changes in partial pressure of carbon dioxide of the culture water.

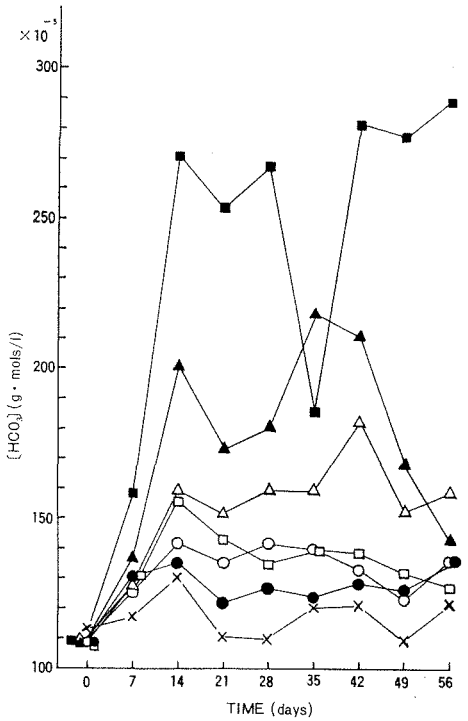


Fig. 8 Changes in concentration of bicarbonate ions of the culture water.

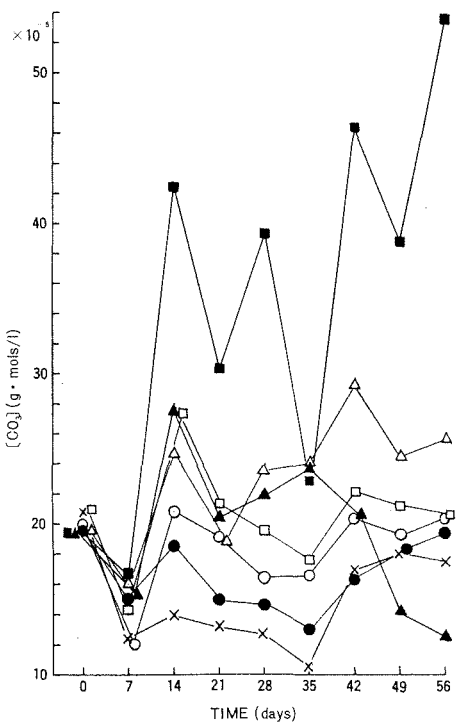


Fig. 9 Changes in concentration of carbonate ions of the culture water.

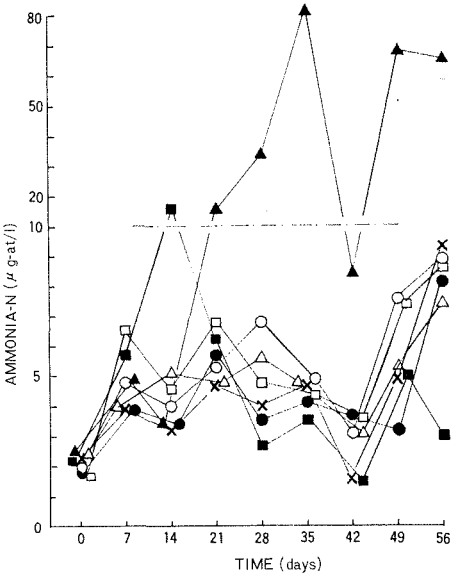


Fig. 10 Changes in concentration of ammonia-N of the culture water.

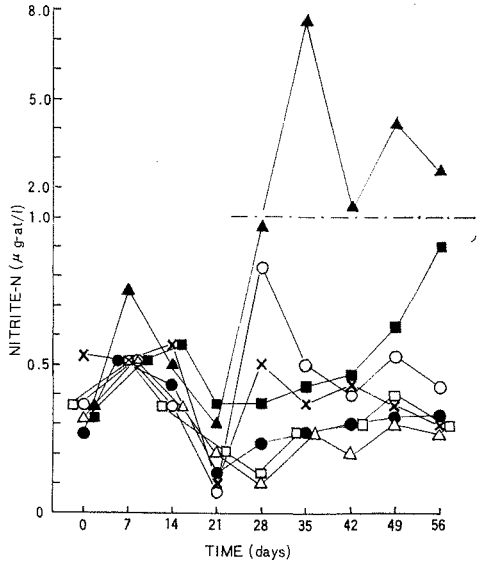


Fig. 11 Changes in concentration of nitrite-N of the culture water.

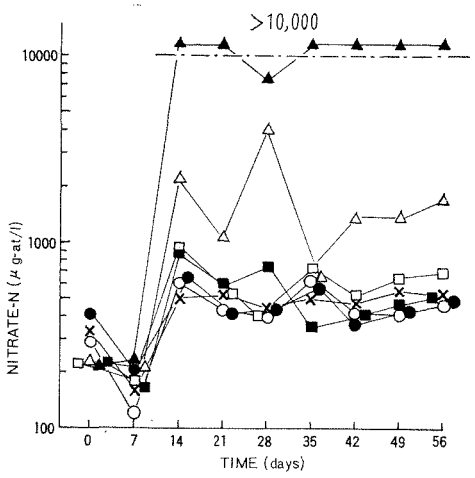


Fig. 12　Changes in concentration of nitrate-N of the culture water.

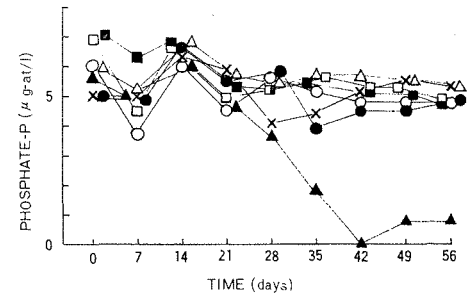


Fig. 13　Changes in concentration of phosphate-P of the culture water.

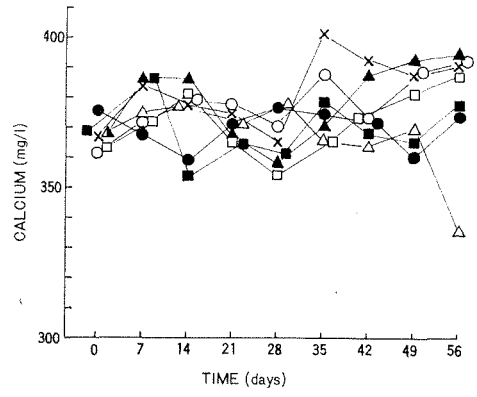


Fig. 14　Changes in concentration of calcium of the culture water.

中の炭酸分圧(温帯水で約29×10^{-5}atomosphere[14])と比較するといずれの飼育水も高く，各槽相互間ではとくにベロナールナトリウム，トリス—buffer添加水が高く，ホウ酸ナトリウムがこれにつぎ，他は対照水とほぼ同じ高さにある。不解離炭酸は炭酸分圧と全く同様の変化を示す。つぎに重炭酸イオン(Fig. 8)についてみると自然海水の$200\sim222\times10^{-5}$g.mols/ℓ[15]に比較してベロナールナトリウム添加水のみが高く，他の飼育槽はこれ以下でその順位はアルカリ度の場合と同一である。また，炭酸イオン(Fig. 9)では自然海水の9～20g.mols/ℓ[15]に比較してベロナールナトリウム，ホウ酸ナトリウム，炭酸ナトリウムの3者が高く，相互間の順位はアルカリ度の場合と同一である。つまり，全炭酸量は試薬溶液の添加量に比例し添加量が多ければそれだけ炭酸系の増大がみられている。

6)　アンモニア—N(Fig. 10)：期間中各飼育水の値は 1.5～80μg-at/ℓの範囲内にあり，とくにトリス—buffer添加水の値が21日目から著しく高くなっているが，対照を含む他の飼育水の値は10μg-at/ℓ以下で相互間に顕著な差はみられない。

7)　亜硝酸—N (Fig. 11)：期間中各飼育水の値は0.1～8.0μg-at/ℓの範囲内にあり，アンモニア—N同様，トリス—buffer添加水の値が28日目より著しく高くなっているが，他の各群は 1.0μg-at/ℓ 以下で相互間に顕著な差はみられない。

8)　硝酸—N(Fig. 12)：期間中各飼育水の値は 100～10,000<μg-at/ℓ の範囲内にあり，トリス—bufferが14日目以後10,000 μg-at/ℓ 以上の値を示し，ホウ酸ナトリウムが同日以後，1,000～4,000μg-at/ℓ を示している。他の飼育水は 1,000μg-at/ℓ 以下で相互間の差は認められない。

以上の窒素系3態についてそれぞれの値を比較するとトリス—bufferを除く他の試薬添加水のアンモニアおよび亜硝酸—Nの値はいずれも低くしかも期間中変化が少なく，貝の収容数つまりその代謝生産物量に対して沪過砂の硝酸化成能が充分発達していたと推定される。トリス—buffer添加水は他の飼育水にくらべ窒素系3態がいずれも高く，またpH値およびアルカリ度が期間中期より著しく低下しているが，これは同試薬が飼育水中で加水分解してそのアミノ基がアンモニアとなり，さらに亜硝酸を経て硝酸となり，飼育水中の過剰塩基を消耗したためと推察される。また，ホウ酸ナトリウム添加水の硝酸—Nの値が比較的高いのは後述の貝の成長に照して，貝の代謝活動が旺盛であったためと考えられる。

9)　燐酸—P(Fig. 13)：期間中各飼育水の値は0～7 μg-at/ℓの範囲内にあり，全般的に次第に減少する傾向を示す。とくに，トリス—buffer添加水は21日目以降，急に減少している。これはおそらく飼育水のpH値の低下が沪過砂および供試貝の貝殻の炭酸カルシウムの溶解を促がし，このカルシウムと燐酸とが結合して不溶性の沈澱を生じたためと想

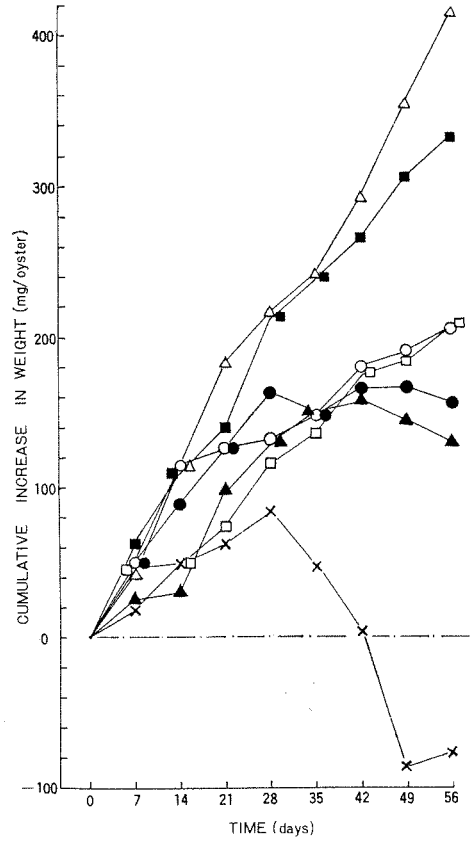


Fig. 15　Changes in cumulative weight of the oysters. The animals were weighed in the sea water(under-water weight).

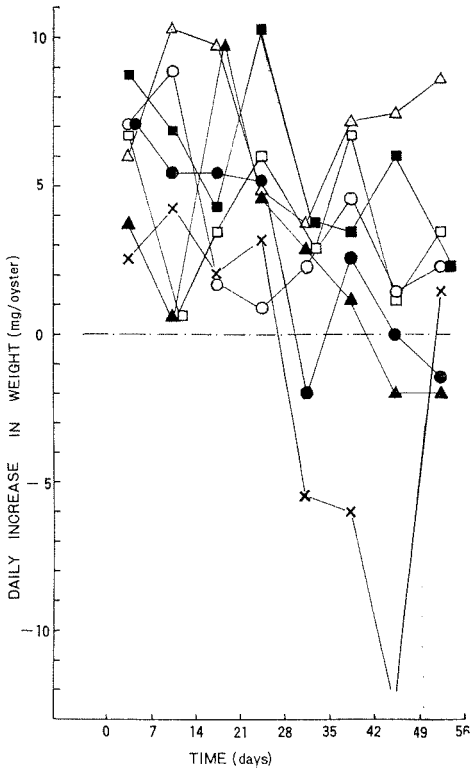


Fig. 16　Changes in daily increase of under-water weight of the oysters.

定される。

10) カルシウム(Fig. 14)：期間中各飼育水は335～400mg/ℓの範囲内にあり，いずれの飼育水も期間中著るしい増減はなく，また飼育水相互間に有意な差は認められない。

各貝群の成長の変化

1) 水中重量の変化：各測定日間における各貝群の水中重量の貝1個当り累積増加量および1日当り平均増加量の算定値を Appendix Table I および Fig. 15, 16 に示す。各貝群はそれぞれの成長量からみて4群に分けられる。最も成長がよかったのはホウ酸ナトリウムおよびベロナールナトリウム添加群であっていずれも35日目頃にやや衰えを示すが全般的には直線的な成長がみられる(第1群)。つぎは水酸化カルシウム，炭酸ナトリウムの両添加群であって第1群にくらべ成長は緩慢であるが56日目においても今後なお成長を継続する傾向がみられる(第2群)。一方，水酸化ナトリウム，トリス—buffer添加群は累積増重量の最終結果において第2群とさほど大きな開きはないが，42日目以降，明らかな減量がみられ，今後さらに減量するものと推定される(第3群)。最も成長が悪かったのは対照群で28日目までは海中で養殖されていたときに蓄えられた体栄養によりわずかではあるが水中重量の増加を示したが，以後継続的に減量し49～56日目には実験開始時より1個当り約100mgの減となった(第4群)。

2) 実験終了後の諸測定値：なお参考までに実験終了後における供試貝の水中重量，全体，貝殻，肉質の湿重量，貝殻および肉質の乾燥重量の測定値および貝全体の湿重量から貝殻の湿重量を差し引いた計算肉質重量を Appendix Table III に示す。

水質と成長との関係

前述のように水中重量の変化の傾向によって貝群を区分すると成長の良好な順に第1群：ホウ酸ナトリウム，ベロナールナトリウム添加群，第2群：炭酸ナトリウム，水酸化カルシウム添加群，第3群：水酸化ナトリウム，トリス—buffer添加群，第4群：対照群となる。これらの順位は実験終了後の各部位の測定値にも同様に示されている。

まず pH 値についてみると，第1群と第2群飼育水とではほとんど同様な値を示すが，第3群，第4群飼育水は著しく低い値を示している。前両群飼育水のpHは8.0以上であり，後両群のそれは8.0以下であって，pH値は貝の成長にかなりの影響を与えることは明らかであるが，一方，第1群と第2群の飼育水相互間においては pH 値と成長量の相関性はなく，しかも第1群と第2群の成長には著しい差がみられており，その差を単に飼育水の pH 値をもって説明することはできない。

つぎに炭酸系についてみると第1群のベロナールナトリウム添加水は炭酸分圧，不解離炭酸，重炭酸イオン，炭酸イオンのいずれにおいても最も多く，同群のホウ酸ナトリウム添加水は第3群のトリス—buffer添加水を除くとベロナールナトリウム添加水のつぎに多い。つまり，第1群のいずれの飼育水も炭酸量が著しく多いにもかかわらず両群の成長は極めて良好であり，この実験の範囲内で，炭酸系の増大が貝の成長を阻害する要因となるということはできない。

さらに窒素系についてみるとトリス—buffer添加水がその3態いずれの値においても最も高く，硝酸の増加が pH 値の低下の原因となり，それらの相乗的作用によって貝の成長

を阻害したとみることができる。ホウ酸ナトリウム添加水においてやや硝酸の増加がみられているが，これは供試貝の旺盛な代謝活動に由来するものと判断され，これによる成長阻害の程度を明らかにすることはできない。

以上，この実験の水質分析の結果から，第3，4両群飼育水は当初予期された平均pH値8.0以下であって，これがためにそれら両群の成長が劣っていたと考えられるが，第1群と第2群の成長の較差の原因をみいだすことはできない。ただ，第1群の試薬が弱アルカリ性を呈するのに対して第2群のそれは強アルカリ性を呈する点に相違がみられる。

論　　議

現在でも多くの閉鎖循環式水族館においては飼育水のpH調整のために生石灰（quick lime）を用いているが，これに対してBreder and Howley[4]およびBreder and Smith[5]は，試薬の添加による自然海水との偏差をできるだけ少なくすることが飼育動物にとって最良の条件である，として重炭酸ナトリウム（あるいは炭酸ナトリウム）を用いることを提唱した。一方Atkins[16]は，重炭酸ナトリウムを用いても単にpHの上昇は可能であるが，生石灰を用いればカルシウムは炭酸ガスと結合して炭酸カルシウムとなり炭酸ガスは完全に除去されるから生石灰がより有効である，と主張した。

前者においてはナトリウムとカルシウムの添加についてそれらが生物体におよぼす影響の比較を自然海水の塩類組成にもとづいて論議しており，高槻[17]も同様に，海水中にナトリウム，カリウム，カルシウムおよびマグネシウム塩を添加した場合，カキの心臓博動に異常が認められ，整調な律動を保持するためには自然海水と同様な割合いが適当であるとしている。しかしながら本実験において水酸化カルシウム添加群の成長と水酸化ナトリウムおよび炭酸ナトリウム添加群の成長との間にはほとんど差が認められず，pH調整のための添加量の範囲内であれば塩の種類による影響の較差は比較的僅少であると推察される。一方，ホウ酸ナトリウムの添加群の成長が上述各群に比較して著しく良好であったことからみても，成長に関してより重要な条件の存在が想定される。

Atkins[16]は試薬の添加の目的の一つに炭酸ガスの沈澱除去を挙げており，小久保[18]もまた水中の炭酸の増加は生物の呼吸作用に著しい影響をおよぼすとしている。しかしながら，本実験において最も貝の成長が良好であったホウ酸ナトリウムおよびベロナールナトリウム添加群の飼育水はいずれもトリス—buffer添加水を除く他の試薬添加水よりも炭酸分圧において最も高い値を示している。このようなアルカリ性物質の投与によるpH維持と炭酸分圧の増加に関して出口[3]は，炭酸のみが直接血液中に入ったとすると血液のpHは低下するわけであるが実際には他のイオンも同時に血液中に入り緩衝系全体として血液に影響すると考えてよいであろうと述べており，Atkins[16]の炭酸ガスの除去が飼育水の水質保持の最良の手段とする考えには賛同できない。

小久保ら[19]の研究によれば酸のカキの心臓に対する作用程度は種類によって異なり，同じpHでも解離度の低いものほど高い濃度を必要とし，したがって生物への影響の度合いは大きくなるとしている。このような現象はアルカリ性物質においても同様であって，試薬の解離度が低ければそれだけ試薬の添加量は多くなり，それにともなってアルカリ度

および緩衝価は高くなり，さらに同じ pH であっても生物体への影響（生物種に応じた適切な pH の範囲まではプラスの効果として）が増大すると思われる。本実験におけるホウ酸ナトリウムおよびベロナールナトリウム添加群が他の各群に比較して著しく成長が良好であったのは添加した試薬の解離度に起因するものと考えてよいであろう。

なお，Mc Farland and Norris[6] は魚類輸送中における海水の pH の調節に各種の試薬を用い，トリス—buffer が他の試薬にくらべ比較的高い pH においてその緩衝作用がみられることから，トリス—buffer の使用が最も適当であるとした。しかしながら本実験の結果からみて閉鎖循環式水槽などを用いて長期間，魚貝類を飼育する場合には試薬の解離，アミノ基の再結合の結果としての生産物，アンモニア，亜硝酸，硝酸が直接，間接的に貝に影響を与えることが明らかとなった。本試薬の使用に際してはこの点の留意が必要と考えられる。

要　　約

閉鎖循環式飼育装置7組を用い，各組に満1年生アコヤガイ5個ずつを収容し，それぞれの飼育水にそれらの pH 値が常に 8.0 以上になるように各種の緩衝試薬を添加し，無添加のものを対象として56日間の飼育期間における水質および貝の成長の変化を調査して，それぞれの試薬の緩衝効果および貝に与える影響について検討した。

得られた結果はつぎのとおりである。

1)　pH8.0以上になるように添加した各試薬の 0.1N 溶液の総添加量はトリス—buffer，ベロナールナトリウムがとくに多く，以下ホウ酸ナトリウム，水酸化ナトリウム，水酸化カルシウム，炭酸ナトリウムの順であった。各飼育水の期間中の平均 pH 値は炭酸ナトリウム，ベロナールナトリウム，ホウ酸ナトリウム，水酸化カルシウム，水酸化ナトリウム，対照，トリス—buffer の添加水の順であった。トリス—buffer 添加水は35日目頃から pH の上昇がみられず，45日目からその添加を中止した。期間中の pH 値の変化から判断すると，水酸化ナトリウムの添加量は飼育水の pH 値を調整するのに充分でなかったと思われる。対照を除くその他の4飼育水の pH 値には明らかな差異は認められない。

2)　炭酸分圧はベロナールナトリウムとトリス—buffer 添加水とが最も高く，ついでホウ酸ナトリウム添加水が高く，その他は対照と同様に低い値を示した。重炭酸イオンおよび炭酸イオン濃度はトリス—buffer を除き炭酸分圧と同様の傾向を示した。トリス—buffer 添加水は重炭酸イオン濃度においてはベロナールナトリウムとホウ酸ナトリウム添加水との中間に位置し，炭酸イオン濃度においては35日目まではホウ酸ナトリウム添加水のそれと同様の値を，それ以後においてはかなりの低減を示した。

3)　窒素系3態についてはいずれの値においてもトリス—buffer 添加水が他の飼育水にくらべ著しく高い。

4)　各貝群はその成長量の順につぎの4群に分けられる。(1)　ホウ酸ナトリウム，ベロナールナトリウム添加群。(2)　水酸化カルシウム，炭酸ナトリウム添加群。(3)　水酸化ナトリウム，トリス—buffer 添加群。(4)　対照群。

以上の結果からつぎのことが論議される。

1) いずれの試薬添加群の成長も対照群のそれより良好であったことは，炭酸分圧の増大にかかわらず，pH 値の回復が貝の成長にとってより好条件であったことを示している。

2) 長期間の無換水飼育の場合に，トリス—buffer の添加は窒素系の増大をもたらし，直接あるいは間接的に水質を悪化する原因となる。

3) ホウ酸ナトリウム，ベロナールナトリウム（上記第1群）および水酸化カルシウム，水酸カルシウム（上記第2群）の4試薬添加による飼育水の pH 値の差はほとんどなく，また炭酸分圧はむしろ第1群の両飼育水が高く，上記のような貝の成長のちがいは試薬の質的な差とみることができる。上記第1群の両飼育水に用いた試薬は他の試薬にくらべ，いずれもその解離度が著しく低いのが注目される。

Summary

The present study has been done to make clear the effects on the growth of the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata*(Gould), of various alkaline reagents added to the culture water for the control of its pH. Thirty five one-year-old pearl oysters were equally divided into 7 groups, which were reared in separate recirculating tanks for 56 days. All the groups were given rice powder as food at a rate of 40 mg per oyster per day. In order to keep the pH of culture water above 8.0 any of six kinds of reagents was added. Chemical analysis of culture water and measurements of underwater weight of the animals were made for each experimental group every seven days, and the careful inspection was then made on the buffer effects of the alkaline reagents used and also the effects of these reagents on the growth of pearl oyster.

The results obtained are summarized as follows:

1) Tris-buffer or barbital sodium required by far the greatest amount to maintain the pH value of culture water above 8.0, and they were followed by sodium borate, sodium hydroxide, calcium hydroxide and then sodium carbonate. As for the average pH values of culture water the greatest figure was obtained in association with sodium carbonate addition, and next in descending order are barbital sodium, sodium borate, calcium hydroxide, sodium hydroxide, control and Tris-buffer addition. The addition of Tris-buffer was discontinued 45 days after the begining of experiment, because, in spite of its addition, the pH value of culture water never increased from the 35th day onward. No remarkable differences were observed in the pH values among the use of the above four reagents.

2) The partial pressure of carbon dioxide was the highest in the culture water added barbital sodium or Tris-buffer, and the second highest in that added sodium borate, while the remaining reagents gave as low values as control. As for the concentrations of bicarbonate and carbonate ions of culture water the same tendency as in the case of the partial pressure of carbon dioxide was exhibited in the culture water recived the alkaline reagents except for Tris-buffer. The concentration of carbonate

ions in the Tris-buffer-added culture water kept the same level as that in sodium borate-added water during the first 35 days of experiment, but it fell down considerably thereafter

3) The Tris-buffer-added culture water exhibited a remarkably high level for ammonia, nitrite and nitrate as compared with the case of the other alkaline reagents.

4) From the cumulative growth patterns of pearl oyster reared it was possible to class the seven differently treated groups of oyster as follows: a) Sodium borate and barbital sodium oyster groups; they showed the most rapid growth throughout the rearing period. b) Calcium hydroxide and sodium carbonate oyster groups; they showed a tendency that the growth, though it was slow, might continue even after the experiment. c) Sodium hydroxide and Tris-buffer oyster groups; they showed a decline in weight on the way of rearing. d) Control oyster group; they showed a negative growth in weight except for at the very beginning of the experiment.

From the results obtained the following discussions are made:

1) With the result that the growth of any of treated oyster groups was better than that of the control oyster group, it can be said that the artificial control of pH of the culture water by alkaline reagents created a favorable condition for the growth of pearl oyster, even under the condition that oysters were exposed to the increasing partial pressure of carbon dioxide.

2) When oysters were reared without changing water for a long period of time, the continued addition of Tris-buffer may be a cause of water deterioration, bringing the increase of ammonia, nitrite and nitrate, and the falling down of pH value associated with the increase of nitrate exerted unfavorable influence upon the growth of the animals.

3) In spite of the facts that there was no significant difference in pH level between the (a) and (b) growth groups mentioned before, and that the partial pressure of carbon dioxide was higher in the first group than in the second group, the growth of pearl oyster in the first group surpassed that in the second group. Therefore, the difference in growth between the above two groups was possibly due to the different nature of the reagents applied. Here, it is worthy of note that the reagents which brought about the most rapid growth of oyster possess a considerably low dissociation degree.

文　　献

1) 佐伯有常　1958. 魚介類の循環沪過式飼育法の研究。基礎理論と装置設計基準。日水誌，23(II)：648—695.

2) Saeki, A. 1963. The composition and some chemical control of the water of the closed circulating aquarium. Bull. Mar. Biol. st., Assamushi Tohoku Univ., 11(3) : 99-104.

3) 出口吉昭 1960. 水槽内における各種環境条件の研究Ⅲ. 水族館海水の滴定曲線について。日大農獣医学術研報12：34—41.
4) Breder, C. M. and Howley, T. H. 1931. The chemical control of closed circulating system of sea water in aquaria for tropical marine fishes. Zoologica, 9(11)：403—442.
5) Breder, C. M. and Smith, H. W. 1932. On the use of sodium bicarbonate and calcium in the rectification of sea water. J. M. B. A., 18：199—200.
6) Mc Farland W. N. and Norris K.S. 1958. The control of pH of buffers in fish transport. California Fish and Game, 44(4).
7) 桑谷幸正・西飯保 1968. 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.
8) 桑谷幸正・西飯保 1967. 水槽飼育アコヤガイの成長におよぼす米粉末投与量の影響について。国立真珠研報，12：1409—1431.
9) 日本海洋学会 1958. 海洋観測指針。
10) Strickland J. D. H. and Parsons T. R. 1960. A manual of sea water analysis. Bull. Fish. Res. Bd. Canada, 125 (Nitrate : 61-70).
11) 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.
12) 桑谷幸正・西飯保 1966. 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.
13) Sverdrup, H. U., Johnson, M. W. and Fleming, R. H. 1961. The oceans. (chemistry of sea water : 165-227). Modarn Asia Editions.
14) Buch, K. 1952. The cycle of nutrient salts and marine production. Rapp. Cons. Explor. Mer., 132：36.
15) Buch, K. and Gripenberg, S. 1932. Uber den Einfluss des Wasserdruckes auf pH und das Kohlensäuregleichgewicht in grösseren Meerestiefen. J. cons. int. Explor, Mer., 7：233.
16) Atkins, W. R. G. 1931. Note on the condition of the water in a marine aquarium. Jour. Mar. Biol. Assoc. N. S., 17：479—481.
17) 高槻俊一 1949. 蠣牡。(塩類イオンの影響：72—74)。技報堂。東京。
18) 小久保清治 1962. 海洋生物学。(海水中の炭酸と生物：171—173)。恒星社厚生閣。東京。
19) Kokubo, S., Tamura, T. and Hojik, K. 1934. The effect of the pH on the heart beat of oyster as determined by different kinds of acid and alkali. J. Fish. Sapporo, 37.

Appendix Table I. Data on qualities of the rearing water and growth of the pearl oyster. * $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, † Tris-buffer $(CH_2OH)_3CNH_2$, ‡ Barbital sodium $C_8H_{11}N_2O_3Na$.

Date and days	Alkaline reagent	W.T. C°	Chlorinity ‰	pH value	Alkalinity mN	C.O.D. O_2 mg/l	Ammonia—N μg-at/l	Nitrite—N μg-at/l	Nitrate—N μg-at/l	Phosphate—P μg-at/l	Calcium mg/l	Increase in under water weight		
												Cumulative		Daily
												g/group	mg/oyster	mg/oyster
28. Aug. 0 day	None	23.3	—	7.92	1.61	—	2.3	0.53	330	5.0	367	—	—	—
	$Ca(OH)_2$	23.4	—	7.91	1.54	—	2.0	0.37	295	6.0	361	—	—	—
	NaOH	23.3	—	7.91	1.54	—	1.8	0.27	410	5.0	375	—	—	—
	$Na_2B_4O_7$*	23.2	—	7.92	1.55	—	2.4	0.32	227	6.0	368	—	—	—
	Tris†	23.3	—	7.91	1.53	—	2.5	0.37	230	5.6	368	—	—	—
	Na_2CO_3	23.3	—	7.97	1.55	—	1.7	0.37	240	6.9	363	—	—	—
	Barbital‡	23.5	—	7.91	1.54	—	2.2	0.32	335	7.0	368	—	—	—
4. Sep. 7 days	None	21.1	19.49	7.91	1.48	—	3.9	0.51	160	5.0	384	0.09	18	2.57
	$Ca(OH)_2$	21.1	18.84	7.98	1.56	—	4.8	0.51	120	3.7	372	0.25	50	7.14
	NaOH	21.0	19.01	7.96	1.67	—	3.9	0.51	203	4.9	368	0.25	50	7.14
	$Na_2B_4O_7$	21.0	19.39	8.00	1.67	—	4.0	0.51	210	5.2	375	0.21	42	6.00
	Tris	21.0	19.25	7.95	1.74	—	4.9	0.75	235	5.0	386	0.13	26	3.71
	Na_2CO_3	20.9	19.36	7.95	1.66	—	6.5	0.51	180	4.5	372	0.23	46	6.57
	Barbital	20.8	19.21	7.95	1.98	—	5.7	0.51	165	6.3	386	0.31	62	8.86
11. Sep. 14 days	None	21.7	19.05	7.96	1.65	—	3.2	0.57	490	6.3	377	0.24	48	4.29
	$Ca(OH)_2$	21.7	18.15	8.02	1.90	—	4.0	0.36	600	6.0	379	0.57	114	8.86
	NaOH	21.6	18.55	7.99	1.79	—	3.4	0.43	655	6.6	359	0.44	88	5.43
	$Na_2B_4O_7$	21.6	18.75	8.04	2.16	—	5.1	0.36	2200	6.8	377	0.57	114	10.29
	Tris	21.7	18.60	7.99	2.62	—	3.4	0.50	>10000	6.0	386	0.15	30	0.57
	Na_2CO_3	21.6	18.82	8.09	2.23	—	4.6	0.36	930	6.6	381	0.25	50	0.57
	Barbital	21.6	18.49	8.05	3.63	—	16.1	0.57	860	6.8	354	0.55	110	6.86
18. Sep. 21 days	None	21.7	18.87	7.91	1.43	—	4.7	0.10	520	5.9	375	0.31	62	2.00
	$Ca(OH)_2$	21.6	17.97	8.02	1.80	—	5.3	0.07	430	4.5	378	0.63	126	1.71
	NaOH	21.5	18.59	7.96	1.58	—	5.7	0.13	410	5.5	372	0.63	126	5.42
	$Na_2B_4O_7$	21.4	18.89	7.96	1.96	—	4.8	0.20	1050	5.7	372	0.91	182	9.71
	Tris	21.4	18.43	7.95	2.20	—	16.0	0.30	>10000	4.6	368	0.49	98	9.71
	Na_2CO_3	21.4	18.55	8.05	1.93	—	6.8	0.20	520	4.9	366	0.37	74	3.42
	Barbital	21.5	18.63	7.94	3.20	—	6.2	0.37	600	5.3	365	0.70	140	4.28

25. Sep. 28 days	None	21.4	18.48	7.94	1.41	—	4.0	0.50	435	4.1	366	0.42	84	3.14
	$Ca(OH)_2$	21.3	17.65	8.07	1.80	—	6.8	0.83	400	5.6	371	0.66	132	0.86
	NaOH	21.3	18.05	7.96	1.62	—	3.5	0.23	430	5.8	377	0.81	162	5.14
	$Na_2B_4O_7$	21.4	18.37	8.05	2.14	—	5.6	0.10	4000	5.4	378	1.08	216	4.86
	Tris	21.4	18.16	7.97	2.30	—	33.9	0.97	7500	3.6	359	0.65	130	4.57
	Na_2CO_3	21.4	18.37	8.04	1.81	—	4.8	0.13	400	5.2	355	0.58	116	6.00
	Barbital	21.5	18.27	8.04	3.53	—	2.7	0.37	740	5.2	362	1.07	214	10.29
2. Oct. 35 days	None	20.5	18.01	7.93	1.47	—	4.7	0.37	500	4.4	402	0.23	46	−5.43
	$Ca(OH)_2$	20.5	17.67	8.07	1.80	—	4.9	0.50	620	5.1	388	0.74	148	2.29
	NaOH	20.6	17.91	8.00	1.56	—	4.1	0.27	560	3.9	375	0.74	148	−2.00
	$Na_2B_4O_7$	20.7	18.27	8.14	2.16	—	4.8	0.27	640	5.7	366	1.21	242	3.71
	Tris	20.7	18.06	8.00	2.72	—	81.5	7.63	>10000	1.8	371	0.75	150	2.86
	Na_2CO_3	20.8	18.26	8.05	1.82	—	4.4	0.27	720	5.6	366	0.68	136	2.86
	Barbital	20.8	18.26	8.04	3.38	—	3.5	0.43	360	5.4	379	1.20	240	3.71
9. Oct. 42 days	None	21.6	18.80	7.99	1.62	—	1.6	0.43	475	5.1	393	0.02	4	−6.00
	$Ca(OH)_2$	21.5	18.07	8.06	1.81	—	3.1	0.40	420	4.8	374	0.90	180	4.57
	NaOH	21.6	18.11	7.97	1.67	—	3.7	0.30	365	4.5	372	0.83	166	2.57
	$Na_2B_4O_7$	21.8	18.40	8.04	2.48	—	3.1	0.20	1350	5.7	364	1.46	292	7.14
	Tris	21.8	18.35	7.83	2.57	—	8.4	1.36	>10000	0	388	0.79	158	1.14
	Na_2CO_3	21.8	18.50	8.04	1.89	—	3.6	0.30	515	5.3	374	0.88	176	5.71
	Barbital	21.9	18.49	8.04	3.82	—	1.5	0.47	405	5.1	369	1.32	264	3.43
16. Oct. 49 days	None	22.2	19.22	7.99	1.52	—	4.9	0.37	550	5.5	388	−0.43	−86	−12.86
	$Ca(OH)_2$	22.1	18.31	8.00	1.68	—	7.6	0.53	415	4.8	389	0.95	190	1.43
	NaOH	22.1	18.47	7.96	1.69	—	3.2	0.33	420	4.5	361	0.83	166	0
	$Na_2B_4O_7$	22.1	18.68	8.00	2.08	—	5.3	0.30	1350	5.5	370	1.72	354	7.43
	Tris	22.1	18.61	7.72	2.00	—	68.7	4.13	>10000	0.8	393	0.72	144	−2.00
	Na_2CO_3	22.1	18.74	8.00	1.81	—	7.4	0.40	640	5.3	382	0.92	184	1.14
	Barbital	22.1	18.78	7.94	3.61	—	5.0	0.63	462	5.0	356	1.53	306	6.00
23. Oct. 56 days	None	22.0	19.59	7.94	1.63	—	9.3	0.30	520	5.3	391	−0.38	−76	1.43
	$Ca(OH)_2$	22.0	18.78	7.98	1.83	—	8.9	0.43	455	4.8	393	1.03	206	2.28
	NaOH	22.1	18.91	7.95	1.81	—	8.1	0.33	480	4.9	374	0.78	156	−1.43
	$Na_2B_4O_7$	22.1	19.17	7.99	2.17	—	7.4	0.27	1700	5.3	336	2.02	414	8.57
	Tris	22.1	19.07	7.73	1.71	—	65.2	2.57	>10000	0.8	395	0.65	130	−2.00
	Na_2CO_3	22.2	19.19	7.98	1.75	—	8.6	0.30	680	4.9	388	1.04	208	3.43
	Barbital	22.2	19.15	8.04	4.03	—	3.0	0.90	500	4.8	378	1.61	332	2.28

Appendix Table II. Data on carbon dioxide components and partial pressure in the rearing water added alkaline reagents.

Date and days	Alkaline reagent added in culture water	$[ACO_2]$ g·mols/l	$[H_2CO_3]$ g·mols/l	$[HCO_3']$ g·mols/l	$[CO_3'']$ g·mols/l	$[\Sigma CO_2]$ g·mols/l	Pco_2 atmosphere
		$\times 10^{-5}$	$\times 10^{-5}$	$\times 10^{-5}$	$\times 10^{-5}$	$\times 10^{-5}$	$\times 10^{-5}$
28. Aug. 0 day	None	155.0	1.210	113.3	20.83	135.4	38.79
	$Ca(OH)_2$	148.0	1.180	108.2	19.92	129.3	37.95
	NaOH	148.0	1.190	108.9	19.56	129.6	38.14
	$Na_2B_4O_7$	149.0	1.173	109.7	19.66	130.5	37.53
	Tris	147.0	1.182	108.2	19.43	128.8	37.88
	Na_2CO_3	149.0	1.017	106.9	21.06	129.0	32.60
	Barbital	148.0	1.190	109.2	19.40	129.8	38.39
4. Sep. 7 days	None	142.2	1.309	117.3	12.41	131.0	39.78
	$Ca(OH)_2$	149.5	1.206	125.4	12.05	138.6	36.48
	NaOH	160.6	1.311	130.6	15.08	147.0	39.71
	$Na_2B_4O_7$	160.0	1.162	127.7	16.12	145.0	35.20
	Tris	167.6	1.403	137.0	15.29	153.7	42.45
	Na_2CO_3	159.5	1.339	130.9	14.33	146.5	40.44
	Barbital	191.6	1.625	158.2	16.73	176.5	48.94
11. Sep. 14 days	None	158.6	1.299	130.6	13.99	145.9	40.04
	$Ca(OH)_2$	183.3	1.250	141.7	20.79	163.7	38.35
	NaOH	172.5	1.272	135.4	18.51	155.2	38.65
	$Na_2B_4O_7$	208.8	1.330	159.4	24.72	185.4	40.73
	Tris	255.4	1.876	200.3	27.54	229.7	57.64
	Na_2CO_3	214.9	1.157	155.9	27.27	184.3	35.43
	Barbital	355.7	2.221	271.0	42.35	315.5	68.03
18. Sep. 21 days	None	137.3	1.242	110.9	13.18	125.3	38.22
	$Ca(OH)_2$	173.4	1.199	135.1	19.12	155.5	36.60
	NaOH	151.8	1.229	122.0	14.90	138.1	37.57
	$Na_2B_4O_7$	189.7	1.524	152.0	18.81	172.4	46.59
	Tris	214.0	1.793	173.2	20.39	195.4	54.66
	Na_2CO_3	185.7	1.174	143.0	21.32	165.5	35.79
	Barbital	314.0	2.407	253.5	30.27	286.2	73.59
25. Sep. 28 days	None	135.1	1.161	109.8	12.67	123.6	35.41
	$Ca(OH)_2$	174.3	1.426	141.7	16.26	159.4	43.08
	NaOH	156.1	1.296	126.9	14.57	142.8	39.22
	$Na_2B_4O_7$	206.7	1.315	159.6	23.54	184.5	40.03
	Tris	223.9	1.791	180.2	21.86	203.8	54.44
	Na_2CO_3	173.9	1.138	135.0	19.45	155.6	34.60
	Barbital	346.0	2.255	267.3	39.32	308.9	68.75
2. Oct. 35 days	None	141.5	1.333	120.4	10.51	132.3	39.50
	$Ca(OH)_2$	172.9	1.132	139.9	16.50	157.5	33.43
	NaOH	149.7	1.167	123.8	12.95	137.9	34.59
	$Na_2B_4O_7$	207.5	1.079	159.3	24.09	184.5	32.22
	Tris	265.6	2.049	218.3	23.62	244.0	60.99
	Na_2CO_3	174.8	1.163	139.7	17.58	158.4	34.76
	Barbital	231.0	1.580	185.4	22.80	209.7	47.22
9. Oct. 42 days	None	155.3	1.135	121.5	16.93	139.5	34.70
	$Ca(OH)_2$	173.8	1.077	133.2	20.29	154.6	32.84
	NaOH	161.0	1.273	128.3	16.32	145.9	38.94
	$Na_2B_4O_7$	240.9	1.530	182.5	29.17	213.2	47.08
	Tris	252.3	2.866	210.9	20.73	234.4	88.19
	Na_2CO_3	181.8	1.151	137.6	22.12	160.8	35.40
	Barbital	373.8	2.348	281.1	46.33	329.8	72.48

16. Oct. 49 days	None	145.2	1.002	109.1	18.05	128.1	31.31
	$Ca(OH)_2$	161.5	1.126	123.0	19.25	143.3	34.91
	NaOH	162.9	1.266	126.4	18.22	145.9	39.30
	Na_2B_4O	201.3	1.385	152.4	24.41	178.2	43.02
	Tris	196.1	2.915	168.0	14.05	185.0	90.52
	Na_2CO_3	174.2	1.197	131.9	21.18	154.2	37.18
	Barbital	355.0	2.890	277.5	38.74	319.1	89.89
23. Oct. 56 days	None	156.7	1.250	121.8	17.44	140.5	38.93
	$Ca(OH)_2$	176.5	1.292	135.8	20.35	157.4	40.05
	NaOH	174.9	1.416	136.4	19.27	157.0	43.98
	$Na_2B_4O_7$	210.1	1.464	158.9	25.57	186.0	45.60
	Tris	167.3	2.390	142.3	12.51	157.2	74.45
	Na_2CO_3	168.2	1.196	127.2	20.54	148.9	37.32
	Barbital	395.4	2.370	288.7	53.35	344.4	74.05

Appendix Table III. Data on whole, shell and meat weights of the test pearl oysters after period of the rearing experiment.

Alkaline reagent added in culture water	Under-water weight	Wet weight				Dry weight	
	Whole	Whole	Shell	Calculated meat*	Meat	Shell	Meat
None	5.61 ±0.45	16.37 ±1.55	7.86 ±0.71	8.51 ±0.91	5.27 ±1.03	7.16 ±0.76	0.74 ±0.12
$Ca(OH)_2$	5.95 ±0.35	17.05 ±1.59	8.57 ±0.52	8.48 ±1.11	4.72 ±0.73	7.83 ±0.44	0.72 ±0.18
NaOH	5.75 ±0.44	17.05 ±1.81	8.19 ±0.81	8.96 ±0.98	4.97 ±0.79	7.40 ±0.82	0.68 ±0.13
$Na_2B_4O_7$	6.03 ±0.33	17.27 ±1.85	8.66 ±0.58	8.61 ±1.48	5.49 ±1.30	7.90 ±0.50	0.85 ±0.15
Tris	5.90 ±0.55	18.04 ±2.08	8.68 ±0.87	9.37 ±1.32	4.78 ±0.81	7.93 ±0.86	0.70 ±0.17
Na_2CO_3	5.84 ±0.30	16.68 ±0.91	8.49 ±0.47	8.19 ±0.71	4.74 ±0.56	7.43 ±0.32	0.70 ±0.14
Barbital	6.09 ±0.22	18.03 ±0.45	8.98 ±0.52	9.05 ±0.79	6.25 ±0.75	8.04 ±0.48	0.87 ±0.14

* Calculated meat weight=Whole weight−Shell weight.

アコヤガイの酸素消費量と水温との関係について*,†

植　本　東　彦
国立真珠研究所

真珠養殖の過程で，しばしば問題にされている密殖における抑制要因，異常斃死の原因あるいは病虫害における生理的な誘引条件などに関しては，さまざまの調査研究が行なわれているが，アコヤガイの生理学的側面からの研究は少ない。したがって，アコヤガイの代謝活動が，それぞれの環境要因の中の条件の変化に対応して，どのような動向を示すか，いいかえれば，生理的な抑制，成長および均衡失調などの起こる条件が，それぞれの環境要因の中のどこにあるかを調べる必要に迫られている。

筆者は，貝のエネルギー代謝の動向を指標するものとして酸素消費量を用いることとしたが，アコヤガイの酸素消費量に関する研究は，そのほとんどが溶存酸素量との関係において調べられており，他の環境要因との関連で調べられた例はない。そこで，まず酸素消費量と水温との関係を調べたので，その概要を報告する。

稿を草するに当り，実験資料のとりまとめに協力をいただいた当研究所西飯保技官に感謝の意を表する。また，英文の校閲を賜わった東海大学海洋学部司書故石田昌夫氏に深く感謝の意を表する。

材料及び方法

実験は昭和42年11月10日から同月22日まで行ない，実験材料には三重県産満2年生のアコヤガイを用い，1回の測定に30個体を使用した。実験装置は図1に示した。まず，所要温度はヒーター（H：0.5～3 kw ステンレス・シーズ管）と低温恒温器（A）内の冷却海水(B：0～2°C) の供給によって得られ，これはサーモレギュレーター(J)，リレー(K)及びポンプ(C)によって制禦される。補給水槽(G)から供給された海水は水位調節器(F)を通り，温度調節水槽(L)に入り空気と共に混合され，所定の水温に調節されて脱泡水槽(M)に入り，ここで微細な気泡が除かれ，次の循環水槽(P)に入る。さらにこの海水は貝

* Haruhiko Uemoto. Relationship between oxygen consumption by the pearl oyster and its environmental temperature. With English summary, P. 1622. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 13 : 1617—1623. 1968.
† 国立真珠研究所業績 No. 169.（国立真珠研究所報告13：1617—1623. 昭和43年7月）

収容水槽(R)を通り循環水槽へ戻り，一部は出水部(Q)から外部に排出され，他は循環ポンプ(N)を通って循環する。これらの実験条件は表1の通りである。循環水槽と貝収容水槽との間で水を循環させた理由は，流速及び溶存酸素量の変動によって酸素消費量に変化が起こることを避けるためである。また，各設定温度に対して供給水量を違えたことも上

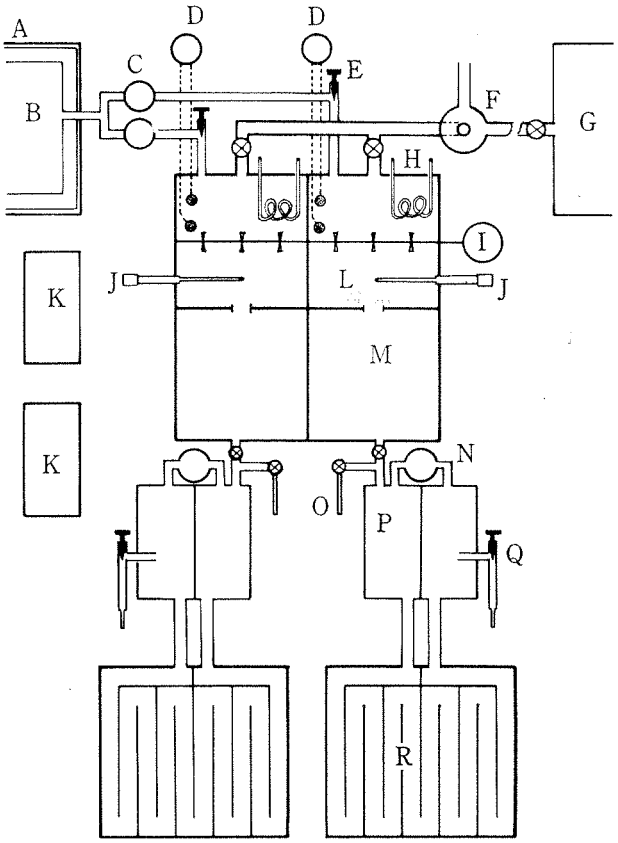


図1　酸素消費量測定装置

A：低温恒温器，B：冷海水槽，C：冷海水供給ポンプ，D：エアーポンプ，E：水量調節ニードルバルブ，F：水位調節器，G：補給水槽，H：ヒーター，I 攪拌用モーター，J：サーモレギュレーター，K：リレー，L：温度調節水槽，M：脱泡水槽，N：循環ポンプ，O：入水部採水管，P：循環水槽，Q：出水部流量調節バルブ及び採水管，R：貝収容水槽

表 1　実験条件

温　　度	供給水量	循環水流速	測定時間	測定年月日
13° C	0.5 ℓ/分	約 7 cm/秒	貝を収容し，24	1967年11月22日
15	0.5	〃	時間常温海水を	〃　〃　11日
18	1.0	〃	流し，所定温度	〃　〃　15日
21	1.0	〃	に設定後16時間	〃　〃　17日
24	1.5	〃	目から24時間目	〃　〃　17日
27	2.0	〃	までの毎時間	〃　〃　15日
30	2.5	〃		〃　〃　11日
33	3.0	〃		〃　〃　22日

記の理由によるものであり，入水部採水管(O)と出水部(Q)から得られた海水中の溶存酸素量の差が 0.5 cc/ℓ 以内になるように，予備実験の結果から供給水量を定めた。供給水量の調節は出水部(Q)のニードルバルブによった。上記の溶存酸素量の差を 0.5 cc/ℓ 以内になるように定めた理由は次のようである。実験において，すべての供試個体に対して，その設定温度における飽和酸素量を与えるべきであり，その意味から入水部と出水部との溶存酸素量の差が極めて少なければ，その条件を満足させることとなるが，現在の定量方法の精度において両者の差を求め得る範囲で，かつ，実験的な証明が不十分であるが[4]，飽和酸素量の近傍で貝の酸素消費量に影響を与えることの少ない範囲として，設定温度の飽和酸素量に対してその10分の1以内を仮定し，ほぼ 0.5 cc/ℓ 以内にすることとした。

測定方法は，まず貝収容水槽に貝（30個体）を入れた後に常温海水を24時間流し（供給水量 3ℓ/min.）貝を馴化させ，それから所定の温度及び供給水量に設定した後，16時間目から1時間毎に24時間目まで入水部採水管と出水部から採水し，ウィンクラー法でそれぞれ溶存酸素量を測定する方法をとった。毎時間の入水部・出水部における溶存酸素量の差を平均し，その平均値及び供給水量から1時間当りの酸素消費量を計算し，さらに生肉及び乾燥肉（90°C 3日間）の重量のそれぞれ1g当りの酸素消費量を計算した。

設定水温としては，この装置における冷却・加熱能力が少ないため13°Cから33°Cまでとし，15°C以上は 3°C 間隔で設定した。

実　験　結　果

表1に示した実験条件の下において，各水温に対する貝の酸素消費量を測定した結果を表2に示す。この結果によれば，貝の酸素消費量は水温の上昇と共に増加することが明らかである。

生肉 1 g 1時間当りの酸素消費量は，13°C から33°C までの水温において0.031 cc から0.193 cc まで，乾燥肉については0.209 cc から1.283 cc まで，それぞれ変化した。これら

表 2　実験結果

温度 °C	入水部の溶存酸素量の平均(a) cc/ℓ	出水部の溶存酸素量の平均(b) cc/ℓ	入・出水部の溶存酸素量の差 (a−b) cc/ℓ	1時間当りの供給水量 ℓ/hr.	1時間当りの酸素消費量 (a−b)×供給水量 cc/hr.	新鮮肉重量 g	乾燥肉重量 g	新鮮肉1g 1時間当りの酸素消費量 cc/g/hr.	乾燥肉1g 1時間当りの酸素消費量 cc/g/hr.
13	5.91	5.55	0.36	30	10.8	344	51.5	0.0314	0.2097
15	5.70	5.27	0.43	30	12.9	344	50.5	0.0375	0.2554
18	5.12	4.86	0.26	60	15.6	343	51.0	0.0455	0.3059
21	4.80	4.47	0.33	60	19.8	338	53.0	0.0586	0.3736
24	4.54	4.26	0.28	90	25.2	349	54.0	0.0722	0.4667
27	4.31	4.05	0.26	120	31.2	345	51.5	0.0904	0.6058
30	4.14	3.84	0.30	150	45.0	321	47.5	0.1402	0.9473
33	3.95	3.59	0.36	180	64.8	335	50.5	0.1934	1.2832

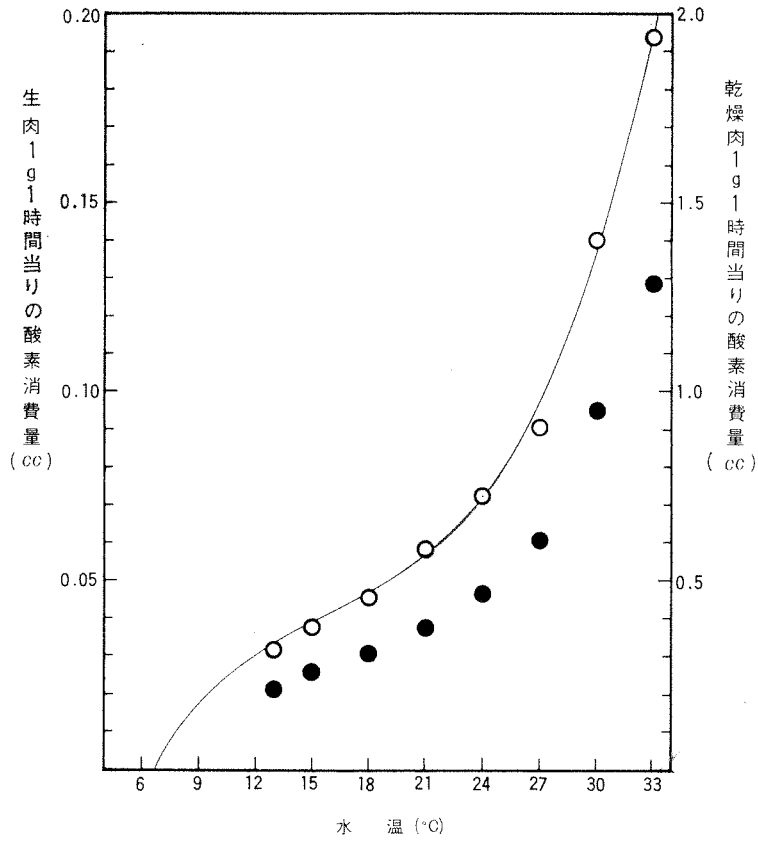


図2　水温と酸素消費量の関係
○…生肉の単位重量当りの酸素消費量
●…乾燥肉の単位重量当りの酸素消費量

の数値を図2に示す。この図によってみると，水温と酸素消費量の関係は，水温の上昇に従って勾配が大きくなるS字状の曲線で示されるが，27°C 以上では急勾配に変化して直線状になる。これらの変化を温度係数 Q_{10} によって表してみると，$Q_{10}=\left(\frac{k_1}{k_2}\right)^{\frac{10}{t_1-t_2}}$ の式から，13～15°C における Q_{10} は 1.8，15～18°C では 1.9，18～21°C が 2.2，21～24°C が 2.0，24～27°C が 2.8，27～30°C が 4.2，30～33°C では 2.9 となり，一般に生物現象の Q_{10} が2と3の間，あるいはその近傍にあるという範囲に適合するが，27～30°C の間においては4.2とかなり大きな値を示している。また，Arrhenius の式に従えば，μ の値は上記の各温度間において，27°C 以下では10800ないし14600の範囲であるが 27°C と30°C の間では 26600 と極めて大きい値を示した。これらのことから，水温と酸素消費量との関係における変曲点は27°C と30°C の間に存在すると考えられる。

実験値から得られた実験式は次式のようである。

$$y=(0.67x^3-4.9x^2+18.793x+16.03)\times10^{-3} \quad , \quad x=\frac{T}{3}-3$$

y：生肉1g1時間当りの酸素消費量（cc），　T：温度（°C）

この式によって貝の酸素消費量が0になる温度を計算すると 6.9°C となり，これはアコヤガイの生存限界水温とされている 7°C に近似している。

考　　察

アコヤガイの酸素消費量に関する既往の研究は，主として溶存酸素量との関係においてなされており，溶存酸素量と酸素消費量との間には正の相関々係があること[1]，溶存酸素量が 0.5 cc/ℓ 以下では酸素消費量の急激な減退が起こること[2]，仕立て作業における容器内の溶存酸素量の減少が貝の酸素消費量を減退させ，直接に貝の代謝活動に対し抑制要因として働くこと[3,4]などが明らかにされている。

水温とアコヤガイの生活適温の範囲を調べた報告には次のようなものがある。貝殻開閉運動の観察から小林ら[5]が 13°C 以上を，沢野[1]が15～25°C を提示し，鰓の繊毛運動の観察から小林ら[6]は15～23°C を，心臓搏動の観察から小林[7]が12～24°C をそれぞれ報告している。

実験結果から水温と酸素消費量の関係をみると，27°C 近傍に変曲点が存在し，この水温以上では酸素消費量が急激に増大していることが明らかである。すなわち，生肉重量1g1時間当りの酸素消費量で比較すると，27°C 以下では温度 1°C の上昇について 0.003～0.006 cc の割合で増加するが，27°C 以上では0.017～0.018 cc であって，その割合が激増する。このことから，27°C 以上の水温における貝の代謝活動は，それ以下の水温の場合よりも激しくなると考えられ，この温度を境として生体内の酸化機転の調節が困難になるのではないかと思われる。同時に，その体内における異化を代償し得るだけのエネルギーの供給がない限り，蓄積栄養源あるいは体構成物質の減耗が急速に起こることとなる。すなわち，水温という環境要因において 27°C 以上の条件は，生体に対して侵襲として働くこととなる。

一般に生活適温とは，対象生物が成長し得る温度の範囲を指すものであり，一方，生物の成長が起こるためには，代謝活動における同化・異化両作用の収支が同化に偏っている必要がある。したがって 27°C 以上では貝の成長が起こる可能性は少なく，適温とは言い難いと思われる。

一方，前述の貝殻開閉運動，鰓の繊毛運動あるいは心臓搏動などの観察によって得られた適温の高温側の上限が 23～25°C にあることについては，現実に 25°C 以上においても貝の成長がみられること[8,9,10]，28°C 以上の水温が長く持続した場合に大量の斃死が起こること[11,12,13]などからみて，やや低いのではないかと思われる。この相違は基本的には実験手段によってもたらされたものではないかと考えられる。たとえば，貝殻開閉運動の中には，呼吸・摂餌・偽糞その他の排泄物の除去・産卵行動・防禦などの行為が含まれるものであり，この運動によって生理状態を指標するのは，やや間接的な手段であると思

われる。また，鰓の繊毛運動や心臓搏動も，現在の研究手法としては当該組織を体外に摘出するか，あるいは半剝身の状態の下で観察せざるを得ず，傷害を与えられない生体，総合的な神経支配を受けている生体から得られた結果とは必然的に異なると考えられる。

このような事態を避け，可能な限り自然に近い状況の下で貝の代謝活動を推定し，あるいは環境諸要因に対する適応性を知る手段として，筆者は貝の酸素消費量の測定を試みたのである。

以上のことから，酸素消費量の変曲点である 27°C 近傍にアコヤガイの適温の上限が存在すると考えられる。

なお，低温側の適温の限界は，今回の実験が 13°C 以下の測定を欠いたために，把握することができなかった。さらに，代謝活動の上からみた抑制・成長・均衡失調をもたらす温度に関し，蛋白質・含水炭素両代謝の動向を血清成分の変化から調べる必要があり，上記の点を含めて今後の研究にまちたい。

摘　　要

1) アコヤガイの代謝活動と環境要諸因との関係を明らかにする手段の一つとして，貝の酸素消費量を採り上げ，まず，水温との関係について実験を行なった。

2) 水温に対するアコヤガイの酸素消費量は，13°C から 33°C の間で，生肉 1 g 1 時間当り 0.03 cc から 0.19 cc まで，乾燥肉として 0.21 cc ないし 1.28 cc まで変化した。温度係数 Q_{10} あるいは Arrhenius の式における μ の値は，それぞれ 27°C と 30°C の間で極めて大きい値を示し，水温と酸素消費量との関係における変曲点は 27°C 近傍に存在すると推定され，これが適温の上限と考えられた。

3) 低温側の限界は，本実験において確認されなかった。

4) 貝殻運動その他既往の研究によって得られた生活適温に関する結果と，本実験の結果との相違について言及した。

Summary

In pursuit of relationship between metabolic activity of the pearl oyster, *Pinctada fucata* (Gould), and its environmental factors, oxygen consumption of the oyster has been used as an index to influence of water temperature upon its life. With the raise of water temperature from 13° to 33°C, the oxygen consumption was found increasing from 0.03 cc to 0.19 cc per hour per 1 g of the fresh meat.

To determine the value of Q_{10} for water temperatures varying from 13° to 33°C, seven thermal ranges were set at two or three-degree intervals. Among the intervals between 13° and 27°C, Q_{10} remained in the range from 1.8 to 2.8. In the interval between 27° and 30°C, however, the value reached as high as 4.2. Application of the

Arrhenius' formula indicated a similar tendency. The value of μ was between 10800 and 14600 in the intervals of temperatures lower than 27°C. But it was as large as 26600 in thermal interval between 27° and 30°C.

These finding suggest that the relationship between the water temperature and oxygen consumption by the pearl oyster has a point of inflexion in that thermal range. In other words, when the temperature goes up higher than 27°C, it possibly becomes difficult for the oyster to adjust the oxidation-reduction process in the body. Therefore, it is thought that the upper limit of the optimal temperature for the pearl oyster exists somewhere around 27°C.

参　考　文　献

1) 沢野英四郎 1950. 真珠貝の池中養殖法の研究. 水産研究会報 3：48—57.
2) 森　主一 1948. 低圧 O_2 海水中のアコヤガイの呼吸. 貝類学雑誌 15(1—4)：46—51.
3) 植本東彦・渡部素生・松原勝 1964. アコヤガイの挿核手術に関する生理学的研究VII. 国立真珠研究所報告 9：1121—1127
4) 植本　東彦 1967. 真珠養殖技術における仕立て作業の意義とその効果に関する研究. 真珠研究会々報 59：46—63.
5) 小林新二郎・東畑正敏 1949. 真珠養殖の研究Ⅱ, Ⅲ. 日本水産学会誌14(4)：196—202.
6) 小林　博・松井淳平 1953. アコヤガイの環境変化に対する抵抗性の研究（1）. 水産講習所研究報告 3(2)：123—131.
7) 小林　博 1955. 同前（2）, 同前 4(1)：95—110.
8) 小林新二郎・渡部哲光 1959. 真珠の研究. P. 118—120. 技報堂
9) ———— 1959. 同前 P. 120—122.
10) 戒能孝和・西口一夫 1959. 愛媛県産アコヤガイと三重県産アコヤガイとの成長度並びに殻形の比較に関する試験. 愛媛県水産試験場, 真珠及び真珠貝養殖に関する試験・研究報告：1
11) 高山活夫 1956. 真珠貝の夏期斃死とその対策について. 真珠（全国真珠養殖漁業協同組合）1.
12) ———— 1957. 夏期斃死の予防について, 特に英虞湾について. 真珠研究会海洋観測分科会刊.
13) ———— 1957. 昨年度真珠貝斃死についての研究報告及び対策. 真珠研究会々報 1：4

アコヤガイ貝殻の病害に関する研究

Ⅲ. *Polydora ciliata* によるアコヤガイ貝殻疾病の季節的発症経過について*,†

水　本　三　朗
国立真珠研究所

真珠養殖母貝であるアコヤガイの貝殻外面に着生し，大きな被害を与えている穿孔性多毛類の一種 *Polydora ciliata* については，その駆除対策として，濃食塩水による浸漬法[1]のほか，最近では薬浴[2),3)]，薬剤塗布なども試みられているが，一般には濃食塩水処理が行なわれている。濃食塩水処理はこの駆除方法では現在最も確実な方法であるが，一面その実施のためには貝の取扱いに多くの労力を必要とすることや，処理時期によって貝にあたえる影響が大きいことなど欠点も多いので，他の駆除法も含，めより効果的な駆除方法の追求が行なわれている。このような駆除対策の確立をはかるためには，病虫の生活史や着生生態，およびこれにともなう貝殻への加害機構について十分究明し，これに基づく発想を行なうことが必要と考えられる。この意味からさきに本病虫の発生消長，アコヤガイ貝殻への罹虫関係などについて報告[4)]したが，今回は病虫の発生消長にともなう貝殻疾病の発症経過および病虫の発生過程と貝殻加害との相互関係について検討を行ない，二三の知見を得たのでここに報告する。

報告に先だち，終始指導と助言を賜わった前国立真珠研究所長太田繁氏に感謝の意を表する。

材料および方法

供試したアコヤガイは，満1年から2年にわたる母貝，および満2年から3年にいたる手術貝とである。このうち母貝については，試験開始に先立ち貝殻面の掃除および病虫駆除を行なった後，試料を3つに区分し，一部を本病害が多発する鳥羽湾に，他の一部を対照地点として病害発生の比較的少ない英虞湾にそれぞれ配置養殖した。また残りの一部については月間における発症被害を検討するため，英虞湾を基点として月毎に一か月間のみ

* Saburo Mizumoto. Studies on the disease of the shells of pearl oyster (*Pinctada fucata*). Ⅲ.On the seasonal process of the disease caused by *Polydora ciliata*. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 13：1624—1634. 1968.

† 国立真珠研究所業績 No. 170.（国立真珠研究所報告 13：1624—1634. 昭和43年7月）

鳥羽湾（冬季にあっては古和浦）で養殖し，再び英虞湾にもちかえる処置を行なった。

試験期間は1965年8月より1966年9月までで，このうち鳥羽湾で継続養殖した試料については，冬季を中心とした11月より5月までの間は避寒のため三重県南島町古和浦へ移殖した。

手術貝は英虞湾内当所多徳島臨海実験所地先で1965年4月より1966年12月まで試験養殖したもので，実際の養殖状態における罹病状況を観察するため病虫駆除は行なわず，年2回通常の貝掃除を実施した。

これら母貝，手術貝について各月ごとにそれぞれ10～40個程度採取し，貝殻における本病虫による加害発症の状況について調査した。すなわち貝殻の内外面をきれいに洗浄し，1～2日乾燥した後さらに殻外面に固着しているフジツボ，カサネカンザシなどや，また鱗片状薄片を小刀で注意深く剝離したうえ観察に供した。加害，発症の観察および測定は，貝殻外面については解剖顕微鏡下で本病虫による侵蝕溝を計数し，貝殻内面においては外面侵蝕溝と対応した発症患部としての腫物状隆起，および初期病徴を示す患部の出現数について計測した。

結果ならびに考察

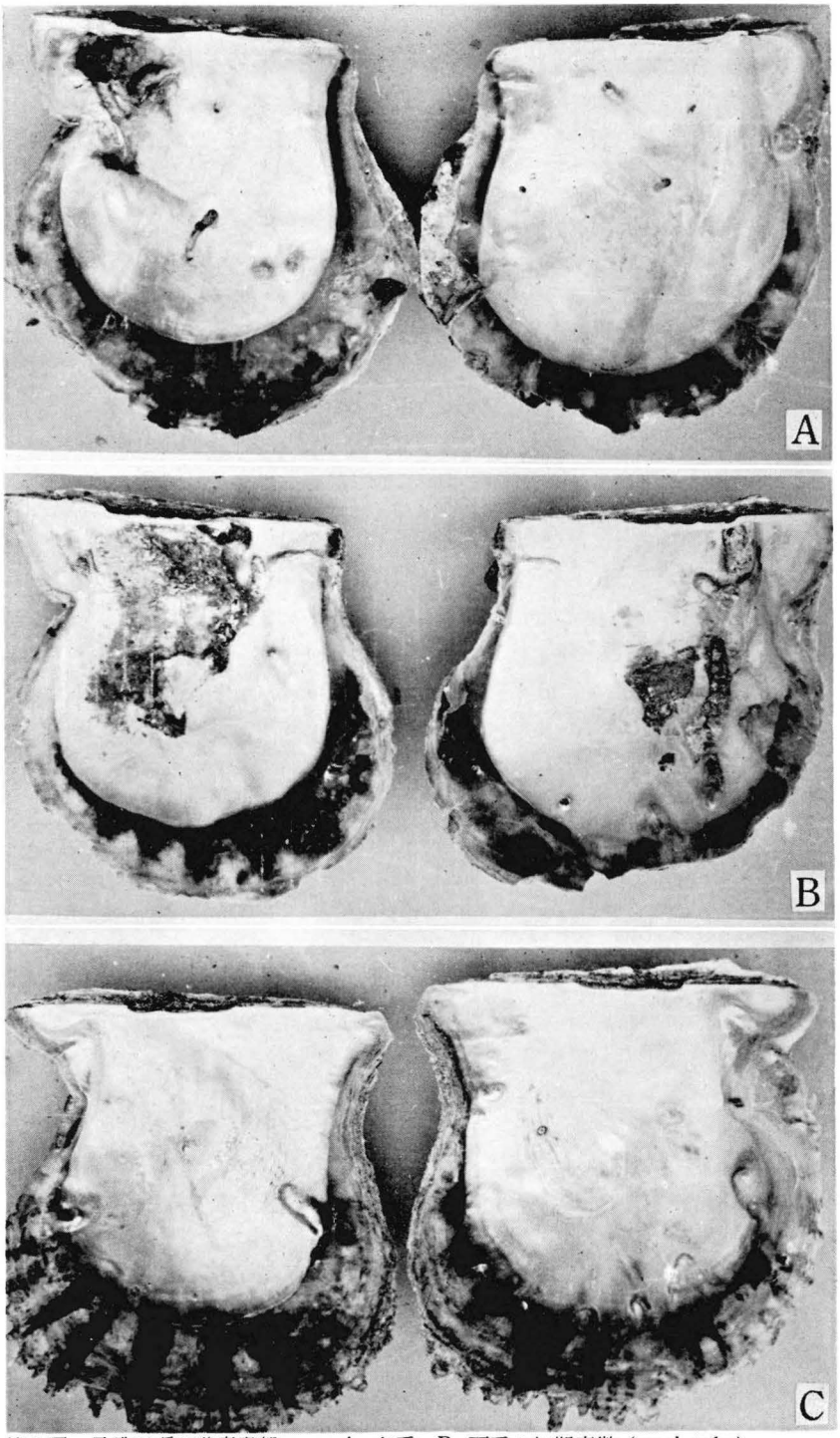
(1)　発病経過の概要

貝殻発病の季節的経過に先立ち，本病虫による貝殻症状発生の経過についてその概要を述べると，まず病虫の貝殻への着生はおもに鱗片状薄片間に行なわれ，着生後病虫はこの鱗片間内側面の基底部に沿った貝殻面上に細長い泥管を造巣して生息する。病虫はこの泥管造巣とともに貝殻への侵蝕穿溝を開始するので，以後泥管と貝殻が密着していた部分には病虫によって侵蝕された蛇型状の溝が形成されるようになる(第1図)。

この侵蝕溝はその後逐次深さを増して，やがて貝殻を貫通し貝殻内面に到達すると，ここに病虫による貝殻内面の初期病徴が発現する。

貝殻内面症状の初期病徴は貝殻中央部（真珠層域）においては一般に 0.5～2.0 mm の黒褐色または茶褐色を呈した円形の小斑点（この場合薄い真珠

第1図　貝殻外面の侵蝕溝



第2図　貝殻内面の発症患部　　A. 冬季, B. 夏季の初期病徴 (mud tube),
C. 発症患部に真珠質の沈積が行なわれた瘤状の隆起

層をとおして侵蝕溝道がみられる）としてみとめられる。他方貝殻周辺部（稜柱層域を主とする区域）におけるものでは，ほとんどが黒褐色または黄褐色を呈した小瘤状あるいは細長い腫物（mud tube）として出現する（第2図 A および B)。これらの小斑点症や腫物の症状は，その後の日時の経過とともに時期および貝個々の石灰代謝機能に応じて順次外観が変化してゆく。すなわち，貝殻内面に穿溝貫通した直後のものでは，外部からの有機物がごく薄い殻皮層で被われ，一見して mud tube などが露出した状態を呈するが，病状の進行にともなって有機物の異常分泌区域は拡大され，ついには大きな黒斑症状[2]*，を呈するようになる(第2図 B)，他方，稜柱層真珠層の沈積が正常に行なわれたものでは，病害患部はこれによって被覆され，他の真珠層域の状態と同一となって，外見上単なる塊状の瘤起となる(第2図 C)。このような状態となれば病勢は一応阻止され，平衡状態に達したものと考えられる。

以上のような貝殻内面における症状で，とくに初期病徴としての患部の出現が，本病虫による貝殻への加害発症時期と考えられるので，今回は主として貝殻外面の侵蝕溝と対応した内面発症患部，とくに上述のような初期病状の発現経過から発病期を検討した。

(2)　貝殻被害の季節的発生消長と発病期

1. 貝殻外面における侵蝕溝，内面における発症痕の時期的な出現経過

本病害が多発する三重県鳥羽湾の真珠漁場に設置した母貝の貝殻被害状況を，貝殻外面の侵蝕溝数および内面発症痕数，さらにこの内面発症痕のうち，初期病徴を示す患部の発現数のそれぞれについて，1965年8月から1966年8月にいたる時期的な経過との関係にし

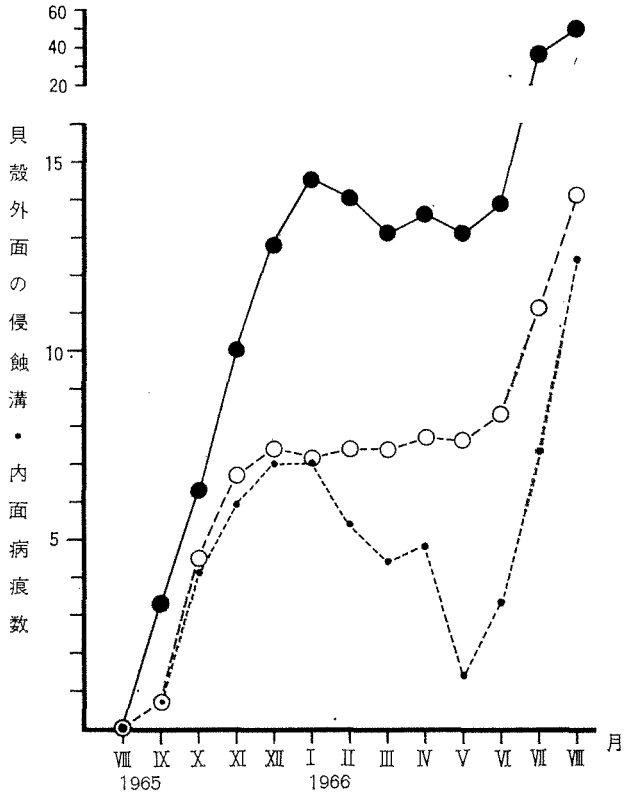
第1表　アコヤガイ貝殻における病害発生の経過

（鳥羽湾母貝1年—2年生貝）

期間		測定貝数	外面侵蝕溝数		内面病痕数			
			総個数	貝1個当たり平均溝数	総個数	貝1個当たり平均病痕数	初期病徴患部数 個数	平均
1965.	VIII	15	1	0.06	0	0	0	0
	IX	15	49	3.3 ± 2.5	13	0.7 ± 1.0	13	0.7
	X	15	95	6.3 ± 3.3	68	4.5 ± 1.2	62	4.1
	XI	15	150	10.0 ± 5.0	101	6.7 ± 3.6	89	5.9
	XII	15	192	12.8 ± 4.6	111	7.4 ± 3.9	105	7.0
1966.	I	15	218	14.5 ± 3.8	107	7.1 ± 2.3	106	7.1
	II	10	140	14.0 ± 3.8	74	7.4 ± 2.5	54	5.4
	III	10	131	13.1 ± 6.7	74	7.4 ± 3.2	44	4.4
	IV	10	136	13.6 ± 4.3	77	7.7 ± 3.6	48	4.8
	V	10	131	13.1 ± 4.5	76	7.6 ± 2.5	14	1.4
	VI	10	139	13.9 ± 4.5	83	8.3 ± 3.1	33	3.3
	VII	10	362	36.2 ± 12.4	111	11.1 ± 2.3	73	7.3
	VIII	10	491	49.1 ± 13.6	141	14.1 ± 3.9	12	12.0

* 貝殻内面の黒斑症状を起す機構についてはなお不明な点が多いが，窪田はこのようなコンキオリンの異常分泌は，*Polydora* による外套膜への刺激と侵入する細菌など微生物が重大な関与をしているのではないかと指摘している。

たがって，それらを図示すると第1表，第3図のようになる。第3図は各月におけるそれぞれの値を貝1個当たりの平均値をもって示してある。



第3図　アコヤガイ貝殻における病害発症の経過
（鳥羽湾母貝．満1年—2年生貝）
—●—　貝殻外面における侵蝕溝数
--○--　貝殻内面における病痕数
---•---　貝殻内面における初期病徴を示す患部数

まず貝殻外面の侵蝕溝数の出現経過であるが，試験開始期の8月には外面に何らの侵蝕溝跡もみられなかったものも，秋季10月から11月にかけて急速度で侵蝕溝が増加し，12月から1月にこの期間内でのピークに達する。その後1月から6月まではほぼ横ばいの状態で経過するが，1～5月には病虫の着生による穿孔はほとんど停止するものと推察される。

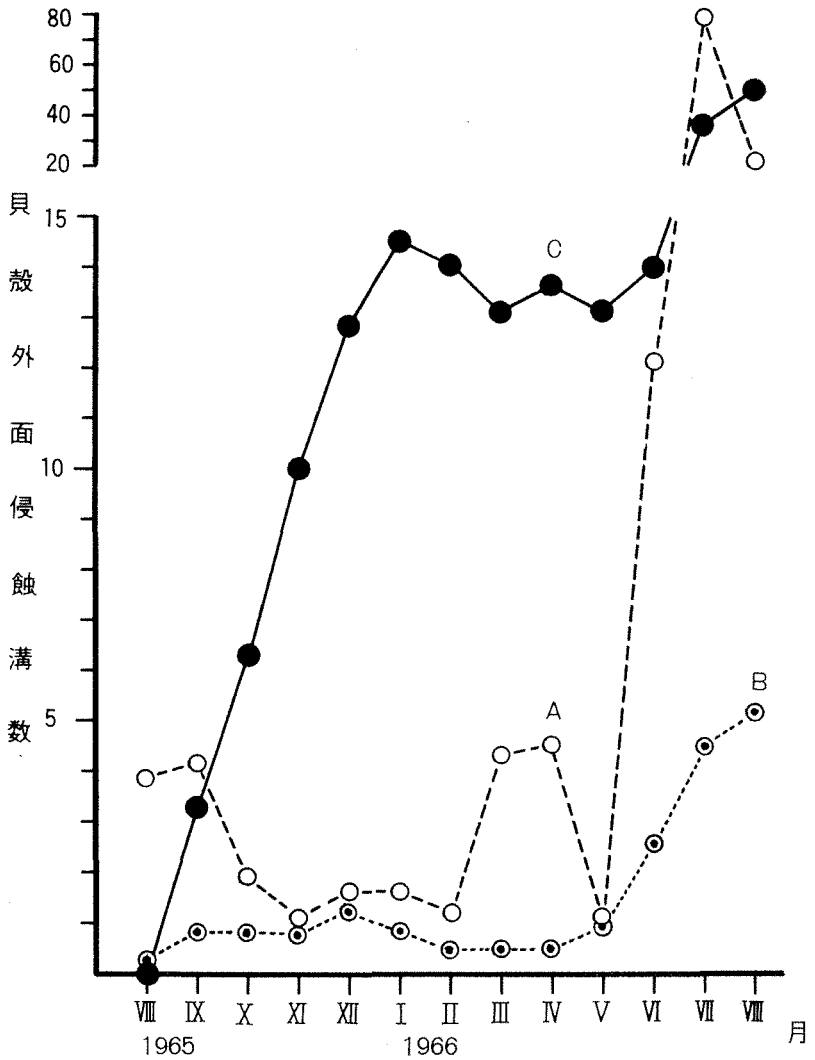
しかし，夏季6月以降急激に増加し，特に7～8月の増加はきわめて著るしく，8月には侵蝕溝数は両年を通じて最大の出現数となる。内面の発症痕数も外面侵蝕溝の経過と全般的にはほぼ同様な傾向をたどり，冬季1月，夏季8月にそれぞれ発現数のピークをみているが，とくにこのうち初期病徴を示す患部の出現数は冬季12～1月，夏季8月に大きな山がみとめられる。

2. 月別移殖貝における貝殻外面侵蝕溝数の時期的出現経過

一方これらと並行して実施した各月ごとの移殖母貝から外面侵蝕溝数の出現経過を，前述の鳥羽湾養殖母貝および対象地点の英虞湾養殖母貝のそれらと対比すると，第2表，第4図のとおりとなる。この場合，搬入移殖後直ちに試料を採取し各月間に発現した侵蝕溝について計測したが，8月から1月にかけての発現が鳥羽湾継続母貝の発現傾向と対比していずれもかなり低い発現数（第2表）であったので，着生病虫による殻面侵蝕を完全に発現せしめるため対照基点の英虞湾漁場でさらに3か月間経過したのち採取計測した。したがってこの試料の侵蝕溝出現の数値は一面において移殖した月ごとの病虫の着生状況を示すものと考えられる。なお対照基点とした英虞湾漁場の発現経過は第2表に示したとおり，8月から越冬後の4月まではほとんど一定で，平均0.7個，5月以降逐次増加するが，

試験終了時の8月では平均5.0個で，他の漁場における発現数と比べるときわめて低い値である。

第4図から月別の移殖貝の侵蝕溝の傾向をみると，8～9月，3～4月，そして7月のそれぞれに発現の山をみている。これを鳥羽湾母貝の発現傾向と対比すると，夏季7月の大きな発現期は一致するが，冬季の発現期では移殖母貝との間に時期的な差がみとめられる。このことは冬季の侵蝕溝の発現が，秋季8～9月における小型の幼虫の着生，生息[4]



第4図　移殖母貝における貝殻外面の侵蝕溝数の時期的出現経過

--○-- A. 搬入移殖後3か月経過した試料
---⊙--- B. 対照基点英虞湾母貝
—●— C. 鳥羽湾母貝

第2表　貝殻外面における侵蝕溝数の時期的出現経過

移殖母貝 (A)			英虞湾養殖母貝 (B)	
搬入移殖期	移殖後直ちに採取した平均溝数	移殖後3か月後の平均溝数	調査時	平均溝数
1965. VIII	0.0	3.9	1965. VIII	0.3
IX	2.0	4.2	IX	0.9
X	2.1	1.9	X	0.8
XI	1.0	1.1	XI	0,7
XII	1.1	1.6	XII	1.2
1966. I	1.3	1.6	1966. I	0.9
II	—	1.2	II	0.8
III	—	4.3	III	0.5
IV	—	4.5	IV	0.5
V	—	1.1	V	1.2
VI	—	12.1	VI	2.5
VII	—	78.6	VII	4.5
VIII	—	20.5	VIII	5.0

とこの経月的な累積成長にもとづいて加害発現するため(後述)，これに要する期間が長期にわたるのでこのような発現に差を生じたものと推察される。なお夏季の発現では着生病虫が大型（後述）で侵蝕溝も前者に比べて短期間に発現している。つぎに春季3～4月における発現については，月別移殖母貝ではきわめて明瞭にその出現がみとめられているが，鳥羽湾母貝ではその出現は明確にみとめがたい。したがってこの時期の加害発現は往々看過されやすい場合があると考えられるが，このような春季における出現状況の差についてはにわかに説明しがたいが，搬入移殖作業など両者の間の貝殻外面における着生生物量の差，あるいは病虫の加害発現に要する時間的な差によって生じたのではないかと推察している。以上のことから周年を通じた貝殻被害の発現期は冬季，夏季そして春季の3期にあって，とくに本病虫の着生期については6～8月に大部分のものが着生するものと推定される。

3. 初期病徴出現率の季節的な変化

本病害防除目的の処理時期を検討するに当たって，初期病徴があらわれる時期を把握することは，発病初期の段階での防除処理が効果的である点から考えてきわめて重要である。

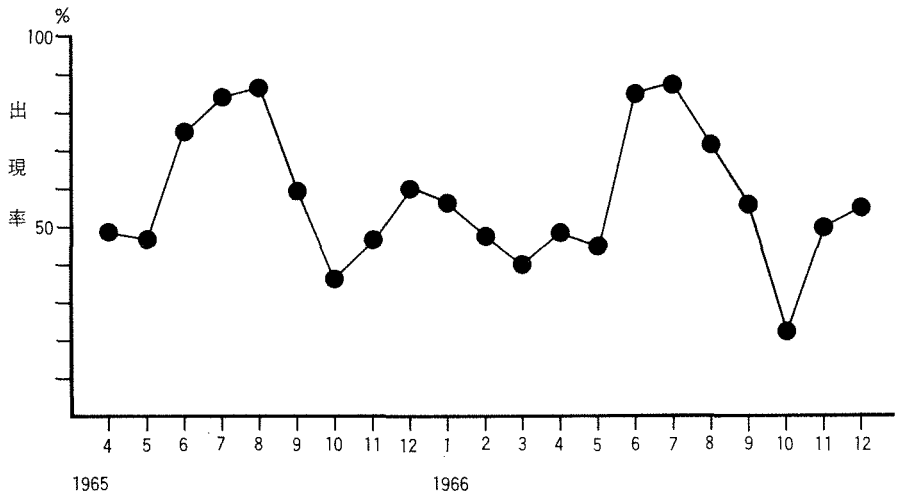
1965年4月から1966年12月にいたる間，英虞湾多徳島で養殖した試験手術貝（2年—3年生貝）について，各月の試料から貝殻内面の発症患部のうち，これら初期病徴を示す患部の出現率を調査した。試料はできる限り継続的に連続した同一資料について検討したが，一部試料数の不足，欠如したものがあったので，これらについては同所で試験養殖中の別の継続的な試験手術貝を追加補充した。

これらの結果を示すと第3表，第5図のとおりとなる。

第5図より全般的な傾向として初期病徴の出現率が高い時期は，7月を中心とした夏季，12月を中心とした冬季の2回あり，これらの間にはさまって春季4月に小さな出現がみら

第3表　貝殻内面における初期病徴を示す患部の出現率（手術貝）

資料採取年月		貝殻内面病痕総数	初期病徴患部数	初期病徴患部の率 %	測定貝数
1965.	IV	34	16	48.7	22
	V	39	18	47.0	22
	VI	142	108	75.3	30
	VII	77	58	84.0	23
	VIII	75	65	86.6	19
	IX	74	44	59.4	30
	X	63	23	36.5	25
	XI	64	30	46.8	19
	XII	54	32	60.0	19
1966.	I	53	30	56.6	24
	II	36	17	47.2	19
	III	60	24	40.0	21
	IV	101	48	48.5	25
	V	114	51	44.7	30
	VI	212	180	84.9	34
	VII	343	300	87.4	40
	VIII	118	84	71.1	25
	IX	50	28	56.0	15
	X	66	15	22.7	23
	XI	72	36	50.0	18
	XII	72	38	55.0	16

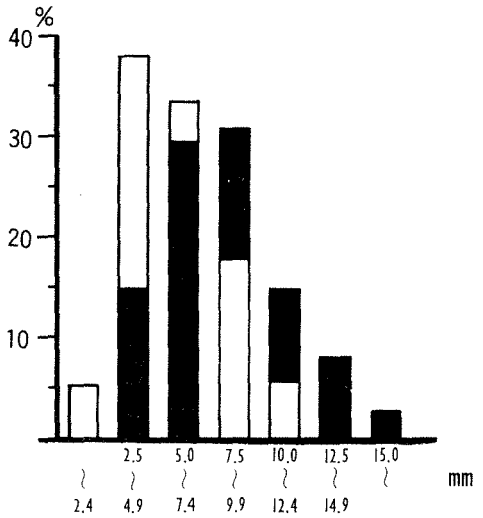


第5図　貝殻内面における初期病徴を示す患部の出現率
（手術貝，満2年—3年生貝）

れる。すなわち発症の大きい夏季7月では初期病徴患部の出現率は87%で，冬季は夏季に比べて小さく，55～60%程度であり，その発症も緩慢である。春季の場合は前2者に比し49%と小さく，経年的には往々にして看過しやすい出現率である。

4. 冬季および夏季における初期病徴患部（mud tube）の大きさ

次にこのような貝殻被害の発生経過から，大きな発症期と考えられる冬季(12月～1月)，夏季（7月～8月）のそれぞれにおける内面発症病痕のうち，初期病徴として発現するmud tubeの大きさを母貝，手術貝の資料について比較したのが第6図である。図はmud tubeの大きさを長経について測定し，これらの大きさ別出現分布を示したものである。これによると冬季のものではモードが2.5～4.9 mmの範囲で，比較的小型の発現であるが（第1図A），夏季（7月～8月）のものでは7.5～9.9 mmとなり，冬季に比べて大きいmud tubeが形成されている(第1図B)。これら両者の差を検定すると，明らかに有意の差がみとめられる。



第6図　冬季(12～1月)と夏季(7～8月)に発現する初期病徴患部(mud tube)の大きさ別出現分布　□—冬季　■—夏季

すなわち，夏季における初期病徴の発症は年間を通じて大型の発現となる。

5. 発病期について

以上発病経過の実態と，これに関する諸調査を行なったが，本病虫による発病経過から重要視される発病期を考察すれば，冬季12～1月の発病期，夏季7月を中心とした急激な多発期および春季4月の小さな発病期の3期に区分することができると考えられる。

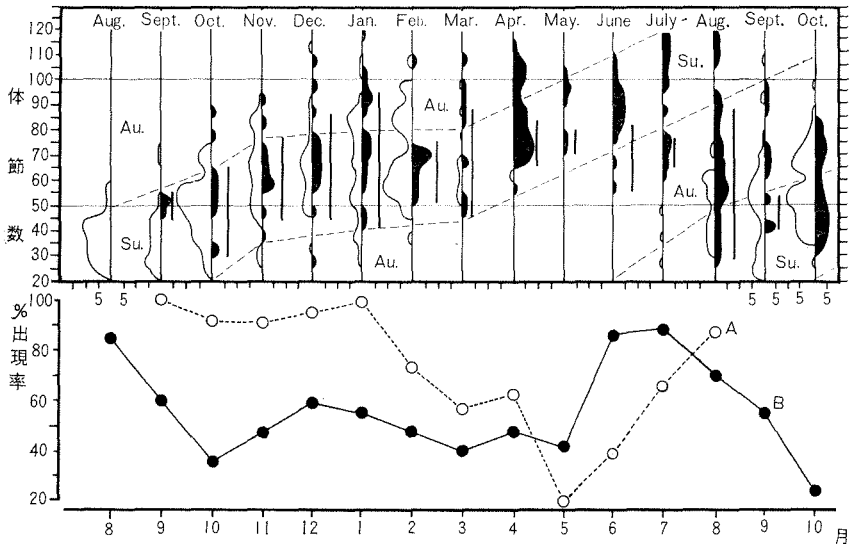
このうちもっとも被害の大きいのは夏季7月を中心とした発病期であり，この発病時期はアコヤガイの生育適温範囲からみて上限に相当する環境[5]であり，また産卵期にあたるため，病虫の加害侵入が貝の生理代謝とも関係して，発病被害をさらに大きくしているものと考えられる。したがって本病害防除の上から，この発病期はきわめて重要な時期と云えよう。

つぎに冬季の発病期は夏季に比べて幾分低い傾向がみとめられ，前者が急激な発症経過を示すのに対し，本季のものでは逐次発病するのが対象的である。またこの時期はちょうどアコヤガイ養殖にとっては越冬避寒期にあたるため，管理作業の休止期と関連して，本病防除上看過できないものと考えられる。

(3)　病虫の季節的出現消長と貝殻発病期との関係

さきにアコヤガイ貝殻に出現する病虫の季節的消長について研究し，貝殻の生息虫体群には年2回の産卵に由来する虫体群が存在することを指摘した[4]。ここでこれら貝殻に生息する病虫の季節的出現消長と貝殻発病期との関係について考察を加えれば，前述のとお

り本病害の発病期は3期に区分されると考えられるが，いま各時期における初期病徴の出現率ならびにこれら病徴を示す患部内の虫体と，周年にわたる貝殻における虫体の体節組成分布の経過とを対比すると，第7図に示すとおりとなる。すなわち冬季および春季にお



第7図　着生病虫群の大きさとそれによる発病期との関係

上段：アコヤガイ貝殻における病虫（*Polydora ciliata*）の周年組成変化
□…外面生息病虫，　■…貝殻内生息病虫
棒柱は初期病徴を示していた病害患部内に生息する病虫の群別大きさ範囲
Au…秋季産卵に由来する虫群
Su …夏季産卵に由来する虫群
下段：貝殻内面における初期病徴を示す患部の出現率経過
…○… A.　鳥羽湾母貝（満1年—2年生貝）
—●— B.　手術貝（満2年—3年生貝）

ける発病期の加害主体は，夏季6月の産卵に由来する虫群であり，夏季7～8月の発病は10～11月産卵に起因する秋季発生群に相当する。そして冬季の発病は貝殻外面の着生生息にともなって順次発症する傾向を示すのに反し，夏季の発病は春季より貝殻外面上にその着生がみられなかった虫体の急激な出現によって加害発症している。このような貝殻への急激な加害発病は他の生息場所から時期的に転居が行なわれていることを暗示しており，他の発生生息原とアコヤガイへの罹虫関係を明らかにすることは，この時期の発病がきわめて大きい被害をおこすことからも重要な点と考えられる。

以上のべた貝殻の発病期と病虫の加害関係を総括すれば，夏季7～8月着生した虫体は11月より加害し，12～1月にかけて発症をみる(冬季発病期)。またこの虫体は越年して一部4月ごろに移動転居して加害する(春季発病期)。10月の産卵に由来する虫体は暖冬海域

で12～2月にかけて一部着生するが，大部分は翌夏7月に急激に出現し発症(夏季発病期)するものと推定される。

このような本病害の発病期ならびに病虫との加害関係について把握し得たが，これに対する駆防除処理については，前述の発病期にもとづく処理適期確認のための駆除処理実験等を実施し，今後十分検討する必要があろう。

摘　　要

1)　アコヤガイ貝殻の主要加害種 *Palydora ciliata* による貝殻病害防除法を究明する目的で，本病害の発病経過，とくに発病期およびこれらと病虫の加害関係について検討を行なった。

2)　本病害の発症経過から，重要視される発病期は12月～1月の冬季発病期，7月～8月の夏季多発期，4月における春季小発生期の3期にあると推定された。

3)　このうち被害のもっとも大きいのは7月を中心とした夏季発病期で，その発生がアコヤガイ生育適応範囲の上限時期にあたるため，発症被害の拡大を誘起させることが考えられる。したがって本病防除上きわめて重要な発病期と考えられる。

4)　冬季の発病は夏季に比べてその発症がいくぶん低いが，本発病期は越冬避寒期にあたるため，作業の休止期とも関連して，病害防除対策の上から看過できないものと考えられる。

5)　これら貝殻の発病期と病虫の加害関係を検討すると，冬季および春季の発病は夏季産卵に由来した虫群の，また夏季のそれは秋季産卵に起因した虫群の，それぞれの加害によって発病するもので，とくに夏季発病の主因となる加害虫群は時期的な移動転居によって急激に発症せしめるものと推定される。

文　　献

1)　水本三朗 1964.　アコヤガイ貝殻の病害に関する研究　I. 貝殻に侵入する多毛類の種類および病害の状況とその駆除法について. 国立真珠研報 9：1143—1155.

2)　窪田三朗・伊藤博敏 1967.　アコヤガイに被害を与える多毛類の殺虫駆除に関する研究—1. 殺虫効果と貝毒性. 魚病研究 2(1)：26—35.

3)　原田雄四郎・阿井敏雄・松原荘六郎 1964.　アコヤガイ介殻寄生の多毛類駆除試験.　静岡水試事業報告　昭和39年度.

4)　水本三朗 1966.　アコヤガイ貝殻の病害に関する研究 II. アコヤガイ貝殻に出現する主要加害種 *Polydora ciliata* の季節的消長について. 国立真珠研報 11：1368—1377.

5)　小林　博 1953.　アコヤガイの環境変化に対する抵抗性の研究(1)　農水講研報 3：123.

アコヤガイに寄生する吸虫　生活史ならびにその病害について*,†

阪　口　清　次
国立真珠研究所

目　次

序……1636
第1篇　吸虫の生活史……1637
第1章　第1中間宿主における幼体（スポロシストとセルカリア）の生態……1637
1—1　虫体の発育にともなう形態変化……1637
1—2　成熟したセルカリアの形態……1640
1—3　宿主内における虫体の発育経過と宿主組織の変化……1641
1—4　スポロシスト組織片の正常貝への移植と本虫の伝染……1643
1—5　宿主内におけるセルカリアの発育……1644
1—6　海水中に泳出したセルカリアの生存時間……1646
1—7　セルカリアの水温および塩分濃度に対する抵抗性……1646
第2章　第2中間宿主におけるメタセルカリアの生態……1647
2—1　セルカリアの第2中間宿主への人工感染実験……1647
2—2　成熟したメタセルカリアの形態……1650
2—3　養殖場附近の海域に棲息する魚にみられるメタセルカリアの感染状態……1651
第3章　最終宿主における成虫の生態……1653
3—1　罹病貝の多い養殖場海域における *Bucephalus* 属吸虫の探索……1653
3—2　メタセルカリアの最終宿主への人工感染実験……1657
第4章　考察……1662
4—1　種の査定……1662
4—2　生活史の要約……1663
摘　要……1664

* Seiji Sakaguchi. Studies on the life-history of the trematode parasitic in pearl oyster, *Pinctada fucata*, and on the hindrance for pearl culture. With English summary, p. 1680. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 13 : 1635—1688. 1968.

† 国立真珠研究所業績 No. 171.（国立真珠研究所報告 13 : 1635—1688. 昭和43年7月）

第2篇　真珠養殖におよぼす病害……1666
第1章　罹病貝の識別……1666
第2章　罹病貝の病理変化……1668
2—1　罹病貝の病態生理にみられる変化……1668
2—2　罹病貝の病態生理の周年変化……1671
第3章　罹病貝から産出される真珠の品質……1673
第4章　被害の実態……1676
第5章　考察……1678
摘　要……1679
Summary……1680
文　献……1683

序

近年，沿岸漁業が資源枯渇による不振のため，その対策の一つとして真珠およびその母貝養殖業へ転換する者が急激に増加し，それらの事業が行なわれる水域も南は鹿児島県から北は神奈川県（太平洋岸）または石川県（日本海岸）まで拡大して，1964年には真珠および母貝養殖を併せてその企業体数は11,467を数えるまでに発展するに至った。しかしながら，このような発展は一方においては養殖筏の著しい増加と養殖場における密殖に拍車をかける結果となり，養殖場環境のいわゆる老化現象を招来し，ひいては優良母貝の生産率低下，真珠の歩留りとその品質低下の大きな原因となって，本企業の経営状態を著しく困難にしているが，他方では病虫害の発生を誘発して，その被害が急激に増大し経営をゆさぶる大きな問題となっている。

真珠の養殖技術，とくに挿核を中心とした養殖技術は養殖業者の長年の経験と工夫，多くの研究によって創業当時に比べて著しい進歩を遂げているが，病害対策については産業的に問題になったのがそもそも最近のことであるため，現在までのところみるべきものがなく，緊急にこの対策を確立することが要請されている。

アコヤガイの病害として現在問題となっているものは，貝殻に穿孔侵入する多毛類によるものとその軟体部に寄生する吸虫のセルカリア期によるものとがあるが，本研究は後者の一種についてなされたものである。本吸虫が寄生したアコヤガイはスポロシストが体内に蔓延するとともにその発育が阻害され，環境条件の急変に対して斃死を起し易い。したがって貝に挿核手術をしたばあい，術後の斃死率が異常に高いのみならず，産出される真珠の殆んどは不良品となるので，それが繁殖，蔓延する時には母貝養殖や真珠養殖事業の経営に甚大な影響をおよぼす。

吸虫によるこの病害はかつては局地的で発生率も低かったが，ここ数年来，母貝および真珠養殖が全国的に展開されるようになるとともに母貝および手術貝の移動運搬が頻繁に，かつ広範囲に実施されるようになったためか，急激に全国各地に蔓延し，また，その感染率も3～5割に達する地域が現われ，養殖場を放棄せざるを得ない状態に至ったところも

みられるようになった。しかも，この病害は比較的に新しく開発された暖海域の真珠養殖場に多くみられ，これらは真珠養殖場の隆盛にともない老化現象が顕著となった養殖場の代替えとして開発されただけに，その被害は業界にとって堪えがたい打撃となっていることはいうまでもない。

本研究の対象となったセルカリアは妹尾[1]によってはじめて発見された。その後，尾崎・石橋[2]によって形態に関する研究が詳しく行なわれて *Bucephalus margaritae* と命名されたが，当時は本種による真珠養殖業の被害が軽微であり，その発生も局地的であったためか，上記の研究は進展せずに終り，現在までに山口[3]が和歌山県田辺湾において調査した罹病率に関する報告と小竹[4]の罹病貝から産出された真珠の性状に関する報告があるに過ぎない。

本研究はアコヤガイに寄生する上記の吸虫について，その防除対策を講ずる際に必要な基礎知見を得るためにその生活史と病害の実態を把握することを目的として1962年から開始し，得られた結果はその都度発表したが[5~10]，1966年には一応所期の目的を果すことができたので，ここに取り纏めて報告することとした。

本研究における室内実験は主として三重県志摩郡阿児町にある国立真珠研究所多徳島臨海実験所において行なわれたが，生活史の探索ならびに野外実験は和歌山県田辺湾および愛媛県平城湾などで実施した。これは多徳島地先を含めて英虞湾では本吸虫の生活圏の一部が欠けているためである。実験材料のうち，吸虫の寄生したアコヤガイは必要に応じて愛媛，高知，和歌山および三重県の各地から蒐集した。

報告に先立ち，本研究の機会を与えられるとともに終始指導，鞭撻を賜わった真珠研究所太田繁前所長ならびにこの研究を進めるに当り種々有益な助言を賜わった東京大学大島泰雄名誉教授，江草周三教授および東京水産大学保科利一教授に深謝の辞をささげる。なお，愛媛県愛媛真珠株式会社高山活夫氏，向田真珠向田純一郎氏，元和歌山県白浜真珠株会社小川勝氏，石原幸彦氏，元三重県真珠貝養殖漁業協同組合脇専一氏，覚田真珠株式会社松本慶重氏ならびに関係業者の各位からは材料蒐集などについて一方ならない配慮と援助をいただいた。これらの方々の厚意に対しても衷心から謝意を表する次第である。

第1篇　吸虫の生活史

アコヤガイに寄生する吸虫については，これまで，尾崎・石橋[2]による形態に関する報告を除き，その生活史はいうまでもなく，成体の種名ならびに生態全般についての詳細も殆んど明らかにされていない。著者の本吸虫に関する研究の究極の目的はその防除対策にあるが，そのためにはまず，吸虫の生活史を明らかにすることが先決問題であるとの考えから本研究を始め，その結果，生活史の全ぼうがほぼ明らかになったので，その種名とともに本篇で取りまとめた。

第1章　第1中間宿主における幼体（スポロシストとセルカリア）の生態

1—1　虫体の発育にともなう形態変化

種々の発育段階の虫体がみられる罹病貝の生殖腺の一部を切り出し，生きたままの標本，

あるいは Neutral red による生体染色標本について観察を行なった。また，切片標本も観察に供したが，その作製には Zenker 液で固定し，パラフィン法によって切片を作り，Ehrlich 氏ヘマトキシリン-エオジン染色を行なった。

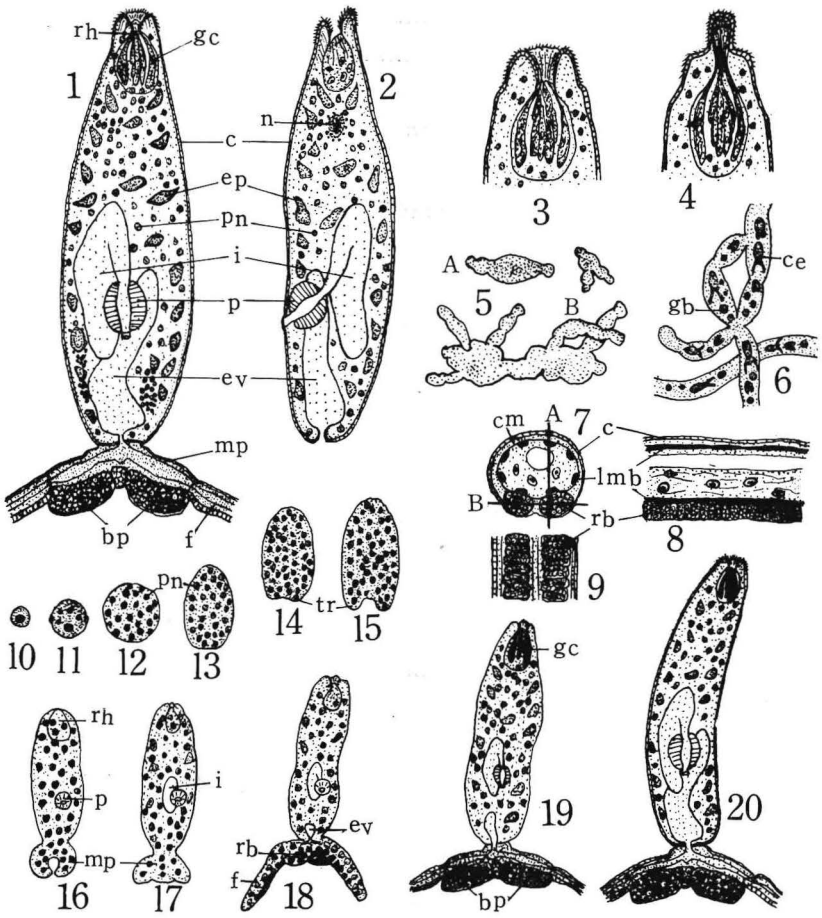
全体標本は貝から切り出した虫体をカバーグラスの上に取った少量の海水中に浮遊させ，これに30%アルコールを滴下して麻酔し，アルコール-酢酸液（アルコール95，酢酸5 cc）で固定して Heidenhain 氏鉄ヘマトキシリン-エオジンで染色した。虫体の計測にはこの標本を使用した。

罹病貝の生殖腺の一部を切り出して生体を観察すると，感染後間もないものでは単一な，あるいは少数の枝状突起をもった嚢状の初期スポロシスト（第1図-1，第2図-5-A, B）がみられるが，スポロシストは発育すると円筒状あるいは樹枝状に分岐した管状体（第1図-2）となって分裂，増殖し，さらに発育するとそれらのスポロシストの中に種々の発育段階にある虫体が認められるようになる。

第1図　罹病貝からとりだしたスポロシスト（生体標本）
1：感染後間もない罹病貝からとりだした初期スポロシスト ×300.
2：円筒状あるいは樹枝状に分岐している成熟スポロシスト ×50.

スポロシストの中に生ずる胚細胞は直径約10μの球形（第2図-10）で，分裂すると直径約22μの球状胚球（第2図-11）を形成する。胚球は発育して直径45μ前後になると，それ以後次第に卵形を呈するようになる（第2図-12～13）。この段階の虫体は間充織で充たされていて，尾部・吸着器官・咽頭・腸管ならびに排泄嚢などの原基はまだ認められない。

尾部の原基は虫体が体長 55～60 μ の発育段階（以下55～60 μ-段階と呼ぶ）に成長すると，体の後方両端の膨出部として生じ（第2図-14～15），さらに発育するとその一部には不連続のドーナツ状あるいは三角状を呈する基幹部が形成される（第2図-16～17）。100μ-段階で基幹部の中央部附近にエオジンに濃染する屈折性球状の顆粒を含む細胞が現われ，さらに基幹部の両端から遊泳器官としての鞭状部が発達する。顆粒を含む細胞は鞭状部の内側にも2群が縦走して現われ，虫体の発育につれて鞭状部の先端に向かって分布するようになる（第2図-18）。130μ-段階になると基幹部と鞭状部の境に微かに観察できる隔壁を生じ，さらに基幹部の中央部附近にみられた顆粒を含む細胞群はその内側に向かって発達し，基幹部の柔組織に接する部分に壁を生じて，中央部が窪んだ2個の相接する椀状ないし鞍状にみえる器官を形成する（第2図-19）。Tennent[11] はアメリカ産のカキに寄生するセルカリアについて，この部分を Bladder-like portion と呼んでいる。180μ-段階の虫体（第2図-20）の鞭状部の切断面をみると自然泳出の成熟セルカリアと同じく，表面は薄いクチクラ層に覆われ，その内側には輪走する筋繊維層が存在し，さらにその内壁には鞭状部の方向に8個の帯状の筋繊維が縦走している（第2図-7～9）。このうち，6個は輪走



第2図　第1中間宿主内にみられる幼体

1～2：自然泳出の成熟セルカリアの Neutral red 染色による生体染色（1：腹面，2：側面）
3：吸着器官の一部の陥入によって形成されている柔組織にみられる腺細胞群。普通に引込めている状態
4：第2中間宿主への侵入の際にみられる陥入部の内壁が突出した状態
5：生殖腺内にみられる初期スポロシスト　A：単一嚢状のものB：嚢状で少数の枝状突起をもつもの
6：発育したスポロシストとその中に発達している虫体
7：成熟セルカリアの尾部の鞭状部の横断面
8：7のA方向による縦断面
9：7のB方向による縦断面
10：直径10μの胚細胞
11：直径22μの胚球，2個の扁平細胞がみられる
12：直径45μの発育段階の胚球
13：体長50μ-段階で体の前後に伸び始めて卵形を呈する
14：55μ-段階で体の後方両端に尾部の原基としての膨出部を生ずる
15：60μ-段階で尾部の原基はさらに発達する

16：80μ-段階で吸着器官および咽頭の原基がみられ，基幹部が不連続のドーナツ状を呈する
17：90μ-段階で嚢状の腸管が発達し，吸着器官は陥入部とそれに連なる柔組織として明らかに認められる
18：100μ-段階で基幹部の両端には鞭状部が発達し，基幹部の中央部に顆粒を含む細胞群が現われる。嚢状の排泄嚢が微かに観察される
19：130μ-段階で吸着器官に4個の唇状部と柔組織内に著大な腺細胞が発達する
20：180μ-段階で自然泳出の成熟セルカリアと形態的に同様な体制が整えられる
bp：椀状あるいは鞍状にみえる器官，c：クチクラ層，ce：セルカリア，
cm：輪走筋，ep：上皮細胞，ev：排泄嚢，f：鞭状部，gc：腺細胞，
gb：胚球，i：腸管，lmb：縦走筋束，mp：基幹部，n：脳細胞，p：咽頭，
pn：柔組織の細胞核，rb：顆粒（エオジンに濃染し屈折性に富む）を含む細胞，
rh：吸着器官，tr：尾部の原基

する筋繊維層に，また，2個は顆粒を含む細胞群に接している。最内腔は柔組織によって充たされており，その中に1個の縦走する排泄管が存在する。

これらのことから，尾部は180μ-段階の虫体となる頃に，その形態が整うと考えられる。

吸着器官の原基は80μ-段階になってはじめて体の前端部に微かにみられ（第2図-16），90μ-段階になると体表からの浅い陥入部とそれに連なる柔組織として認められる（第2図-17）。100μ-段階では陥入部に連なる柔組織と体柔組織との間に明らかな隔壁がみられるようになり（第2図-18），さらに130μ-階段に発育すると体の前端部に4個の唇状部が発達する。背面1，両側面に各1，腹面に1個であるが，腹面の唇状部の突出は他のものに比べてやや短かい。また，陥入部に連なる柔組織部に著大な腺細胞群が発達して4個の唇状部の基底に開口するようになる（第2図-19）。

咽頭の原基は，80μ-段階になると体の中心部よりやや後方の腹面正中線上に現われ（第2図-16），90μ-段階では長さ25μ前後の嚢状の腸管が出現する（第2図-17）。さらに180μ-段階になると咽頭は直径約30μ，腸管は長さ70～100μ，巾20μ前後の嚢状体に発達して形態的に完成する（第2図-20）。

嚢状の排泄嚢は100μ-段階の虫体では微かにみられる程度であるが（第2図-18），130μ-段階になると長さ約20μ，巾6μ前後の嚢状体として明らかに認められるようになる（第2図-19）。さらに発育して180μ-段階になると長さ70～100μ，巾20μ前後のやや迂曲したI型の排泄嚢として咽頭の側面を少しく前方へ越す位置にまで達し（第2図-20），自然泳出した成熟セルカリアと同じような体制が整えられる。

1—2　成熟したセルカリアの形態

成熟セルカリアの形態については尾崎(佳)ら[2]が詳細に報告しているので，ここでは2，3の補足を加えることに止める。宿主から泳出したセルカリアは著しく伸縮性に富み，同一虫体を計測した例では体長および体巾は120μ×60μから500μ×30μの範囲に変化した。10%温ホルマリン液で固定して大きさを計測した結果，それは体長163～274μ，体巾45～60μであった。

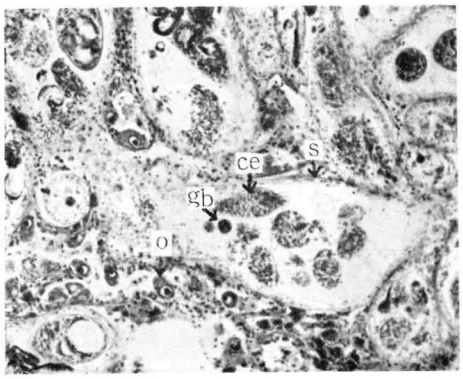
体表は微細な鱗状模様のクチクラ層に覆われている。諸器官の要点を挙げると次のようになる。口は常に体の後半分より少しく後方の腹面正中線上にあり，直径24～37μのよく

発達した咽頭を備え，短かい前咽頭をもって腹面に開口している。食道は咽頭から前走し，間もなく後転して袋状の単一な腸管（長さ75～100 μ，巾約20 μ）に連なる。排泄嚢は体の長軸に沿って咽頭の側面をやや前方へ越す位置に達する迂曲したI型の嚢状体（長さ70～100 μ，巾20 μ）を呈する。体の前端の吸着器官は長径32～40 μ，短径24～28 μで，前端部は4唇に分れ，陥入部に連なる柔組織に存する腺細胞群はこの4唇の基底に開口する（第2図-1～2）。本虫については，Tennent[11] がカキで観察したセルカリア *Bucephalus haimeanus* のように，陥入部の基底から突出する Mucous plug なる器官は本虫のどの個体にも認められなかった。ただし，陥入部の内壁が裏返しになって突出した時には全体標本によるとそれがあたかもいわゆる Mucous plug らしくみえることがある（第2図-3～4）。

1—3　宿主内における虫体の発育経過と宿主組織の変化

罹病の有無は外見上では，宿主の入鰓静脈の肥大とその乳白色化によって選別し得るが（第2篇-第1章参照），7月（1962年）にこのような方法で鑑別した初期罹病貝を三重県英虞湾で飼育して，その後の虫体の発育状態を観察するためその一部を9月に取揚げて固定し，残余の材料は第1年目のセルカリアが殆んど泳出した12月から翌年11月までの1年間に適時に取揚げて，固定標本を作製して観察に供した。固定標本の作成方法は前項と同様である。

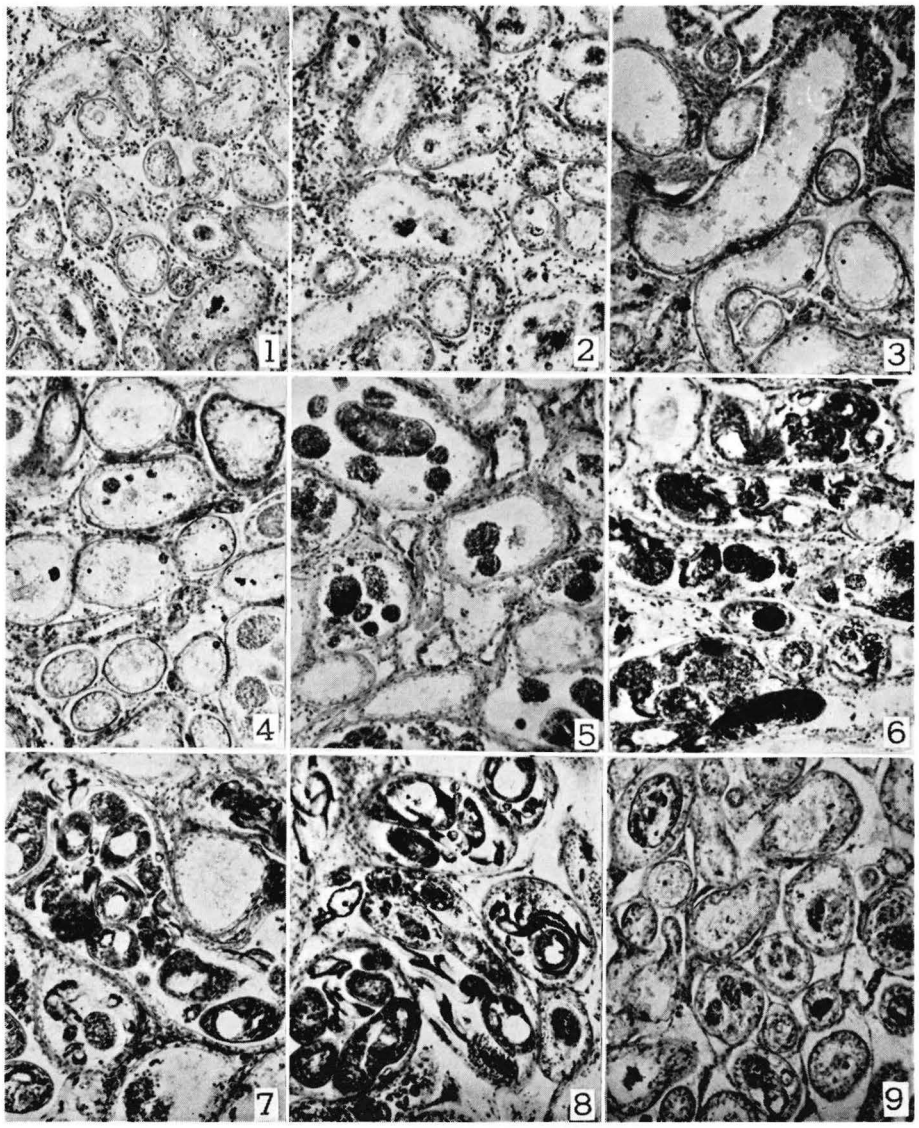
罹病貝として識別してから2か月後の9月に取揚げたアコヤガイから採集，固定した標本ではその生殖腺の大部分にスポロシストが拡がり，その中に種々の発育段階を示す虫体がみられるようになる。このばあい，宿主の生殖腺はスポロシストのために沪胞が押し縮められ，その間に未成熟ないしは退化しつつあると思われる少数の生殖細胞が若干認められた（第3図）。



第3図　外見上識別第1年目の宿主の生殖腺（9月）
ce：セルカリア，gb：胚球，O：卵母細胞
S：スポロシスト

12月になると第1年目のセルカリアの増殖は殆んど停止し，スポロシスト内のセルカリアは少数となる。また，宿主の生殖腺の沪胞壁も明らかでなく，生殖細胞は全く認められない（第4図-9）。1月から3月にかけては，スポロシストはそのまま宿主の生殖腺内に残って残冬する。その間，スポロシスト内には新らたに生じた虫体はみられず，かえって第1年目の虫体の崩壊ないし吸収の像が認められる。また，生殖腺内のスポロシストとスポロシストの間隙には遊走細胞ならびに沪胞壁を形成すると思われる細胞が認められる（第4図-1～2）。5月になると，スポロシストの中には第1年目の虫体については何らの像もみられなくなる（第4図-3）。

実験開始後満1か年を経過した7月の標本では，旧スポロシストの中に第2年目の少数の胚球の発達が観察されはじめるが，宿主の生殖腺の沪胞壁はきわめて圧平された状態であり，生殖細胞の発達は全く認められない（第4図-4）。これがさらに8月になると，スポ



第4図　宿主の生殖腺内におけるセルカリアの発育状態

9：外見上識別第1年目の虫体の発生は殆んど停止している（12月）

1～2：第2年目の冬季の状態でスポロシストの中には第1年目の虫体の崩壊ないし吸収の像がみられる（1：1月，2：2月）

3：第1年目の虫体の像は全く認められなくなる（5月）

4：第2年目の少数の胚球が発達する（7月）

5：多数の胚球と若いセルカリアがみられる（8月）

6：種々の発育段階の虫体と引き続き発達している胚球がみられる（9月）

7～8：発育したセルカリアはスポロシストの中に充たされる（7：10月，8：11月）

ロシストの中には多数の胚球が発達し，第2年目の若いセルカリアとして発育する虫体が観察されるようになる。宿主の生殖細胞の発達は前月と同様に全く認められない（第4図-5)。 9月以降になると，前年の経過を再度繰り返し，多数の成熟したセルカリアと引き続き発達している胚球が認められるようになる(第4図-6)。9月から11月にかけて，成熟したセルカリアがスポロシストの中に充たされる。一方，宿主の生殖腺の大部分はスポロシストのために占められ，生殖細胞は全く形成されることがない（第4図-7～8)。12月に至り，虫体の発生は再び停止する。

なお，本実験に用いた罹病貝20個を1964年1月（外見上識別後2年目）から，さらに引き続き養成して，その後のスポロシストの持続性と罹病貝の自然治癒の状態を観察した。同年10月の観察時には9個が斃死し，生存貝11個中，治癒したものが1個みられた。その後，1965年11月までには残存していた10個の罹病貝のうち5個が斃死し，生存貝5個中，治癒した2個が認められた。

このように罹病貝のうちには外見上識別後2～3年を経過すると自然治癒するものが多少みられるようになるが，大部分の貝はそれまでに衰弱し，その多くは治癒に至らず斃死の転帰をとる。

1―4　スポロシスト組織片の正常貝への移植と本虫の伝染

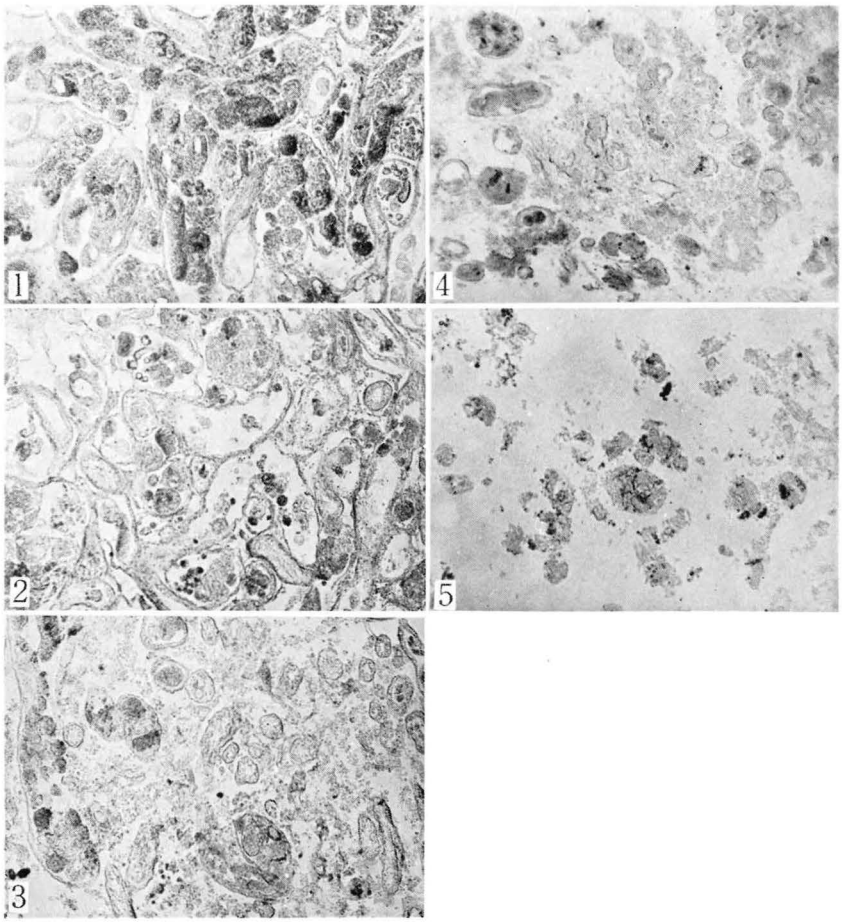
罹病貝は後述のように母貝としては全く利用価値がないが，挿核手術の際には正常貝と誤認されて挿核されることが多い。このようなばあいには手術器具を介して他の正常貝へのスポロシストが挿入される可能性がある。また，罹病貝をピース貝として使用するばあいにも移植される外套膜縁にはスポロシストが侵入していることがあり，この際にもスポロシスト組織片が正常貝へ挿入されたことになる。このようにして正常貝の生殖腺内に挿入されたスポロシストはそれらの貝の中で生存し，増殖して正常貝へ伝染されることがあるかどうかを知る目的で本実験を行なった。

罹病貝の生殖腺からスポロシストを含む組織片（4×4×3 mm）を切り取り，ただちにこれを養殖3年貝の生殖腺中へ挿入して，その後の状態を生標本および固定切片標本について観察した。

切片標本の作製は，Zenker 液で固定し，パラフィン法で薄片を作り，Ehrlich 氏ヘマトキシリン-エオジン染色を行なった。

生標本の観察では，挿入の翌日にはスポロシストおよびその中のセルカリアは殆んど死滅しており，3日目には生存しているものは全く認められなかった。固定切片標本によると，移植した組織片中のスポロシストは第5図にみられるように，4日目にはその組織が崩壊し始め，8日目になるとその崩壊はさらに進み，16日目の標本では移植した組織片およびスポロシストとその中のセルカリアはすべて死滅崩壊し去ることが観察された。

なお，これらの観察と同時に，同様な処置を施した別の母貝30個を養成して6か月後までそれらを観察したが，スポロシストが増殖して罹病貝の病状を示した貝は全く認められなかった。



第5図　正常貝の生殖腺中に挿入されたスポロシスト組織の変化
ツエンカー液固定，エールリッヒヘマトキシリン―エオジン染色
1：挿入したスポロシスト組織片　　2：挿入後2日目
3：挿入後4日目　　4：挿入後8日目　　5：挿入後16日目

1―5　宿主内におけるセルカリアの発育

(1)　寄生部位別によるその発育状態

同一時期（10月）の宿主体内におけるセルカリアの発育状態を部位別にみると第1表のようになる。すなわち，成熟虫体は生殖腺，入鰓静脈，鰓葉間静脈の順に多くなり，とくに鰓葉部のスポロシストから採集される虫体は殆んど成熟したセルカリアで占められている。また，軟体部の表面からは貝体外へ泳出前のセルカリアは認められず，さらに，鰓葉部の偽糞からは無数の成熟セルカリアが集塊として採集される。

これらのことから，生殖腺内で次第に発育したセルカリアは入鰓静脈，鰓葉間連接静脈，主鰓糸を経て，貝体内から外界へ泳出するものと考えられる。

第1表　宿主の組織部位別にみたセルカリアの発育状態
（1962年10月27日）

寄生部位＼熟度	No.	未成熟	やや成熟	成　熟
生殖腺内	1	76.5%	21.0%	2.5%
	2	64.3	31.3	4.4
	3	70.2	26.5	5.3
	4	60.9	33.7	5.4
	5	71.0	22.2	6.8
入鰓静脈内	1	6.3	65.6	28.1
	2	8.8	55.8	35.4
	3	0	65.2	34.8
	4	2.3	53.5	44.2
	5	0	65.4	34.6
鰓葉間静脈内	1	0	0	100
	2	0	0	100
	3	0	0	100
	4	0	4.8	95.2
	5	0	3.3	96.7

未成熟：体長90～100μ以下で，尾部の基幹部がようやくできた大きさ以下の虫体
成　熟：体長180μ前後で諸器官が形成され，形態的に成熟とみられる虫体
やや成熟：未成熟と成熟の分類の中間にある虫体

(2)　セルカリアの成熟，泳出と水温の関係

生殖腺内でのセルカリアの増殖が次第に下降を辿る11月中旬に罹病貝30個を選別して，水温を異にする5群（20～30°C）の水槽を作り，その中へ罹病貝を入れて6日間飼育した後に常温（20°C）に戻して，24時間後に水槽中に泳出した虫体の数を調べた。

結果は第2表のとおりであり，30°Cと28°Cおよびそれ以下の飼育段階とではセルカリ

第2表　セルカリアの成熟，泳出と水温との関係（供試貝各6個）
（実験開始，1962年11月10日）

試験飼育中（6日間）の水温	30° C	(30°C)*	28° C	25° C	20° C(常温)
試験飼育を終え，常温に戻してから1日目のセルカリア泳出数（貝1個宛）	187	178	16	5	6

*　試験飼育を終えてもそのまま 30°C に保つたもの

アの泳出数に明瞭な差が認められる。すなわち，セルカリアの生産には28°C以上の水温が適しており，水温が25°C前後に低下すると成熟したセルカリアの産出は著しく減少する。

このように，セルカリアの増殖が次第に下降を始める11月中旬でもスポロシストの中に

胚球があれば，水温を高めることによって，それらの未成熟虫体は発育を続けて成熟セルカリアとなる。このばあい，水温をあげない時には 1—3 で明らかにしたように胚球はそのまま吸収される。

1—6　海水中に泳出したセルカリアの生存時間

セルカリアを成熟，泳出させるためには水温 28～30°C に保つように装置した循環沪過水槽を用いた。宿主体内で成熟したセルカリアは貝の偽糞とともに海中へ放出されるので，ただちにピペットでこれを採集し，あらかじめ水温を 20°C に調整した循環沪過水槽（容量 7 ℓ，飼育海水の比重 1.025）に入れて生存時間を観察した。

セルカリアが海水中で活発に游泳するのは泳出後 2 ～ 3 時間で(第 7 図-b, c)，以後は底層に沈降するものが多い(第 7 図-a)。沈降したセルカリアは24時間以内ならば，海水を攪拌することによって再び浮上するが，それ以降では生存はしているが尾部を脱落してしまい，3 日目には運動が不活発となって斃死し始める。すなわち，第 1 中間宿主から泳出したセルカリアが第 2 中間宿主に侵入できるのは24時間以内，とくに泳出直後から数時間が最も活力の高い時期とみられる。

1—7　セルカリアの水温および塩分濃度に対する抵抗力

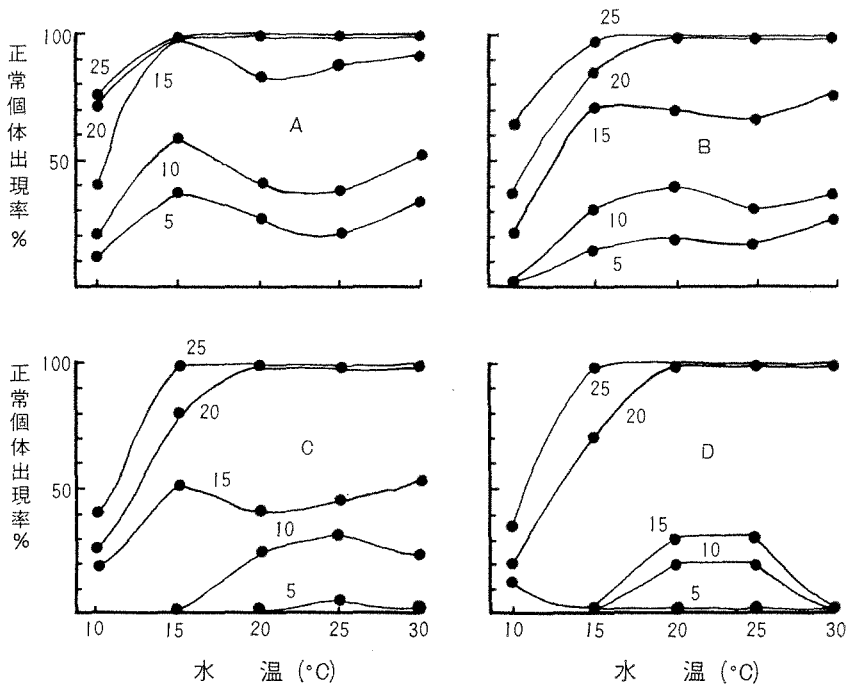
前項と同様な方法で採集したセリカリアを実験に供した。水温，比重をあらかじめ各段階に調製しておいた容器（容量50 cc）に採集したセルカリアを適当数宛ピペットで 1 ～ 2 滴の海水とともに移して，その後の経過を時間毎に追跡した。

セルカリアは不適条件のもとでは体部および尾部の運動が緩慢となり，尾部を間もなく脱落し，第 2 中間宿主への侵入力を失なうことから，体部および尾部の運動性を基準として，それが盛んでしかも正常な状態にあるものをもって正常個体として，その出現率を調べた。なお，斃死率も併せて調査した。生死の判別は虫体の体部ならびに尾部の伸縮運動を調べ，運動性のみられるものを生存とし，それが停止しているものはピンをもって軽く接触させて運動性を確かめて全く停止しているものを斃死とした。

水温，比重を異にする海水中におけるセルカリアの正常個体出現率および斃死率とその経過時間にともなう変化については附表 1 に取り纏めて示した。これでみると，実験開始後3，6，12，16時間後における正常個体出現率とそれぞれの関係は第 6 図のようになる。

実験開始後 3 時間までは，本実験の水温および塩分濃度の範囲内では斃死するものは全くみられなかったが，正常個体の占める割合からみると，比重10（比重の値は 1 を減じ，1000倍した数であらわす。以下同様）以下では各水温とも正常個体はいずれも50%以下であり，このような低い塩分濃度のもとでは虫体は宿主から泳出後，間もなく活力を失なうものと考えられる。6 時間後には，3 時間までは正常個体が80%以上みられた比重15でも，その出現率はかなり減少し，とくに水温 15°C ではその減少が著しい。12および16時間後には比重15以下，水温 15°C 以下で斃死個体が多少みられるようになる。また，正常個体の占める割合からみると，比重15以下ではその出現率は著しく減少する。

すなわち，比重15以下，水温 15°C 以下はセルカリアの活力の点からみて不適条件であり，比重20～25，水温20～30°C がセルカリアの生存にとって適切な条件であると考えられる。しかし，前項で明らかにしたように，セルカリアが第 2 中間宿主へ侵入するための



第6図　セルカリアの水温，比重および経過時間と正常個体出現率との関係
A…3時間経過後，B…6時間経過後，C…12時間経過後
D…16時間経過後

活力の高い時期は宿主からの泳出直後から数時間内であることを考えると，セルカリアの第2中間宿主への侵入の機会はかなり広範囲にあると考えられる。

第2章　第2中間宿主におけるメタセルカリアの生態

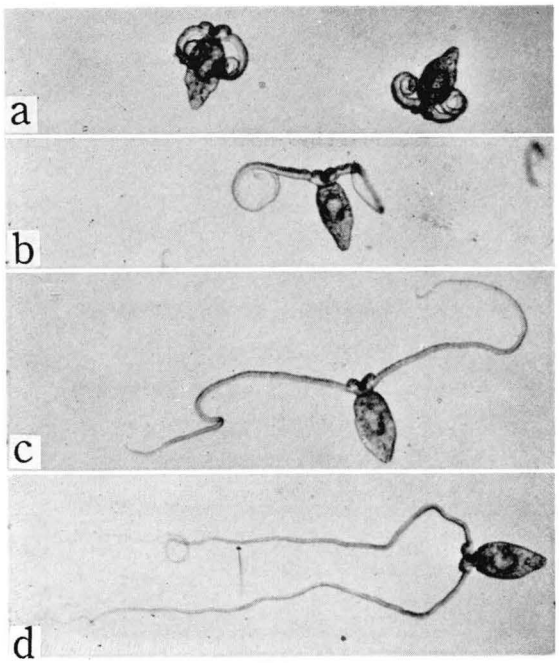
2—1　セルカリアの第2中間宿主への人工感染実験

アコヤガイから泳出したセルカリアは尾部の鞭状部を伸長して浮遊し，また，ときにはそれをはげしく伸縮させて游泳する（第7図-b, c)。とくに，この鞭状部は水流に対して強く反応を示し，流れの方向に著しく伸長するが，この作用が第2中間宿主への附着を容易にするものと推考される。

水槽中にセルカリアを浮遊させ，その中に各種の魚類を同時に入れ，5分後に水槽中にウレタンを投入して魚類を麻酔させて，各魚種におけるセルカリアの附着部位を調べた結果を取り纏めると第3表のとおりになる。

これからも判るように，人工感染実験では多くの魚類が第2中間宿主となり得る可能性がある。セルカリアは普通，それらの魚類の鰭，とくに胸鰭条間の膜状部に多く発見される。

魚類への侵入の経過を辿ると次のようになる。尾部の先端部をもって鰭などに附着した

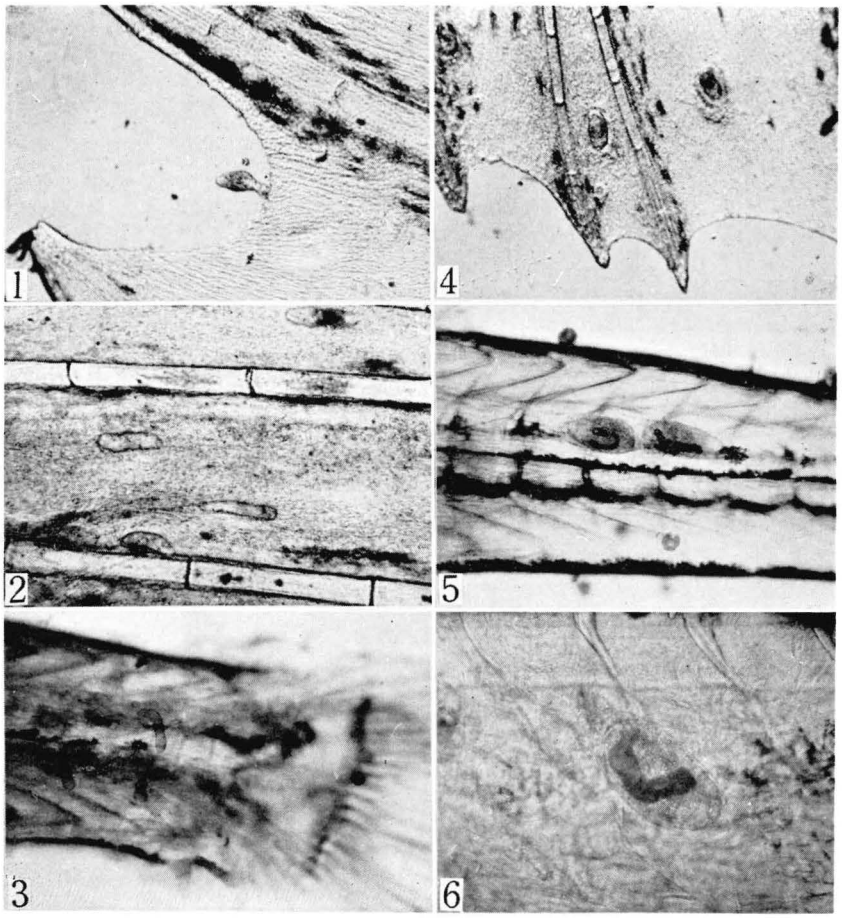


第7図 海水中におけるセルカリアの游泳
a：底層に沈降している
b, c：尾部の鞭状部を伸縮または伸長して游泳あるいは浮遊する
d：鞭状部を水流の方向へ著しく伸長して第2中間宿主への附着を容易にする

第3表　人工感染実験によるセルカリアの附着部位

魚種	体長 cm.	魚1尾あてのセルカリアの附着数	セルカリアの附着数の部位による割合							備考
			胸鰭	腹鰭	背鰭	しり鰭	尾鰭	鰓弓	筋肉組織	
			%	%	%	%	%	%	%	
トウゴロウイワシ *Atherina bleekeri*	1.0	65	41.5	6.2	3.1	9.2	20.0	3.1	16.9	鱗未発達の幼魚
〃	7.0	21	38.1	0	0	0	57.2	4.8	0	
カワハギ *Monacanthus cirrhifer*	3.0	35	74.3	8.6	11.4	0	5.7	0	0	
〃	15.0	21	76.2	14.3	9.5	0	0	0	0	
ササノハベラ *Pseudolabrus japonicus*	10.0	27	77.7	7.4	0	3.7	0	11.1	0	
マハゼ *Acanthogobius flavimanus*	9.0	61	85.2	0	0	0	14.8	0	0	
マハタ *Epinephelus septemfasciatus*	10.0	182	72.0	0	0	0	6.0	22.0	0	
クサフグ *Fugu niphobles*	9.0	15	100	0	0	0	0	0	0	
ウナギ *Anguilla japonica*	25.0	12	66.7	—	—	—	33.3*	0	0	* 尾鰭とそれと連続する鰭総体を含む
マアジ *Trachiurus japonicus*	8.0	8	62.5	25.0	0	0	12.5	0	0	
カタクチイワシ *Engraulis japonicus*	7.0	6	50.0	0	0	0	33.3	16.7	0	

セルカリアは，その尾部を収縮して体部を魚体に接するとともに尾部を粘状化して附着の基盤をつくる(第8図-1)。尾部はその後消失し，宿主の膜状部および鰭条基部の筋肉中へ移行する(第8図-2)。また，鱗の充分に発達していない幼魚では体表面から直接侵入し，筋肉中へ入るものが多い(第8図-3)。



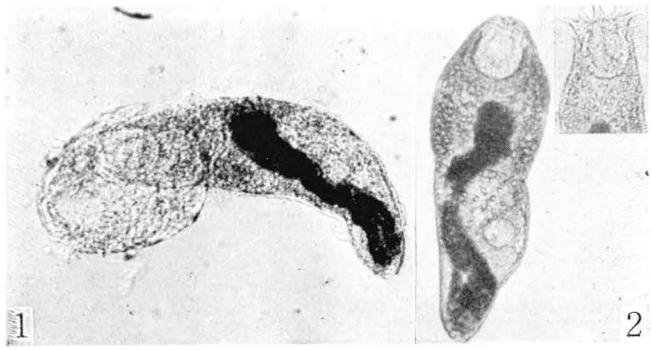
第8図　セルカリアの被嚢形成
1：マハゼの胸鰭に附着し，まさに侵入せんとしているセルカリア
2：トウゴロウイワシの尾鰭の膜状内を基部に向っているセルカリア
3：トウゴロウイワシの幼魚の体表面から直接侵入しているセルカリア
4：マハゼの胸鱗の膜状部で被嚢を形成し始めたセルカリア(感染2日目)
5：トウゴロイワシの筋肉中におけるメタセルカリア(感染1週間目)
6：トウゴロイワシの筋肉中で1か月を経過したメタセルカリア

第2中間宿主の体内に侵入したセルカリアは2日目には被嚢の形成が始まり(第8図-4)，1週間でほぼ完成（第8図-5)，約1か月間で体制の整ったメタルセルアリアに発育する(第8図-6)。被嚢から取り出したメタセルカリアは後述のように明らかに *Bucephalus* 属

の特徴を示し，前端部の吸着器官に7個の伸縮自在な触手を備えている。

2—2　成熟したメタセルカリアの形態

人工感染のための第2中間宿主としては，トウゴロウイワシ *Atherina bleekeri* のほかに比較的飼育の容易なアミメハギ *Rudarius ercodes*，マハゼ *Acanthogobius japonicus* などの魚を用いた。罹病貝から泳出させたセルカリアを上記の魚へ人工感染させて飼育し，その後，約1か月を経てからメタセルカリアを被嚢から取り出して観察に供した。観察は主として生体標本について行なったが，Zenker 液で固定し，Ehrlich 氏ヘマトキシリン，アラムカーミン染色した標本についても行なった。

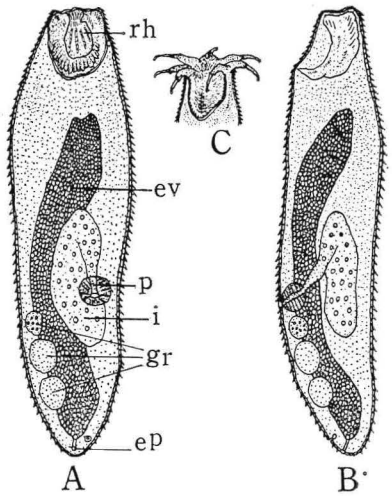


第9図　人工感染によって得たメタセルカリア（×150）
1：被嚢からひきだしたメタセルカリア
2：腹面からみたメタセルカリアと拡げられた触手

第2中間宿主内におけるメタセルカリアは長径195～295 μ，短径124～160 μ の楕円形の被嚢体を形成している。

被嚢から摘出した虫体は盛んに伸縮運動をする（第9図）。10%温ホルマリン液で固定した虫体は体長230～312 μ，体巾84～140 μ であった。体表面はクチクラ層で覆われ，短かい剛毛を備えている。体の前後にある剛毛は小さく，中央部にあるものは大きい。

口は体の後方腹面正中線上にみられ，20～27 μ のよく発達した咽頭を備えている。食道は咽頭より前走し，間もなく後転，袋状の腸管に連なっている。排泄嚢は前方には吸着器官の近くまで拡がり，後方は体の末端部近くまで伸び，腹面に開口する。腹面正中線に対して体の左側後方に縦列する3個の生殖器官の原基がみられる。精巣の原基と思われる後方の2個はほぼ同大で長径20～27 μ，短径15～20 μ，卵巣のそれと思われる前方の1個は卵形で長径15 μ，短径10 μ を算する。なお，右側後方にも陰茎嚢の原基と推察されるものが微かに観察される。体の前端部に位置する吸着器官はよく発達し，7個の触手を備えており，触手は通常は引込めているが，



第10図　人工感染によって得たメタセルカリアの形態（×200）
A：腹面，B：側面，C：触手，
ep：排泄口，ev：排泄嚢，gr：生殖器官の原基，i：腸管，p：咽頭，r：吸着器官

生体標本をカバーグラスで圧すると容易にそれらを伸出する。触手は第10図-Cに示すように，巾広い基部と先細の先端部からなっており，背面に3個，側面に2個，腹側面に2個がそれぞれ配列されている。

第4表　セルカリアを人工感染して得たメタセルカリアと *Bucephalus varicus* との形態的比較

事項＼種	人工感染して得たメタセルカリア	*Bucephalus varicus Manter* (1940)（成　虫）
口	口は常に体の中央部より後方の腹面に開口している	口は常に体の中央部より後方にある
腸	食道は咽頭より前走し，間もなく後転し，咽頭よりも後方へ拡がって袋状の腸管となって終る。	腸は単一袋状。
排泄嚢	吸着器官の近くまで拡がっており，体の末端部の腹面に開口している。やや迂曲したI型。	I型，殆んど吸着器官の近くまでのびている。
触手	吸着器官に7個の伸縮自在な触手を備えている。触手は巾広い基部と先細の先端部をもっている。背面3，側面2，腹面2個。	通常はひつこめている7個の触手をもつている。それぞれの触手は大きな基盤をもっている。
生殖器官	体の左側の後方に3個の生殖器官の原基が縦列している。右側にも1個の生殖器官の原基を認めることができる。	体の左側の後方に睾丸が2個縦列し，前睾丸の前方に卵形の卵巣が縦に並んでいる。陰莖嚢は体の右側に配置されている。

本虫は第4表に示すように，Manter[12] がアメリカの太平洋，大西洋両岸の数種の *Caranx* 魚種から発見した腹口吸虫の成体 *Bucephalus varicus* と酷似している。

2—3　養殖場附近の海域に棲息する魚にみられるメタセルカリアの感染状態

三重県英虞湾，和歌山県田辺湾および愛媛県平城湾で採集した各種の魚について，本種のメタセルカリアの感染状態を調べた結果は第5表のとおりであって，それらはトウゴロウイワシ，キビナゴ，カタクチイワシなどの胸鰭，尾鰭およびそれらの鰭条基部の筋肉中に多く見出され，幼魚においてはとくに筋肉中に多いことがわかった。これらの魚はセルカリアが宿主から泳出する時期に養殖筏附近に群棲しており，とくに中間宿主となる機会が多いのであろう。

また，多徳島地先におけるトウゴロウイワシのメタセルカリアによる自然感染率を時期別にみると第6表のようになり，それは8月下旬より盛期に入るようである。このことはセルカリアのアコヤガイ体内での成熟，泳出の盛期ともほぼ一致しており，秋季となって次第に増加するといえる。

第5表　養殖場附近に棲息する魚種におけるメタセルカリアの自然感染状態

採集地点＼事項	魚種	体長 cm.	調査月日	調査魚数	自然感染魚数	寄生部位
英虞湾（多徳島地先）	トウゴロウイワシ *Atherina bleekeri*	2～4	'62 9—12	13	7	胸鰭・尾鰭及び筋肉
	〃	6～8	'62 9—12	15	2	胸鰭
	カワハギ *Monacanthus cirrhifer*	3～7	'62 10—6	12	8	胸鰭
	〃	10～15	'62 10—3	11	0	—
	アミメハギ *Rudarius ercodes*	2～4	'62 10—3	35	25	胸鰭及び基部の筋肉
	ササノハベラ *Pseudolabrus japonicus*	10～15	'62 10—3	3	1	胸鰭
	マハゼ *Acanthogogius flavimanus*	8～12	'62 8—18	5	0	—
	マハタ *Epinephelus septemfasciatus*	10～14	'62 9—12	10	0	—
	クサフグ *Fugu niphobles*	10～13	'62 8—18	10	0	—
	ウナギ *Anguilla japonica*	30	'62 8—9	1	0	—
	マアジ *Trachiurus japonicus*	10～12	'62 9—12	2	0	—
	カタクチイワシ *Engraulis japonicus*	6～10	'62 10—15	10	0	—
平城湾（平山地先）	トウゴロウイワシ	8～10	'63 10—1	10	7	胸鰭
	キビナゴ *Spratelloides japonicus*	3～5	'63 9—30	10	10	胸鰭及び基部の筋肉
	カタクチイワシ	2～3	'63 9—28	30	29	〃
	〃	5～7	'63 9—30	15	4	胸鰭
	カワハギ	10～14	'63 9—28	10	6	〃
	アミメハギ	2～4	'63 9—28	5	2	〃
	ウナギ	33	'63 6—30	1	0	—
	マアジ	13	'63 9—30	1	0	—
田辺湾（白浜地先）	トウゴロウイワシ	2～4	'63 10—24	2	2	胸鰭及び筋肉
	〃	6～9	'63 10—24	12	9	胸鰭
	キビナゴ	4～8	'64 1—30	33	27	〃
	カタクチイワシ	2～3	'63 10—22	13	13	胸鰭及び筋肉
	〃	5～7	'63 10—24	8	3	胸鰭
	アミメハギ	2～4	'63 10—22	8	5	〃
	シマハゼ *Tridentiger trigonocephalus*	5～7	'63 10—22	3	1	〃
	ウナギ	38	'63 10—24	1	0	—
	マアジ	9～11	'63 10—24	3	0	—

第6表　トウゴロウイワシにおける自然感染率の推移

調査月日	調査魚数	自然感染魚数	感染率	備考
'62 8—9	71	7	9.9%	多徳島地先にて採集
'62 8—17	32	9	28.1	
'62 8—20	11	4	36.4	
'62 8—29	20	10	50.0	
'62 9—12	13	7	53.8	
'62 10—15	25	25	100	御座沖の定置網にて採集*

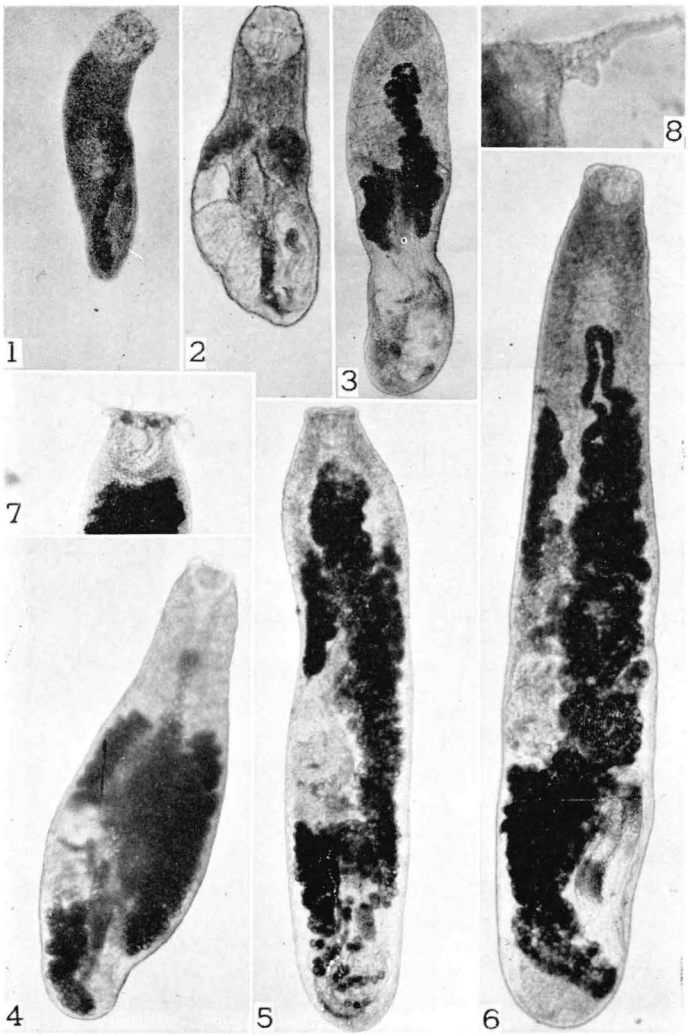
* 秋季には沖合へ移動するので，英虞湾口部で採集したものを調査

第3章　最終宿主における成虫の生態

3—1　罹病貝の多い養殖場海域における *Bucephalus* 属吸虫の探索

愛媛県平城湾，和歌山県田辺湾などを調査場所とし，罹病貝の発生が多くみられる真珠養殖場附近に棲息する各種の魚48種（附表2を参照）について *Bucephalus* 属吸虫の検出を試みた結果，数種の *Caranx* に属する魚類から目的の吸虫を発見することができた。

(1)　ナガエバ *Caranx sexfasciatus* およびマルエバ *C. ignobilis* から得た *Bucephalus* 属吸虫の形態



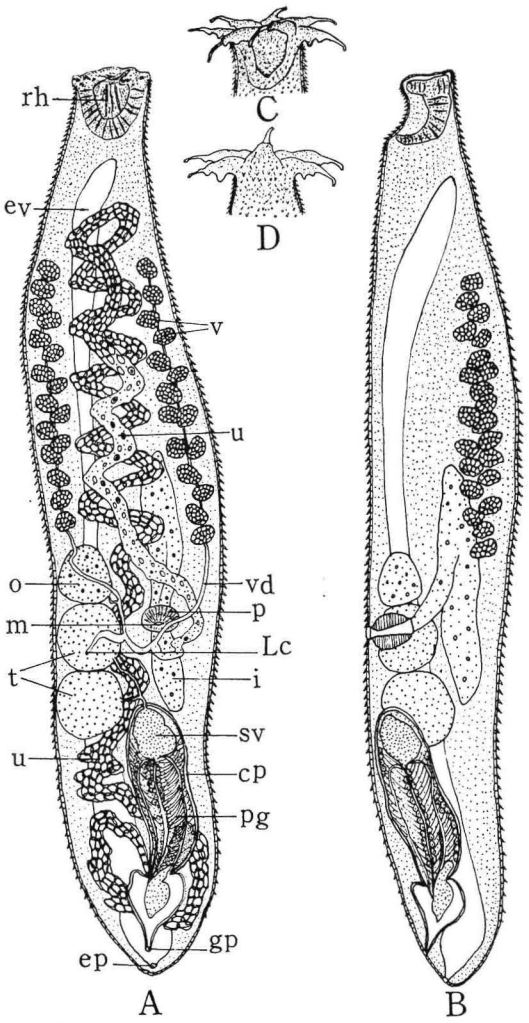
第11図　*Caranx* から得た各発育段階の *Bucephalus* 属吸虫(×80)
1～6：各発育段階を示す虫体　7：拡げられた触手
8：触手の拡大

研究に供した *Caranx* は愛媛県平城湾，和歌山県田辺湾，高知県宿毛湾，三重県五ケ所湾，英虞湾および的矢湾から得たナガエバ82尾，マルエバ23尾であって，これらは1963年10月2日～1966年11月29日に採集したものである（体長9.7～20.2 cm，体重22.5～250.0 g）。

吸虫の形態観察は主として生体標本を用い，内部器官の詳細については固定材料の連続切片標本を作成して観察した。体長測定は10%ホルマリン液による固定標本を使用した。

虫体は宿主体内において著しく伸縮性に富み，同一虫体を計測した例では体長および体巾は1240 μ×420 μから3640 μ×140 μの変化を示した。10%温ホルマリン液で固定し，その大きさを測定した結果，体長496 μ～2360

μ，体巾124μ～336μの各発育段階の虫体を得た（第11図）。体表には短かい剛毛を有している。体の前後にある剛毛は小さく，中央部にあるものは大きい。口は常に体の後半分より少しく後方にあり，よく発達した咽頭（長径 56 ～ 96 μ，短径 52 ～ 80 μ）を備え，短かい前咽頭をもって腹面に開口している。食道は咽頭から前走し，間もなく後転，袋状の単一な腸管（長さ430～450μ）に連なる。排泄嚢は体の長軸に沿って長く伸び，前端の吸着器官の近くまで達し，後方へは体の末端部まで達して腹面に開口している。陰茎嚢は長さ270～420μで，体長の⅕よりも長く，袋状の貯精嚢，長い摂護腺部，大きな生殖窩をもち，生殖口は後方末端部よりやや離れた腹面に開口している。睾丸は2個あって，その大きさは長径100～170 μ，短径80～150μ，体の咽頭の位置する附近からやや後方へ沿って左側に縦列をなしてみられる。卵巣は常に前睾丸の直前に位置し，その大きさは長径80～120 μ，短径80～110μである。卵黄腺は体の背面側にあって，左右両側に14～17個が縦列している。卵黄輸管は後方へ伸び，通常，睾丸附近で互いに連絡している。ラウレル氏管は前睾丸附近で背面に開いている。受精嚢の存在は認められない。子宮は卵黄腺の前方まで広がり，迂曲しながら後方へ向かい，末端の生殖窩に開く。子宮内の卵数はきわめて多く，成熟卵の大きさは長径18～24 μ，短径10～17 μで黄橙色を呈する。なお，吸着器官に備えている7個の触手は通常は引き込めているが，未成熟の虫体では盛んにそれらを伸縮しているのがみられた。触手は巾広い基部と先細の先端部からなっている（第12図）。



第12図　*Caranx* から得た *Bucephalus* 属吸虫の形態（×80）
A：腹面，B：側面，C：拡げられた触手(腹面)
D：触手(背面)
cp：陰茎嚢，ep：排泄口，ev：排泄嚢，
gp：生殖口，i：腸管，Lc：ラウレル氏管，
m：口，o：卵巣，p：咽頭，pg：摂護腺，
rh：吸着器官，sv：貯精嚢，t：睾丸，u：子宮，
v：卵黄腺，vd：卵黄輸管

以上の形態的特徴はすでに報告されている *Bucephalus varicus Manter*, 1940 のそれに一致し，したがって本虫はこの種に同定される。

(2)　ナガエバにおける本吸虫の発育程度と寄生部位の関係

三重県五ケ所湾で採集したナガエバに寄生していた本吸虫の大きさとその寄生部位との関係は第7表のとおりで，成熟した虫体は主として幽門垂にみられ，比較的発育の遅れているものおよび未成熟の虫体は胃，腸部にみいだされている。

このことから，中間宿主とともに最終宿主に捕食されたメタセルカリアは胃から腸部に

第7表　本吸虫の発育程度とその寄生部位

No.	幽門垂に見出された吸虫数　>800μ*	胃・腸部に見出された吸虫数 >800μ	胃・腸部に見出された吸虫数 <800μ	総数	採集月日 場所
1	27 (87.1%)	0 (0%)	4 (12.9%)	31	
2	20 (91.0)	1 (4.5)	1 (4.5)	22	
3	49 (96.1)	0 (0)	2 (3.9)	51	'63 10—28
4	38 (95.0)	1 (2.5)	1 (2.5)	40	五ケ所湾奥部
5	18 (100)	0 (0)	0 (0)	18	
6	48 (85.7)	2 (3.6)	6 (10.7)	56	
7	22 (88.0)	2 (8.0)	1 (4.0)	25	
8	19 (86.4)	1 (4.5)	2 (9.1)	22	'63 12—16
9	20 (83.3)	1 (4.2)	3 (12.5)	24	五ケ所湾中央部
10	52 (96.2)	1 (1.9)	1 (1.9)	54	

* 800μ の虫体となる頃に，子宮内に卵が形成され始める

第8表　*Caranx* の採集地点別の本吸虫の寄生率

採集地点＼事項	罹病貝の出現状況*	採集月日	調査魚数	感染魚数	感染率%	魚種
田辺湾	CC	'63 10—24～'65 1—29	18	18	100	
平城湾	CC	'63 10— 2～'65 10—4	7	7	100	
宿毛湾	CC	'64 10— 2	8	8	100	ナガエバ *Caranx sexfasciatus*
五ケ所湾	C	'63 10—28～'64 12—16	10	10	100	
英虞湾	R	'63 11—14～'64 10— 8	24	7	29.2	
的矢湾(飯浜)	N	'63 10—28	11	0	0	
志摩半島沖	N	'66 11—27～'66 11—29	4	0	0	
平城湾	CC	'63 10— 3～'63 10— 4	7	7	100	マルエバ *Caranx ignobilis*
五ケ所湾	C	'63 10—28～'63 10—31	8	4	50.0	
英虞湾	R	'63 11—14	8	0	0	

* 養殖4年貝における罹病貝の出現状況（湾における最高の罹病率をあらわす地点をもつて示す）
CC：30%以上，C：10～30%，R：10%以下
N：真珠養殖場なく，天然貝にも罹病貝なし

至る間に被嚢から脱出し，腸後部へくだり，再び腸内を上行して幽門垂に至り，そこで成熟するものと推察される。

(3) 罹病貝の出現状況と *Caranx* にみられる本吸虫の寄生率

ナガエバおよびマルエバにおける本吸虫の寄生率を採集場所別にみると第8表のとおりで，病害が多い真珠養殖場附近で採集した魚には本吸虫の寄生率が高く，罹病貝の発生が殆んどみられない海域ではその寄生率が低い。的矢湾奥部の飯浜地先ならびに志摩半島沖合のように真珠養殖業が行なわれていない海域では本吸虫の寄生は全くみられなかった。

このことは，*Caranx* から見出された本吸虫が真珠養殖場における罹病貝の出現状況と深い関連をもっていることを示唆している。

(4) *Caranx* における本吸虫の寄生尾数と第2中間宿主のメタセルカリアによる感染率との時期的関係

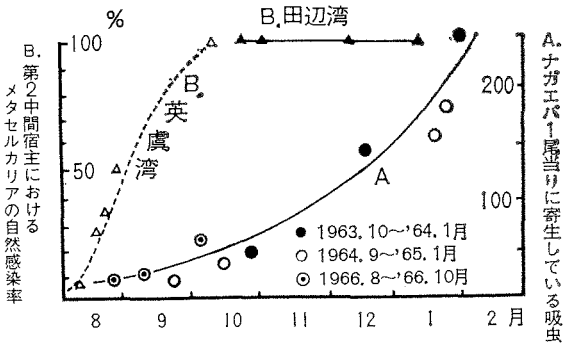
田辺湾，平城湾，五ケ所湾および英虞湾で採集したナガエバについて，その採集時期別に本吸虫の寄生尾数を示すと第9表のとおりで，同一地点でも採集時期によってその寄生尾数に変動がみられる。

ナガエバの採集尾数が多かった田辺湾について，その採集時期的に本吸虫の寄生尾数と

第9表　採集時期別にみたナガエバにおける本吸虫の寄生尾数

事項 / 採集地点	採集月日	調査魚数	感染魚数	寄生虫数 範囲	寄生虫数 平均	湾における位置
田辺湾	'63 10—24	3	3	20～ 89	46.0	湾奥部
	'63 12—16	2	2	145～181	163.0	〃
	'64 1—30	8	8	156～325	256.6	〃
	'64 9—20	1	1	15	15	〃
	'64 10—15	2	2	38～ 45	41.5	〃
	'65 1—27	1	1	156	156	〃
	'65 1—29	2	2	169～206	187.5	〃
	'66 8—31	2	2	6～ 14	10.0	〃
	'66 9—13	1	1	32	32	〃
	'66 10— 4	2	2	52～ 93	72.5	〃
	'64 1—30	1	1	4	4	湾口部
平城湾	'63 10— 2 ～'6 310—4	7	7	69～273	157.3	湾奥部
五ケ所湾	'63 10—28	6	6	18～ 56	36.3	湾奥部
	'63 12—16	4	4	19～ 54	28.7	湾中央部
英虞湾	'63 11—14 ～'63 11—29	13	6	1～ 9	3.7	湾口部
	'64 8—11	4	0	0	0	湾中央部
	'64 9—10	2	0	0	0	〃
	'64 9—21	2	0	0	0	湾奥部
	'64 10—15	3	1	3	3	湾中央部

第2中間宿主のメタセルカリアによる自然感染率を取り纏めて示すと第13図のようになる。すなわち，セルカリアの泳出が盛期になるにともない，第2中間宿主のメタセルカリアによる自然感染率が増加すると，ナガエバにおける本吸虫の寄生が発見されるようになり，以後その寄生尾数は次第に増加するという関係が認められる。



第13図　ナガエバにおける本吸虫の寄生尾数(A)と第2中間宿主のメタセルカリアによる自然感染率(B)との時期的関係

(5)　*Caranx* から得た吸虫と人工感染によって得たメタセルカリアの形態的比較

Caranx から得た本吸虫は前述のとおり *Bucephalus varicus Manter* と同定し得るが，これと人工感染によって得たメタセルカリアを比較すると，(1)口は常に体の中央部より後方の腹面に開口し，(2)腸管は単一袋状，(3)排泄嚢は吸着器官の近くまで拡がっており，体の末端部の腹面に開口し，その形はやや迂曲したI型，(4)触手は伸縮自在で7個からなる，(5)生殖器官のうち，睾丸は体の左側に2個が縦列してみられ，卵巣は前睾丸の直前に位置し，陰茎嚢は体の右側後方にあるなど，主要な形態的特徴のすべてが両者に共通してみられる。

以上の諸点から，ナガエバおよびマルエバから発見された本吸虫は *Bucephalus varicus* であり，アコヤガイに寄生するセルカリアの成虫であることはほぼ疑いない。なお，本邦では本種は山口[13]により那覇で採集されたカイワリ *Caranx equula* から発見されている。

3—2　メタセルカリアの最終宿主への人工感染実験

以上，ナガエバおよびマルエバから発見した本吸虫を *Bucephalus varicus* と同定し，これをアコヤガイに寄生するセルカリアの成虫と推定したが，これらの魚類は飼育とくに摂餌への馴化が困難なために人工感染の実施が容易でなかった。しかし，1965年に至って，ようやくナガエバおよびカイワリについて感染実験に成功し，目的の成虫を得ることができた。

(1)　カイワリを宿主とした人工感染実験

1965年5月24日に和歌山県田辺湾元島周辺で船曳網で採集し，摂餌するまでに馴化された当才魚5尾を和歌山県水産試験場から譲与され，6月10日から同水試目良種苗センターのコンクリート池で感染実験を実施した。人工感染によるメタセルカリアが時期的ならびに実験場所の都合で得ることができなかったので，田辺湾で採集したキビナゴを顕微鏡下で観察して本吸虫のメタセルカリアを検出，計数した後に未感染のキビナゴの腹腔内にメタセルカリアを挿入してカイワリに捕食させた。このばあい，キビナゴに寄生している本吸虫のメタセルカリアの自然感染率は76%（調査数67尾）であったが，観察の結果，約3割は斃死しており，生存しているメタセルカリアも活力がきわめて微弱であった。また，

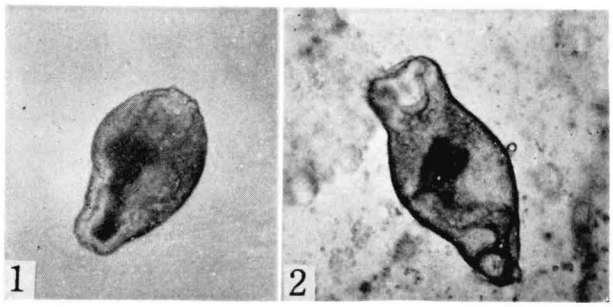
実験開始に際して，カイワリ2尾（体長12.0 cm および11.5 cm）を解剖して本吸虫の自然感染状態をみたが，それは全く認められなかった。

メタセルカリアの投与数と実験結果の概要は取り纏めて第10表に示した。その結果，宿

第10表　カイワリに対する人工感染の実験方法ならびに結果の概要

事項 / 魚体番号	試験魚の大きさ 体長	試験魚の大きさ 体重	メタセルカリアの投与日ならびに投与尾数	解剖月日ならびに結果の概要
1	cm 10.5	g 29.0	1965年6月10日 9尾	6月12日（投与後2日目） 排泄嚢に排泄顆粒の認められる未成熟虫体4個が得られた。
2	10.5	35.5	6月10日 14尾	6月14日（投与後4日目） 虫体は認められなかった。
3	8.5	21.5	6月10日，5尾 6月14日，解剖3時間前に7尾	6月14日（投与後4日目および3時間後） 排泄顆粒の認められる虫体6個が胃から，認められない虫体2個が腸から得られた

主に捕食された後のメタセルカリアは，2日経過後までは排泄嚢に排泄顆粒が認められるが，4日を経過すると排泄顆粒は殆んどみられなくなり，前者にくらべてやや成長した幼体として区分し得た（第14図）。この回の実験は宿主の数が不足したので，これで一応打切った。しかし，一般にメタセルカリア期には排泄嚢に排泄顆粒を蓄積しており，



第14図　人工感染によってカイワリから得た虫体
1：投与後2日目…排泄嚢に排泄顆粒が認められる幼虫体
2：投与後4日目…排泄嚢に排泄顆粒が殆んど認められない幼虫体

最終宿主内に寄生するときにはそれらは体外に放出されるのであるが，この点および本吸虫の最終宿主とならない魚種（たとえば，アミメハギ，マハゼなど殆んどの魚類）で実験した結果では，2日目以降にはそれらの幼体を全く認め得なくなることから，カイワリは本吸虫の最終宿主となる可能性があり，前記の山口[13]の報告はこの点を裏書きしている。

(2)　ナガエバを宿主とした人工感染実験

水槽内で，罹病貝から泳出させたセルカリアを第2中間宿主として飼育の容易なアミメハギを用いて感染させ，循環沪過式コンクリート池で1か月間飼育してメタセルカリアとして発育させた。他方，宿主とするナガエバは捕獲後，虫体の侵入のないようにイソゴカイあるいはメタセルカリアの感染が全くないことを確認したカタクチイワシを与えて，これらの餌料に馴化させてから実験に使用した。

メタセルカリアの投与にはアミメハギの胸鰭を基部の筋肉とともに魚体から切り離し，

被嚢体を計数し，そのままイソゴカイあるいはカタクチイワシの腹腔内に挿入してナガエバに捕食させた。感染実験水槽内には3尾のナガエバを飼育していたので，前もって各魚体に記号をつけておき，そのそれぞれについて，メタセルカリアの捕食数を記録した。

a)　第1回人工感染実験　　宿主としたナガエバは英虞湾内浜島町大崎地先で1965年10月12日に捕獲した1尾で，解剖時の大きさは体長18.2 cm，体重150 g であった。感染実験は1×2×0.6 m，恒温(20°C) 循環沪過式プラスチック製水槽で行なった。

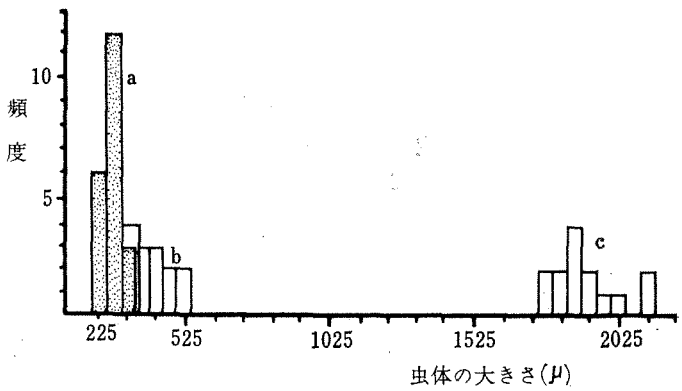
上記のナガエバに1965年11月5日にメタセルカリア15尾を，また，9日に21尾を投与して，11日に解剖した。すなわち投与日は解剖日から数えて，それぞれ6日および2日前に当る。解剖の際には胃，腸および幽門垂を分割し，それぞれの部位ごとに虫体を取り出し，ただちに30%アルコールで麻酔し，さらにアルコール・酢酸液で固定した後に大きさの測定と虫体の計数を行なった。

実験魚から得た虫体について，寄生部位別に寄生虫数とその大きさを示すと附表3-aのとおりであり，胃からは230～275 μの12個体，腸からは250～530 μの23個体，幽門垂からは1750～2100 μの14個体が得られた。ここで前項のカイワリでの捕食初期の虫体の形態的所見から，その排泄嚢における排泄顆粒の蓄積の有無を考慮してそれらを区分すると第11表

第11表　人工感染によってガナエバから得た虫体の大きさと寄生部位の関係

寄生部位 / 区分 / 事項	虫体の大きさ (μ)		
	胃および腸部		幽門垂
	a 群	b 群	c 群
範囲	230～300	305～530	1750～2100
平均	263.6	395.0	1885.0
標準偏差	20.8	76.4	203.3
個体数	21	14	14

a：虫体の排泄嚢に排泄顆粒が認められるもの
b：虫体の排泄嚢に排泄顆粒が認められないもの
c：成熟している虫体



第15図　人工感染によってナガエバから得た虫体の大きさ別の頻度分布図

のように次の3群，すなわち，胃および腸から得られ，また排泄嚢に排泄顆粒が認められる大きさ230～300μの21個体，そのすべてが腸内異物につつまって腸壁に吸着寄生していて排泄顆粒のみられない305～530μの12個体，さらに幽門垂から得られた成熟大形（1750～2100μ）の14個体に分けられ，第15図に示すような頻度分布図が得られる。これらのうち，幽門垂に寄生している大形群は形態的に完全に成熟しており，この群と小形未成熟群との間には大きさにかなりの隔りがある。また，この実験では約1か月間に亘って，ナガエバへの自然感染の経路が途絶えているので，この大形群（c群）は人工感染によるものではなく，ナガエバの捕獲以前に自然感染して1か月以上を経過したものではないかと考えられる。

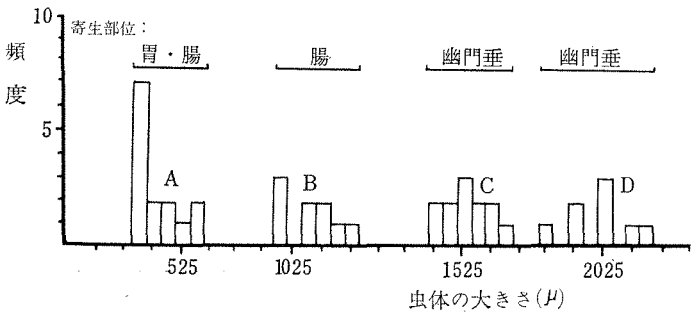
このように考えると，他のより小形の2群は期間的に考えても，投与したメタセルカリアから由来したものであり，最小群（a群）は感染後2日，第2群（b群）は6日を経過したものということになる。

b）第2回人工感染実験　　供試のナガエバは1965年8月25日に前回の魚と同地点で捕獲したもので（解剖時の大きさ，体長15.8 cm，体重110 g），捕獲後2×6×1 m の循環沪過コンクリート池で飼育したが，この池には人工感染させた第2中間宿主を混養してあったために虫体の侵入の可能性が考えられたので，9月下旬に前記のプラスチック製の感染実験水槽へ移した。

この回のメタルセルカリアの投与は11月5日に18尾，12日に15尾，19日に18尾，すなわち1週間間隔で3回行ない，11月26日に解剖した。このばあい，メタセルカリアの投与から解剖日までの日数は前回よりも長く，それぞれ21日，14日および7日となる。なお，虫体の大きさの測定は前回と同様な固定標本によった。

上記の方法で実験魚から得た虫体の大きさとその寄生部位の関係は附表3-bに示すとおりである。これから大きさ別の頻度分布図を書くと第16図となり，第12表に示されるような4群に分けられる。

今回の実験においても，9月下旬に感染実験水槽に移してからの1か月間以上はナガエバへの虫体の自然感染経路が途絶えているのであるが，これら4群の最小形のA群は第1回感染実験の際，腸にみられた排泄嚢に排泄顆粒のみられない305～530μの未成熟群（b群）とメタルセルカリア投与後の経過日数がほぼ同じであり虫体の大きさもほぼ同等であるので，第3回投与のメタセルカリアに由来することはほぼ間違いないと考えられる。したがって，B群，C群はそれぞれ第2回，



第16図　人工感染によってナガエバから得た虫体の大きさ別の頻度分布図

第12表　人工感染によってナガエバから得た虫体の大きさと寄生部位の関係

寄生部位／区分／事項	虫体の大きさ (μ)			
	胃および腸部	腸部	幽門垂	
	A群	B群	C群	D群
範囲	370～590	850～1100	1400～1650	1800～2150
平均	440.8	968.0	1512.5	1981.3
標準偏差	72.9	88.8	80.1	113.1
個体数	14	9	12	8

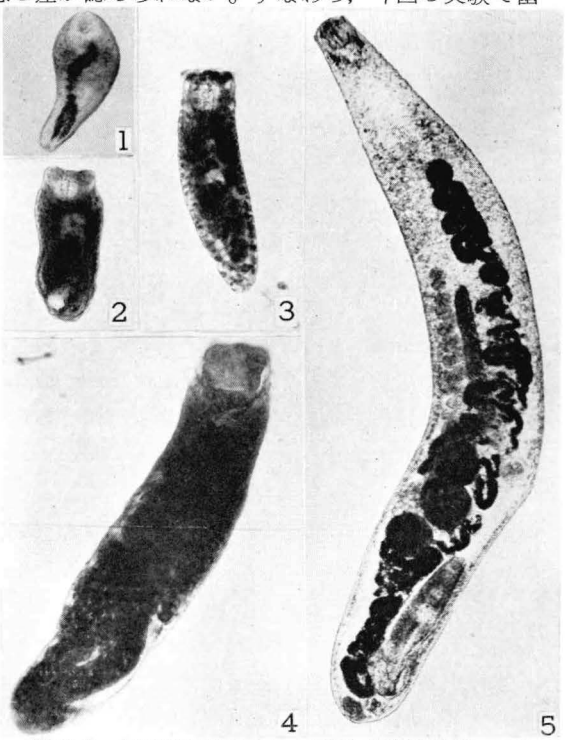
第1回投与のメタセルカリアに由来すると考えられる。なお，幽門垂から得られた最大のD群は形態的に完全に成熟しており，第1回感染実験で得られた自然感染の大形成熟群（c群）との間の虫体の大きさについて，その平均値の差を検定すると $F_0=4716.3/3135.8=1.50<F^1_{20}(0.05)=4.35$ となり，有意の差が認められない。すなわち，今回の実験で幽門垂から得られた大形成熟群（D群）も感染実験水槽に移す以前の感染によるものと考えるのが至当であろう。

(3)　人工感染実験によって得た虫体の形態

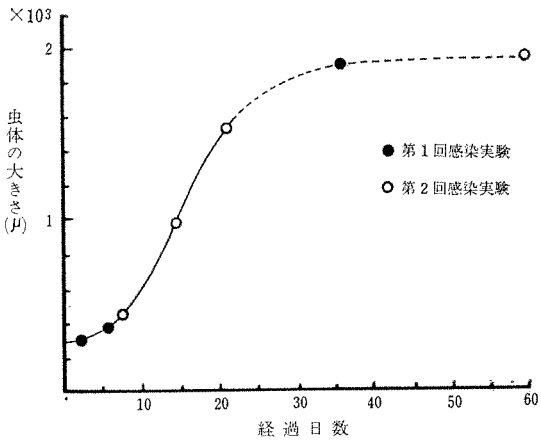
人工感染によって得た各発育段階の虫体は第17図に示したが，いずれも口は常に体の中央部より後方にあり，単一袋状の腸管を備え，やや迂曲したI型の長い排泄嚢を有し，生体標本をカバーグラスで圧すると吸着器官に備える7個の触手を伸出する。腹面正中線に対して左側後方に縦列して卵巣ならびに2個の精巣を備え，右側後方には長い陰茎嚢を有している。また，第2回感染実験のB群（メタセルカリア投与後14日経過の群）には子宮内に卵が形成されている。

(4)　人工感染実験によって得た虫体の発育速度

第11および12表の宿主に投与されたメタセルカリアの経過日数と虫体の大きさとの関係を図示すると第18図のよ



第17図　人工感染実験によって得た各発育段階の虫体
1：投与2日目，排泄嚢に排泄顆が認められる（第1回感染実験）
2：投与後6日目，排泄嚢に排泄粒が認められなくなる（第1回感染実験）
3：投与後1週間目（以下，第2回感染実験）
4：投与後2週間目　　5：投与後3週間目



第18図　人工感染実験によって得た虫体の成長曲線

うな成長曲線が得られる。第1回感染実験の成体群（1885.0±203.3 μ）は1か月以上，第2回感染実験の成体群（1981.3±113.1 μ）は2か月以上経過しているとみられるが，両成体群の大きさの平均値には有意の差がみられないことから，1924.5±117.4 μ（両成体群22個体の大きさの平均値）が本吸虫の成熟虫体としての平均体長であると考えられる。なお，これらの魚の腸内には腸内異物につつまれて成虫から産卵されたと考えられる成熟虫卵がみられた。

第2回感染実験のB群（968.0 ± 88.8 μ）には子宮内に卵が形成されていること，また，自然感染のナガエバでは体長800 μ前後の虫体において卵が形成され始めていたことなどから，最終宿主に捕食されたメタセルカリアは約15日経過して虫卵をもつようになり，1か月余を経過して成熟虫体にまで発育すると考えられる。

以上から，最終宿主は *Caranx* 属の魚種，ナガエバ，マルエバ，カイワリなどと推定される。

第4章　考　察

4—1　種の査定

以上はセルカリア期において，アコヤガイに寄生する吸虫の生活史に関して行なった実験について述べたものであるが，同時にその種名についても触れた。その結果，アコヤガイに寄生するセルカリア *Bucephalus margaritae* Ozaki et Ishibashi は *B. varicus* Manter と同種であり，前者は後者の幼体であると同定したが，ここで，本種をその近縁種と比較してみよう。

本吸虫のセルカリアは尾崎（佳）ら[2]によって *Bucephalus* 属に分類されたが，その後，尾崎（弘）[14]は「真珠貝に寄生する *B. margaritae* Ozaki et Ishibashi は *ante*rior organ が吻であるので *Prosorhynchus* 属に移した」と述べている。しかし，著者の観察によれば，このセルカリアはメタセルカリア期になると，前端部の吸着器官の一部に触手が発達してくるものであって *Bucephalus* 属に分類するのが至当であると考えられる。

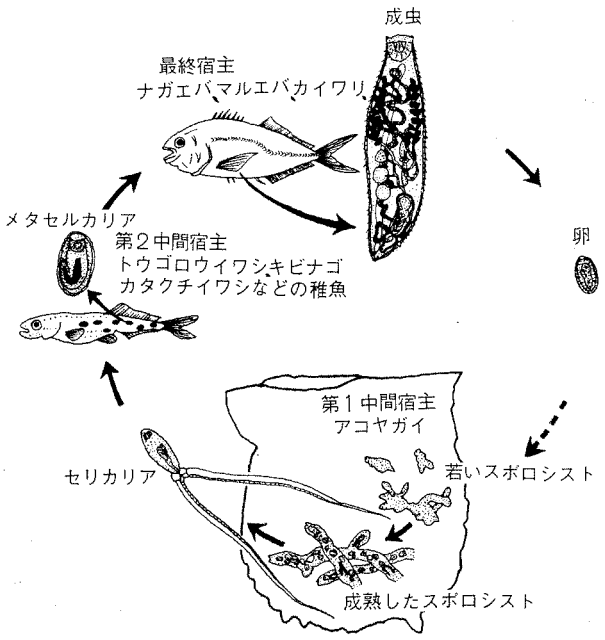
本吸虫のセルカリアの近縁種には Tennent[11] によって報告されたカキに寄生するセルカリア *B. haimeanus* Lacaze-Duthifrs, 1854 がある。尾崎（佳）らはこれと比較して，尾部の形およびその発達ならびに咽頭の位置において相違があると報告しているが，その相違点の詳細については触れていない。著者は本吸虫のセルカリアと Tennent の報告した *B. haimeanus* と比較してこの点を検討した結果，(a)尾部においては鞭状部に存在する縦走する帯状の筋繊維の数に相違点が認められ，*B. haimeanus* においては2個ずつ組み

合っている帯状の筋繊維が6個みられるが，本吸虫ではそれぞれは1個の帯状の筋繊維であり，輪走する筋繊維層に6個，顆粒を含む2列の細胞群に各1個の計8個が存在している（第2図-7～9）こと，また，(b) *B. haimeanus* では体の前端の吸着器官に3唇に分岐した唇状部がみられるが，本セルカリアではそれが4唇に分岐していることを知った。ただし咽頭の位置については虫体の伸縮状態や固定時の条件によってかなり異なり，カキに寄生する *B. haimeanus* について Tennent のいう「体の中央部附近」と，本吸虫に関する著者のみた「中央部よりやや後方」および尾崎(佳)らの記載による「体の後方から⅓」とでは差異として挙げる程の特徴とはならないかも知れない。これらの点を含めて考えると，カキに寄生するセルカリア *B. haimeanus* と本吸虫のセルカリアとは若干の器官では相違点は認められるが，きわめて近縁な関係にあると考えられる。

さらに，本吸虫の成体と *B. polymorphus Baer*, 1827[15] とは種々の点で類似点がみられるが，後者は最終宿主が淡水魚であるということから，両者はそれぞれ異なる種類と考えられている。しかし，本吸虫のセルカリアは環境条件，とくに比重に対する適応範囲が広いこと，また，第2中間宿主（マハゼを用いた）に侵入後にその宿主を淡水に移行させても筋肉中に被嚢を形成しているメタセルカリアは生存していること，さらに最終宿主のナガエバなどが溯河性魚類であることなどから，あるいは別種とするのが適当かどうか問題を残している。

4—2　生活史の要約

本吸虫の生活史については各章で詳細に述べたが，その概要を取り纏めると第19図のようになる。



第19図　アコヤガイに寄生する吸虫の生活史

第1中間宿主としてのアコヤガイの体内で見出される最も初期の虫体は，単一なあるいは少数の枝状突起をもつ嚢状の初期スポロシストである。それ以前の幼体については現在まで観察の機会を得ていない。これらは水温の上昇とともに発育して円筒状ないしは樹枝状に分岐した成熟スポロシストになり，その中に若いセルカリアを生じ，夏季から秋季にかけて成熟したセルカリアに発育して，アコヤガイから泳出する。第1中間宿主から泳出したセルカリアは尾部の著しい伸縮力によって游泳し，夏季から秋季に真珠養殖筏附近に群棲するトウゴロウイワシ，

キビナゴ，カタクチイワシなどの幼魚の体内に侵入し，被嚢を形成して，1か月経過すると成熟したメタセルカリアに発育する。最終宿主はナガエバ，マルエバ，カイワリであるが，これらの魚に捕食されたメタセルカリアは1か月余で成体にまで発育する。これらの魚のうち，自然状態における寄生魚の割合，本吸虫の寄生尾数から考えると，ナガエバが最終宿主の主体となると考えられる。

ここで，さらに本吸虫のアコヤガイへの感染経路について考察を進めてみよう。

まず，病害の発生が殆んどみられないような海域，たとえば英虞湾についてみると，他の海域から搬入した前年識別罹病貝（前年の初夏にはじめて罹病を外見識別し得た貝）からセルカリアが泳出するのは9～11月で，これは1か月間でメタセルカリアとして形態的に完成するので，成熟メタセルカリアの出現は10月以降になる。これらは最終宿主に捕食されてから1か月間で成体にまで発育するので，最終宿主が吸虫の成体を有するのは11月以降になる。しかし，英虞湾では秋季以降（11月）になると第2中間宿主となる魚類の殆んどが湾口部あるいは湾外へ移動し，さらにナガエバなども湾奥部では秋季以降（11月）は棲息せず，越冬するものがみられないので，メタセルカリアによる第2中間宿主の自然感染率が殆んど100％におよぶにもかかわらず，アコヤガイへの感染がきわめて少ないと考えられる。すなわち，このような海域では宿主の習性による本吸虫の生活史の一環が切断されているとみるべきであろう。

これに対して，奄美大島から1966年6月中旬に搬入した罹病貝では，すでに虫体の増殖が始まっており，成熟したセルカリアも認められた。また，和歌山県田辺湾から1966年5月から毎月1回あて搬入した罹病貝について，虫体の発育状態を観察したが，7月初旬にすでに成熟セルカリアの泳出がみられた。すなわち，このような暖海性の海域におかれていた罹病貝は7月頃にはすでにセルカリアの泳出が認められることから，これらは8月初旬には第2中間宿主内において成熟したメタセルカリアに発育し，これらがすぐに最終宿主に捕食されたとすると，9月初旬には成体にまで発育する。ここで，成熟卵がただちに海中へ放出され孵化すると秋季におけるアコヤガイへの感染が考えられる。しかも，これらの水域には第2中間宿主が冬季にも棲息しており，また最終宿主としての *Caranx* 属の魚種の一部が越冬する。このようなところが，本吸虫による被害水域としての条件となっていると考えられる。本吸虫による被害はこれまでの調査によれば四国（愛媛，高知，徳島），九州（鹿児島，宮崎，大分），紀伊半島南部（和歌山，三重）などの暖海域で，とくに湾の奥部に位置する養殖場にみられる。

摘　要

1）第1中間宿主（アコヤガイ）における幼体の形成過程は以下のとおりである。宿主の体内に見出される最初の虫体は単一な，あるいは少数の樹枝状突起をもつ嚢状の初期スポロシストである。これらは発育して樹枝状に分岐した成熟スポロシストになる。このスポロシストの中に生ずる初期虫体は胚細胞であるが，これは分裂して直径約22μの胚球を形成する。胚球は発育して直径45μ前後になると卵形を呈する。尾部の原基は体長50～60μの虫体に，また，咽頭ならびに吸着器官の原基は80μ前後の虫体にはじめて認められ，

排泄嚢は100μ前後に達したとき嚢状体として認められるようになる。虫体は180μ前後になると諸器官が完成し，成熟したセルカリアとしての体制を整える。

2) 宿主から泳出したセルカリアは著しく伸縮性に富む。本虫の形態的特徴は次のとおりである。固定標本での大きさは体長163～273μ，体巾45～60μで，体表は微細な鱗片模様のクチクラ層に覆われ，口は常に体の後半分より少しく後方の腹面正中線上にある。腸管は単一な袋状を呈す。排泄嚢は体の長軸に沿って長く伸び，Ⅰ型をなす。吸着器官の前端部は4唇に分れ，陥入部に連なる柔組織に著大な腺細胞群が分布する。

3) 宿主内における虫体の発育経過は各海域によって多少異なるが，三重県英虞湾における1例を示すと次のとおりである。罹病の有無は外見上では宿主の入鰓静脈の肥大とその乳白色化によって識別し得るが，6～7月にこのような方法で鑑別した初期罹病貝を飼育してその経過を観察すると，9月にはその生殖腺の大部分にスポロシストが拡がり，その中に種々の発育段階を示す虫体（胚細胞～セルカリア）がみられるようになる。このばあい，宿主の生殖腺はスポロシストのために沪胞が押し縮められ，その間に未成熟の生殖細胞が若干認められるといった状態になっている。セルカリアは9月から11月にかけて成熟して宿主から泳出するが，12月になるとその増殖は殆んど停止し，またスポロシストはそのまま宿主の体内に残って越冬する。第2年目の胚球がスポロシストの中に生ずるのは7月頃であり，8月にはそれらは若いセルカリアに発育し，前年の経過を再度繰り返す。なお，罹病貝の体内におけるセルカリアの発生は2～3年は持続し，なかにはその後，自然治癒する個体が多少みられるが，その多くは治癒に至らず斃死の転帰をとる。

4) 罹病貝の生殖腺からスポロシスト組織片を切り出し，それを正常貝へ移植したが，本虫の伝染は認められなかった。

5) 同一時期の宿主内におけるセルカリアの発育状態を部位別にみると，成熟虫体は生殖腺，入鰓静脈，鰓葉間静脈の順に多くなっている。また，宿主内の虫体は10～30°Cの水温範囲では高い水温の方が著しく早く成熟する。

6) 海水中に泳出したセルカリアの生存時間は3日以内であるが，第2中間宿主への侵入は24時間以内，とくに泳出直後から数時間が最も活力が高いようである。

7) セルカリアの水温および海水の比重に対する適応範囲はかなり広いが，適水温は20～30°C，適比重は1,020～1,025である。

8) 宿主から泳出したセルカリアは尾部を伸縮させて游泳し，魚類の鰭条間の膜状部などに侵入する。とくに宿主が幼魚のばあいには体表面から直接侵入して筋肉中に入る。第2中間宿主は沿岸に普通にみられる種々の魚類であるが，これらの体内に侵入したセルカリアは2日目には被嚢の形成が始まり，1週間でほぼ完成し，約1か月で体制の整ったメタセルカリアに発育する。

9) 被嚢から摘出した虫体は伸縮性に富み，固定標本での大ささは体長230～312μ，体巾84～140μであった。人工感染によって得たメタセルカリアの形態的特徴は次のとおりである。体表面はクチクラ層に覆われ，短かい剛毛を有している。口は体の後方腹面正中線上にみられ，食道をもって袋状の腸管に連なる。排泄嚢は体の長軸に沿って長く伸び，Ⅰ型を呈す。腹面正中線に対して体の左側後方に縦列する3個の生殖器官の原基がみられ

る。吸着器官には7個の触手を備えている。これらの特徴から本虫は *Bucephalus varicus* Manter, 1940（成虫）に同定することが妥当と考えられた。

10）自然感染のメタセルカリアは真珠養殖場附近の水域で採集したトウゴロウイワシ，キビナゴ，カタクチイワシなどの胸鰭，尾鰭およびそれらの鰭条基部の筋肉中から発見することができる。トウゴウイワシのメタセルカリアによる自然感染率を時期別にみると，第1中間宿主内におけるセルカリアの成熟，泳出の盛期とほぼ一致しており，秋季となって次第に増加している。

11）罹病貝が多くみられる養殖場附近の水域に棲息する魚類について *Bucephalus* に属する吸虫の寄生の有無を調査した結果，アジ科魚類のナガエバおよびマルエバの消化器官から目的の吸虫を発見することができた。

12）本虫はアコヤガイに寄生するセルカリアを人工感染させて得たメタセルカリアの形態的特徴を具備する。本虫のナガエバ，マルエバにおける寄生率はその海域における罹病貝の出現率と深い関係をもっている。また，ナガエバにおける本虫の寄生尾数はアコヤガイに寄生するセルカリアの泳出時期ならびに第2中間宿主のメタセルカリアによる自然感染率と密接な関係がある。以上の諸点から，アコヤガイに寄生するセルカリアの成体は *B. varicus* Manter と推定した。

13）メタセルカリアを人工感染させた小魚を最終宿主と推定されたナガエバおよびカイワリに投与して感染実験を行った結果，これに成功して目的の成虫を得ることができた。最終宿主に捕食されたメタセルカリアは約15日で未成熟卵をもつ虫体となり，1か月余を経過して成熟虫体として，平均体長 1925±117μ に達する。これらの魚の腸内には腸内異物につつまれて成熟虫卵がみられた。このことから，成虫から産卵された卵は腸内をくだり，宿主から放出され，それが孵化してアコヤガイへの侵入が行なわれると推考される。最終宿主は *Caranx* 属の魚種，ナガエバ，マルエバ，カイワリなどと推定される。

14）本種はメタセルカリアおよび成虫の形態から既報の *Bucephalus varicus* Manter と同定することが適当である。したがって，尾崎らによって *Bucephalus margaritae* と命名されたアコヤガイに寄生するセルカリアは *B. varicus* の幼体であるということになる。なお，本種はわが国は山口[13]により那覇で採集されたカイワリから発見されている。

第2篇　真珠養殖におよぼす病害

第1章　罹病貝の識別

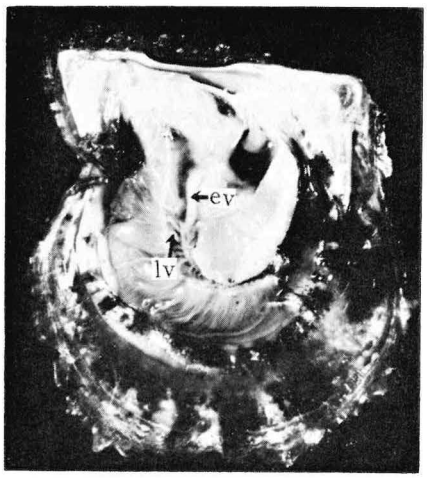
セルカリアが寄生したアコヤガイを外観から区別することは困難であるが，病害を受けている貝はセルカリアの成熟期には，貝殻鱗片状突起の伸びが悪く，いわゆる「ぼうず貝」の型になっているものが多い。

罹病貝の生殖腺中にみられる最初の虫体は単一な，あるいは少数の枝状突起をもつ嚢状の初期スポロシストであるが，発育すると円筒状ないしは樹枝状に分岐した管状体となって生殖腺を侵し，次第に増殖して殆んど全組織におよぶ。

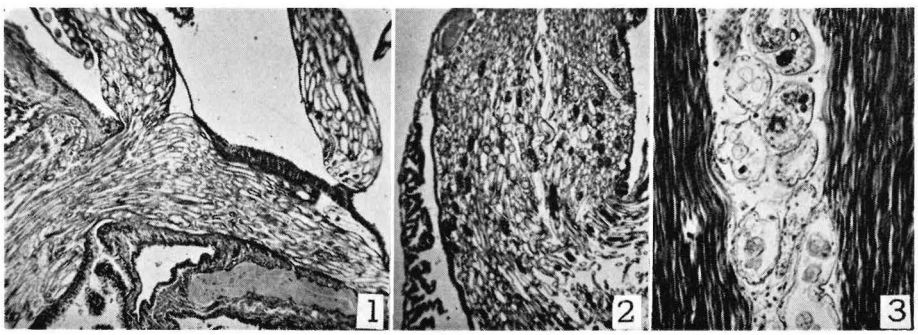
また，スポロシストの中に生ずる若い虫体は殆んど無色透明であるが，発育すると黄色

味を帯び，寄生部位は黄色を呈する。真珠養殖業者はこれらの貝を「黄貝」と呼び，さらに，スポロシストが生殖腺の中に充満すると網目を張ったようになるので「網卵貝」とも呼んでいる。

第1幼生のアコヤガイへの侵入は主として秋季に行なわれるが，感染初期の罹病貝については軟体部を観察しての外見上による識別は困難であり，生殖腺から注射器で組織の一部をとり出して初期スポロシストの有無を検鏡識別するほかはない。しかし，スポロシス



第20図　罹病貝の外見上識別
腎臓部を取り除き，入鰓静脈を見易くしてある。入鰓静脈の肥大とその乳白化（正常貝では無色透明）が特徴となる。
ev：入鰓静脈，iv：鰓葉間連接静脈



第21図　スポロシストに侵されている組織
1：鰓葉間連接静脈 ×20，2：入鰓静脈 ×20
3：閉殻筋 ×160

トが次第に発育して初夏の頃になると罹病貝の入鰓静脈は肥大し，また乳白色化（正常貝では無色透明）するので，これらの病徴により罹病の有無を識別できるようになる。さらに病状が進んだ罹病貝では，入鰓静脈はさらに肥大し，黄色化するとともにスポロシストの寄生範囲は鰓葉間連接静脈，唇弁，鰓葉血管，外套膜あるいは閉殻筋にまでおよび（第21図），宿生部位，とくに生殖腺は綿くず状に充満したスポロシストのために黄色の網目状にみえるようになり，前述のように「黄貝」，「網卵貝」としての特徴をあらわす。さら

に病状が進むと閉殻筋は縮小し，いわゆる「みず貝」の様相を呈するようになる。

罹病貝は今のところ殆んど利用価値がないので，病害の予防対策のうえからいうと，入鰓静脈の肥大とその乳白色化という病徴を基にして選別を行ない，母貝群から少しでも多く罹病貝を除去することが必要であると考えられる。

第2章　罹病貝の病理変化

2—1　罹病貝の病態生理にみられる変化

罹病貝の病理状態における異変をあらわす指標を見出す目的で，1962年6～7月にはじめて外見上識別ができるようになった罹病貝を選別し，その病状が顕著にみられる12月に次に述べる各項目について測定を行ない，正常貝と比較検討した。

測定結果は取り纏めて第13表に示したが，方法ならびに結果の詳細については順を追って記述する。

第13表　正常貝と罹病貝の病態生理の比較
（1962年12月）

区分＼事項	平均殻長（個体数）	血液PH	血液比重	桿晶体（mg）	軟体部（g）	閉殻筋力（kg）	閉殻筋（g）	貝殻（g）	閉殻筋/貝殻×100（%）	閉殻筋中のグリコーゲン量（mg/g）
罹病貝（n=31）	mm 45 (10)	7.30～7.60 (7.50)	1.018～1.021 (1.019)	12.9～26.3 (19.1)	5.0～9.6 (6.9)	0.20～0.45 (0.33)	0.50～1.50 (0.90)	11.7～16.2 (14.2)	3.09～9.26 (6.38)	n=4 6.48～20.36 (13.27)
	mm 50 (15)	6.95～7.70 (7.34)	1.018～1.021 (1.019)	12.1～31.2 (19.2)	5.5～8.2 (6.9)	0.25～0.50 (0.36)	0.50～1.30 (1.00)	13.5～18.5 (15.8)	3.70～8.13 (6.31)	
	mm 55 (6)	7.25～7.60 (7.39)	1.018～1.021 (1.020)	15.3～32.6 (22.2)	6.1～8.8 (7.5)	0.30～0.60 (0.40)	0.70～1.50 (1.10)	15.0～17.8 (16.6)	4.67～8.77 (6.64)	
正常貝（n=20）	mm 45 (8)	7.30～7.90 (7.57)	1.019～1.022 (1.020)	17.4～30.1 (23.5)	8.0～11.6 (9.3)	0.80～1.50 (1.21)	1.40～2.35 (1.89)	11.1～19.8 (14.4)	9.34～17.15 (13.39)	n=8 21.28～52.07 (35.16)
	mm 50 (9)	7.45～7.80 (7.60)	1.019～1.022 (1.021)	25.1～39.6 (31.7)	8.2～13.7 (11.7)	1.30～1.80 (1.47)	1.80～2.70 (2.22)	14.0～20.1 (16.8)	11.78～16.17 (13.24)	
	mm 55 (3)	7.50～7.60 (7.57)	1.020～1.022 (1.021)	28.9～45.8 (38.3)	12.6～13.9 (13.3)	1.50～2.00 (1.70)	2.50～2.90 (2.76)	19.0～21.5 (19.9)	13.05～14.80 (13.67)	

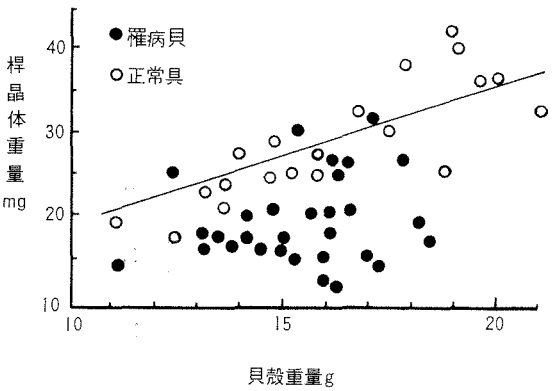
～ 測定値の範囲，（ ）内は平均値

(1) 血液の pH　　注射器を用いて心室から直接，0.1～0.2 cc の血液を採取し，堀場製作所製 pH メータ（Model M-3 型）をもって測定した。電極には微量形ガラス電極（形式1826）ならびにアダプタ形比較電極（形式2410）にピンポール形アダプタ（形式2004）を装着して使用した。

罹病貝と正常貝の血液の pH の平均値はそれぞれ，7.402±0.210 および 7.581±0,174 であり，両者の平均値の差について検定した結果，有意の差が認められた（$F_0=3912.1/389.8=10.03>F^1_{49}(0.01)=7.18$）。すなわち，罹病貝の血液の pH は正常貝に較べて酸性に傾むいているということができよう。

(2) 血液の比重　　あらかじめいろいろの濃度段階に調整した硫酸溶液の液面に，前項のように採血した血液の一滴を滴下し，凝固体血液の浮沈の状態を観察して，それが硫酸銅液中に懸垂，停止したばあいのその溶液の比重をもって血液の比重とした。

罹病貝と正常貝の血液の比重の平均値はそれぞれ1.0194±0.0009および1.0207±0.0011であり，両者の平均値の差について検定した結果，有意の差が認められた（$F_0=1.84/0.94=19.57>F^1_{49}(0.01)=7.18$）。すなわち，罹病貝の血液の比重は正常貝のそれに較べて低下しているといえる。



第22図　貝殻重量と桿晶体重量との関係

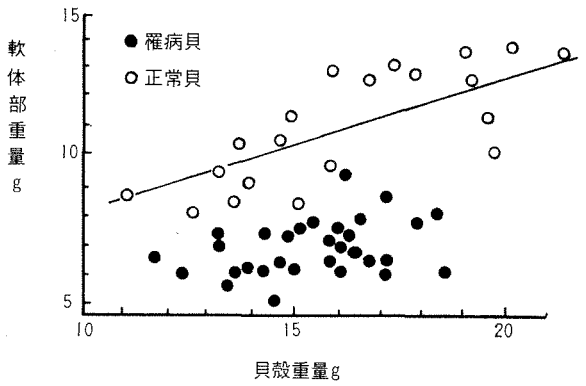
(3) 桿晶体重量　　蓮尾[16]はアコヤガイの生理状態の低下を桿晶体の長さを基準として調べ，また，植本[17]は挿核手術の前処理（仕立て処理）における生理状態の変化を桿晶体の重量をもって判定している。ここでは桿晶体の重量に注目して罹病貝と正常貝の比較を行なった。桿晶体は胃を切開して取り出し，沪紙上で附着している粘液を取り除き，トーションバランスでその重量を秤量した。

罹病貝と正常貝の桿晶体重量の平均値はそれぞれ，19.74±4.90 mg および29.91±7.70 mg で，その相違は明瞭である。両者の平均値の差について検定した結果も有意の差が認められる（$F_0=125490/3726=33.6>F^1_{49}(0.01)=7.18$）。しかし，実験に供したアコヤガイは大きさが不揃いであるため，念のため貝殻重量と桿晶体重量との関係を調べた。貝殻重量を選んだ理由はそれが病理状態におかれていても直接的に影響を受けることが少なく，貝の大小を表わすのに最も安定した指標となると考えたからである。貝殻重量と桿晶体重量の関係は第22図に示すとおりであって，正常貝については両者の関係を $C=1.5759S+4.175$（C：桿晶体重量の推定値，S：貝殻重量）であらわすことができ，その相関はかなり高く，相関係数 $r=0.606$ となった。また，同図をみてもわかるように，罹病貝の桿晶体重量は同じ貝殻重量をもつ正常貝に較べて，全体として低い値を示し，また，そのばらつきもかなり大きい。

(4) 軟体部重量　　アコヤガイの軟体部を貝殻から取りはずし，沪紙上で粘液を取り除き，ただちに秤量した。

罹病貝と正常貝の軟体部重量の平均値はそれぞれ，7.07±1.87 g および10.97±2.12 g であり，両者の平均値の差を検定すると，$F_0=19050/388=49.0>F^1_{40}(0.01)=7.18$ となり，有意の差が認められる。すなわち，罹病貝の軟体部重量は正常貝より小さいといえる。

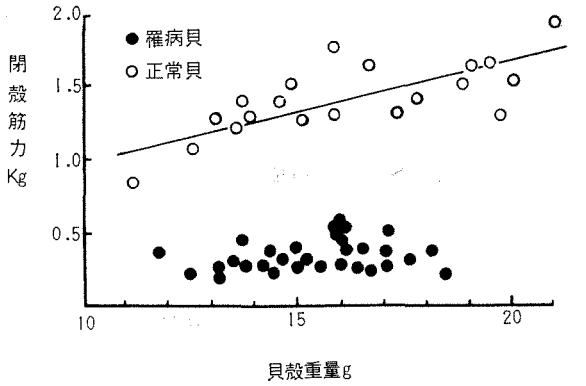
さらに正常貝について，桿晶体重量のばあいと同様に貝殻重量と軟体部重量の相関関係を調べると，$r=0.648$ となる。正常貝について両者の関係には，ほぼ，$D=0.467S+3.347$ (D：軟体部重量の推定値，S：貝殻重量) が適用され(第23図)，罹病貝の軟体部重量は同じ貝殻重量をもつ正常貝のそれに較べて明らかに低い。



第23図　貝殻重量と軟体部重量との関係

(5) 閉殻筋力　　閉殻筋力については植本[17]が作製した抵抗線歪計を応用した閉殻筋力測定器を使用して測定を行なった。

罹病貝と正常貝の閉殻筋力の平均値はそれぞれ，0.36±0.10 kg および1.40±0.26 kg であり，明瞭な差が認められる。両者の平均値の差について検定を行なった結果も，$F_0=131979/331=397>F^1_{40}(0.01)=7.18$ となり，有意の差が認められる。すなわち，罹病貝の閉殻筋力は正常貝よりも小さいといえる。さらに，正常貝について貝殻重量と閉殻筋力の関係には，$P=0.0569S+0.4716$ (P：閉殻筋力の推定値，S：貝殻重量) をあてはめることができ，その相関係数は $r=0.641$ となった(第24図)。このばあいにも，罹病貝の閉殻筋力は正常貝のそれよりもかなり低いことが明らかである。



第24図　貝殻重量と閉殻筋力との関係

(6) 閉殻筋中のグリコーゲン含有量　　足利[18]はアコヤガイの産卵などにともなう生理状態の低下は閉殻筋中のグリコーゲンの消耗に顕著に現われ，それとともに閉殻筋重量の減少が目立つと述べている。

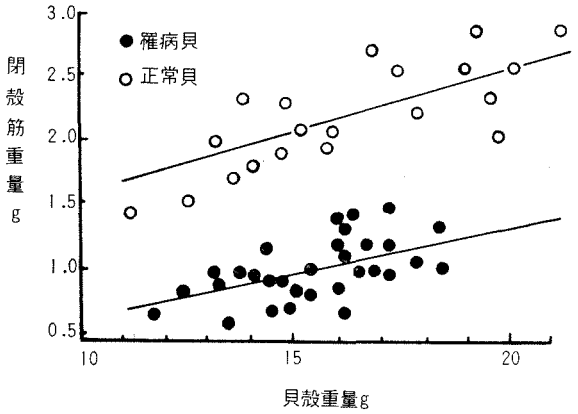
罹病貝と正常貝について，閉殻筋中のグリコーゲン量を Pfüger 氏法によって調べた結果は次のようになった。閉殻筋生1 g 当りのグリコーゲン含有量を求めてその平均値を示すとそれぞれ，14.06±4.33 mg および35.16±10.93 mg となり，両者の平均値の差を検

定（t-検定）すると，$|x_A-x_B|/w=21.097/4.197=5.027>t_{(0.01)}=3.531$ となり，有意の差が認められる。すなわち，罹病貝の閉殻筋におけるg当りのグリコーゲン含有量は正常貝に較べて少ないということができる。

(7) 閉殻筋重量　　前記のように軟体部重量を秤量した後，ただちに閉殻筋を取りはずして秤量した。

罹病貝と正常貝の閉殻筋重量の平均値はそれぞれ，0.99±0.26gおよび2.17±0.42gであり，両者の平均値の差を検定すると，$F_0=169622/1091=155.4>F^1_{49}(0.01)=7.18$ となり，有意の差が認められる。すなわち，罹病貝の閉殻筋重量は正常貝に較べて小さいといえる。

また，正常貝と罹病貝についての貝殻重量と閉殻筋重量の関係は第25図に示したとおりであり，正常貝についてはその相関関係に $M=0.1022S+0.5001$（M：閉殻筋重量の推定値，S：貝殻重量）を当てはめることができる。その相関係数は $r=0.724$ である。



第25図　貝殻重量と閉殻筋重量との関係

罹病貝については，$M'=0.0624S'-0.0240$（M'：閉殻筋重量の推定値，S'：貝殻重量）を当てはめることができ，その相関係数は $r=0.404$ であり，危険率5%以下において相関が認められる。

2—2　罹病貝の病態生理の周年変化

前項にて罹病貝の病状をあらわす諸形質を明らかにしたが，ここではそれらのうちで，計測が容易で多数個体を取り扱う際に便利である閉殻筋重量をもって，罹病貝の病態生理の周年変化を調べた。また，貝の増重量も測定して前者と比較検討した。

(1) 閉殻筋重量/貝殻重量×100（w）にみられる周年変化　　1962年6月にはじめて外見上識別ができるようになった罹病貝を選別し，同年12月まではそのまま養殖しておき，翌63年1月から1か年間にわたって毎月wを測定（この群をAとし，前年識別罹病貝*と呼ぶ），さらに1963年6月上旬にやはり，はじめて外見上識別ができるようになった罹病貝を選別して，この群はその年の12月まで毎月wを測定し（この群をBとし，当年識別罹病貝*と呼ぶ），これら感染後の経過年数の異なる病貝について，その病態生理の周年変化を追跡した。なお，正常貝としては，英虞湾多徳島地先で養殖した同じ年齢の貝を用いた。

罹病貝（AおよびB）と正常貝についてのwの周年変化を第14表および第26図に示した。

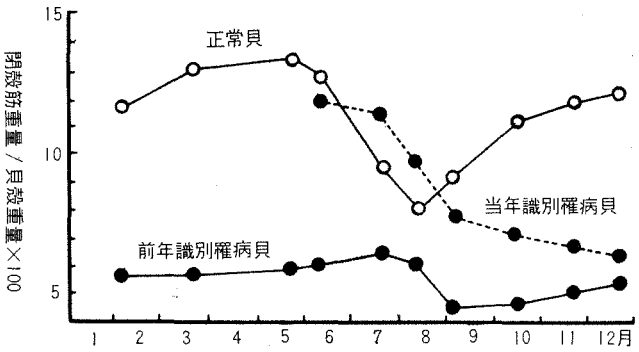
---

* 第1幼生のアコヤガイへの侵入は主として秋季に行なわれるが，これらが外見上識別できるようになるのは翌年の初夏である。したがって，罹病後の年数でいうと，Aは罹病後2年目，Bは罹病翌年のものに当る。

第14表　正常貝と罹病貝にみられる閉殻筋重量/貝殻重量×100の周年変化（養殖3～4年貝）

区分 / 月日	当年識別罹病貝		前年識別罹病貝		正常貝	
	供試数	平均±標準偏差	供試数	平均±標準偏差	供試数	平均±標準偏差
'62 12—10	—	—	31	6.40±1.52	20	13.37±1.76
'63 2— 7	—	—	10	5.90±1.07	10	11.53±1.55
'63 3—22	—	—	10	5.74±1.70	16	13.07±2.30
'63 5—29	—	—	10	6.38±1.60	10	13.59±1.72
'63 6— 8	14	11.74±0.90	13	0.34±1.27	10	12.72±1.08
'63 7—18	9	11.42±1.81	17	6.72±1.14	20	9.57±1.02
'63 8—12	13	9.90±0.69	13	6.18±1.46	15	7.95±0.98
'63 9— 5	7	7.93±1.18	12	4.62±1.42	19	9.28±1.35
'63 10—16	9	7.20±0.20	13	4.74±1.11	12	11.23±1.13
'63 11—22	10	7.14±0.45	16	5.34±0.82	17	11.95±1.60
'63 12—19	10	6.19±0.82	11	5.60±0.73	15	12.13±1.07

これによれば，wの動向は正常貝では6月以降低下して8月には8%となり，9月以降再び上昇して12月から翌年の6月頃まではほぼ12～14%の値をとる。



第26図　正常貝と罹病貝にみられる病態生理の周年変化

これに対して当年識別罹病貝(B)では，wはその年の6月には未だ正常貝とほぼ同じ12%の値を示しているが，8～9月になると急激に低下して8%となり，その値は9月以降もとに回復することなく徐々に低下を続ける。また，前年識別罹病貝(A)のそれは周年を通じて著しく低く，高い時期でも7%を超えることはなく，やはり8～9月にはさらに一層の低下がみられる。このように罹病貝ではwの値の低下は正常貝よりも約1か月前後遅れ，9月になってはじめて急激にその低下が認められる。この点に関しては今後さらに充分な検討が必要であるが，一応，次のような理由が考えられる。すなわち，正常貝では7月になると産卵による影響が生理状態の低下として現われるのに対して罹病貝では精卵巣が侵されていてその発育がみられないので産卵とは関係なく，8～9月以降のセルカリアの増殖・成熟の最盛期になってはじめてその影響があらわれるということである。

(2)　貝の増重にみられる周年変化　　Havinga[19]はカキについて，その重量を海水中で測定する方法（水中重量と呼んでいる）を試み，さらに西飯[20]はこの方法をアコヤガイに応用し，それが同一試料を継続的に追跡でき，また，貝殻増重量のきわめて正確な代表

値を得る便宜があることを報告している。

1965年7月に和歌山県産養殖3年貝から当年識別罹病貝30個，正常貝30個を選別して，各個体に記号をつけ，同一試料について継続的にその海水中における重量を測定した。

実験期間中の斃死数は第15表に示したとおりで，罹病貝は8月～10月にかけて斃死したものが多く，約5か月間で，正常貝で6.6％の斃死率を示したのに対して罹病貝では30.0％にも達した。

第15表　実験期間（7月12日～12月21日）における正常貝と罹病貝の斃死数ならびに斃死率

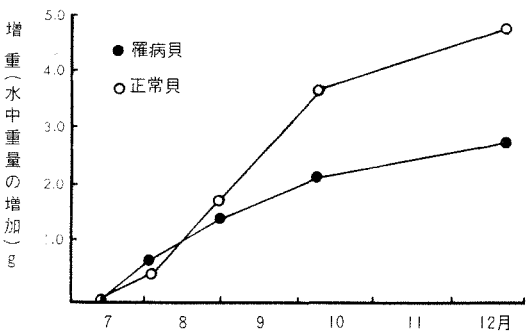
区分＼事項	供試貝数	7—12～8—2	8—2～8—30	8—30～10—6	10—6～12—21	計
罹病貝	30	0	3	4	2	9(30.0%)
正常貝	30	0	1	0	1	2(6.6%)

第16表　罹病貝と正常貝の増重量ならびに増重率の比較

区分	試験開始時(7月12日)の水中重量 平均 ±標準偏差		8月2日	8月30日	10月6日	12月21日
罹病貝 n=21	g 8.68±0.90	増重量 g	0.74±0.25	1.59±0.37	2.25±0.81*	2.85±1.09**
		増重率	0.085	0.183	0.259	0.328
正常貝 n=28	g 7.29±1.34	増重量 g	0.66±0.33	1.78±0.50	3.71±0.79*	4.83±1.00**
		増重率	0.091	0.244	0.509	0.663

*，**……同一の記号間において有意の差が認められた。

また，実験開始時(7月12日)の大きさを基準として，その後の水中における増重量および増重率を示すと第16表および第27図のとおりである（実験期間中に斃死したものはすべて除いた)。すなわち，罹病貝と正常貝の増重差は9月以降に急激に増加している。この点は罹病貝の病態生理にみられる低下と規を一にし，また，斃死個体の出現量とも相応している。



第27図　正常貝と罹病貝の増重量の比較

第3章　罹病貝から産出される真珠の品質

英虞湾内・浜島産養殖3年貝を使用し，同一の仕立て処理を行なったものから罹病貝（前年識別罹病貝）を選別した後，罹病貝100個および正常貝100個にはそれぞれ正常貝から採取したヒースを，また，他の正常貝100個に対して罹病貝から採取したヒースを使用して「ふくろ」に直径5.30±0.05 mm，「うかし」には5.00±0.05 mmの核をそれぞれ

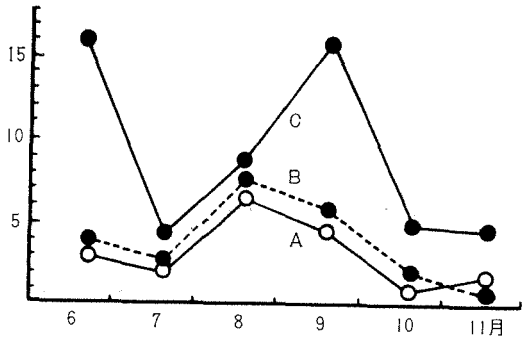
2個ずつ挿入した。挿核手術は1962年6月4日に行ない，16日間の養生期間を経て6月20日に「沖出し」をし，多徳島地先の養殖場で養成し，同年11月22日に真珠の取り揚げを行ない，各群の斃死率および産出された真珠の品質について比較検討した。

第17表　正常貝および罹病貝に挿核したばあいの斃死率の比較
（期間は1962年6月4日（挿核）から同年11月22日（取り揚げ）までの約6カ月間）

事項／区分	供試貝数	斃死数		生存数	斃死率
		沖出しまで	取揚げまで		
A	100	3	17	80	20.0%
B	100	4	19	77	23.0
C	100	16	39	45	55.0

A：正常の母貝に正常貝からとつたピースを使用したもの（対照）
B：正常の母貝に罹病貝からとつたピースを使用したもの
C：罹病貝の母貝に正常貝からとつたピースを使用したもの

手術後の養生期間中および養成期間中における各月の斃死状態は第17表および第28図に示したとおりで，全期間についての斃死率の差を検定すると，$F_0=33.69/2=16.85>F^2_\infty(0.01)=2.99$となり，有意の差が認められる。さらに2群ずつの組合せを作って検定すると，A＝P＜C（第17表参照）となり，罹病貝を母貝として使用したもの(C)が他の2群よりも斃死率が高いということになる。また，養成期間中の各月の斃死率の差について検定すると，罹病貝を母貝としたもの(C)は手術直後と9月の斃死率において，他の2群との間に有意の差が認められる。正常の母貝に罹病貝からとったピースを使用したもの(B)は対照(A)との間に差は認められない。



第28図　挿核手術後の各群の月別斃死率
（A, B, Cの区分は第17表に同じ，以下同様）

つぎに，前記の(A)，(B)および(C)の各群について，得られた真珠を「きず」の点からみて比較した結果を示すと第18表のとおりになる。このうち，これを商品価値のうえからみて，きずの程度によって「小きず珠」以上の上珠と「大きず珠」以下の不良珠（しら珠は除く）に分けて，それらの出現率をまとめると第19表のようになる。それぞれの出現率の差について検定すると，「ふくろ」$F_0=7.45/2=3.73>F^2_\infty(0.01)=2.99$，「うかし」$F_0=7.90/2=3.95>F^2_\infty(0.01)=2.99$ となり，有意の差が認められる。つぎに(C)を除いて検定すると，「ふくろ」$F_0=0.47/1=0.47<F^1_\infty(0.05)=3.84$，「うかし」$F_0=0.25/1=0.25<F^1_\infty(0.05)=3.84$ となり，有意の差は認められない。すなわち，「ふくろ」および

第18表　正常貝および罹病貝から産出された真珠の品質の比較（きずの状態）

挿核部位	区分	無きず珠	小きず珠	大きず珠	くず珠	しら珠	取り揚げた真珠の総数	生存貝数に対する真珠の歩留
ふくろ	A	20(31.7%)	18(28.6)	18(28.6)	2(3.2)	5(7.9)	63(100)	78.8%
	B	17(27.6)	15(24.6)	18(29.5)	4(6.6)	7(11.5)	61(100)	79.2
	C	3(12.5)	4(16.7)	6(25.0)	9(37.5)	2(8.3)	24(100)	53.3
ふくろ	A	16(28.1%)	18(31.6)	9(15.8)	3(5.3)	11(19.3)	57(100)	71.3%
	B	13(25.5)	15(29.4)	10(19.6)	3(5.9)	10(19.6)	51(100)	66.2
	C	1(5.6)	3(16.7)	6(33.3)	5(27.8)	3(16.6)	18(100)	40.0

第19表　正常貝および罹病貝から産出された真珠品質の比較
（きずの程度による商品価値のうえから）

挿核部位	区　分	上　　珠 (小きず珠以上)	不　良　珠 (大きず珠以下)
ふくろ	A	38 (65.5%)	20 (34.5%)
	B	32 (59.3)	22 (40.7)
	C	7 (31.8)	15 (68.2)
うかし	A	34 (59.6%)	23 (40.4%)
	B	28 (54.9)	23 (45.1)
	C	4 (22.2)	14 (77.8)

「うかし」ともに，正常の母貝に罹病貝からとったピースを使用したもの(B)は対照群(A)との間に有意の差は認められないが，罹病貝を母貝として正常貝からとったピースを使用したもの(C)は対照群(A)との間に有意の差が認められ，対照群よりも不良珠が多く出現するということになる。

なお，「巻き」について比較するために「小きず珠」以上の上珠について「厚巻き珠」(ふくろでは 5.70 mm 以上，うかしでは 5.50 mm 以上のもの)と「薄巻き珠」(厚巻き珠

第20表　正常貝および罹病貝から産出された真珠品質の比較
（小きず珠以上のものについての巻きの状態）

挿核部位	区　分	厚　巻　き　珠	薄　巻　き　珠
ふくろ	A	28 (73.3%)	10 (26.3%)
	B	8 (25.0)	24 (75.0)
	C	2 (28.6)	5 (71.4)
うかし	A	21 (61.8%)	13 (38.2%)
	B	9 (32.1)	19 (67.9)
	C	1 (25.0)	3 (75.0)

「ふくろ」：厚巻き珠≧5.70mm＞薄巻き珠
「うかし」：厚巻き珠≧5.50mm＞薄巻き珠

としての巻きに達しないもの）にわけて，それらの出現率を示すと第20表のとおりになる。このばあいにも，それぞれの出現率の差について検定すると，「ふくろ」 $F_0=62.37/2=31.19>F^2_\infty(0.01)=2.99$,「うかし」$F_0=6.23/2=3.12>F^2_\infty(0.01)=2.99$ となり，有意の差が認められる。しかし，（A）を除いて検定すると，「ふくろ」 $F_0=0.06/1=0.06<F^1_\infty(0.05)=3.84$，「うかし」$F_0=0.08/1=0.08<F^1_\infty(0.05)=3.84$ となり，有意の差は認められない。すなわち，罹病貝を母貝あるいはピース貝として使用したもの（CあるいはB）は，いずれも対照群（A）との間に有意の差が認められ，対照群よりも「巻き」が薄いことがわかる。

第4章　被害の実態

本吸虫による被害の多くは比較的暖海域に位置している養殖場に発生している。その被害の程度を把握することは現状では困難であるが，つぎに2，3の事例を挙げよう。

1962年12月に真珠研究所大村支所は「真珠貝の寄生虫の調査について」のアンケートを長崎県下の真珠養殖業者に提示し，そのうち本吸虫による病害を取り纏めて第21表を得た。これによれば，同一県産の養殖貝であっても，その罹病率には大きな変動があることがわかる。

第21表　産地別による罹病率の概略
（真珠研究所大村支所調査）

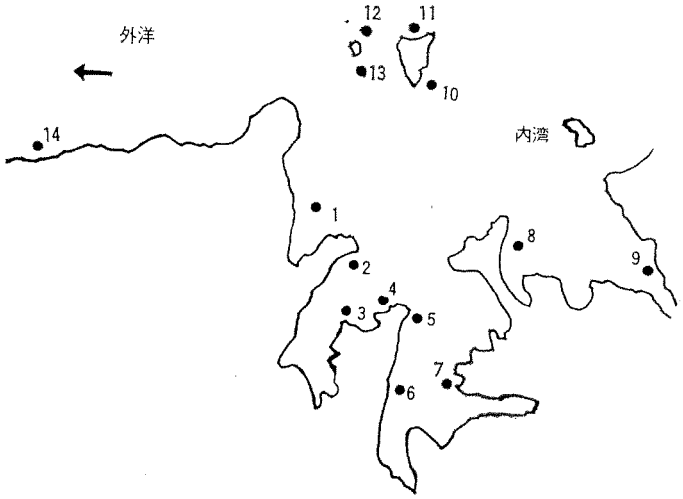
購入月日	調査月日	購入時の年令	罹病率の概略	産地区分
'60　5	'61　7	3年貝	2　%	大　分
'60　4—3	'61　6—4	3	35	
'61　6—3	'61　7—3	3	10～20	
'60　5—2	'61　8—3	2	5	
'61　4—4	'61　7—4	4	20	愛　媛
'61　5—3	'61　6—3	3	15	
'61　4—4	'61　8—4	4	40	和歌山
'61 10—3	'61 10—3	3	15	

難波[21]が田辺湾内11地点における天然貝（重量巾17～105 g）について，採集したもののうち1地点50個を調査したところでは14～44%の寄生率を示し（1965，7月23日～8月20日），養殖母貝（平均重量巾 32.4～45.5 g，調査貝44～99個）では，その寄生率は 8.6～47.4%であった（1965，10月7日）。

阪口・石原[22]が田辺湾奥部の白浜地先において（第29図参照），養殖母貝を無作為に抽出し，また，養殖筏附近の海底に棲息する天然貝を採集してそのうちから23～30 g級（この重量の天然貝が養殖3年貝に相当するとして対比させた）の重量のものを選別して，それらの罹病率を調査して第22表を得た。これからわかるように同一湾内の近接海区でも，浦奥部で潮通しが悪いと考えられる地点ほど養殖母貝および天然貝の区別なく罹病貝の出

現率が高く，湾口部へ出るにしたがって罹病率が低くなっていることが明確に認められる。

なお，田辺湾奥部に位置する養殖場において，挿核手術時に罹病貝として放棄した1か年間のアコヤガイの数量が準備貝537×10^3個に対して115×10^3貝，すなわち罹病率が21%以上に達した例があった(第23表)。実際には挿核手術に至るまでの



第29図　田辺湾・白浜地先における養殖母貝および天然貝の採集地点

第22表　田辺湾・白浜地区における養殖母貝および天然貝の罹病率

区分＼事項	地点	貝の大きさ	調査貝数	罹病貝数	罹病率	調査月日
養殖母貝	1	2年貝	54	3	5.6%	'63　10－23
	2	3	65	8	12.3	
	5	3	72	11	18.0	
	6	2	30	2	6.7	
		3	60	19	31.7	
	7	3	50	15	30.0	
	8	3	60	7	11.7	
	9	3	180	42	23.9	'65　6—5
天然棲息貝	1	23～30g 級	99	23	23.2	'64　7—7 ～'64　8—6
	2	〃	80	20	25.0	
	3	〃	18	5	27.7	
	4	〃	39	10	25.6	
	10	〃	40	4	10.0	
	11	〃	35	2	5.7	
	12	〃	168	14	8.3	
	13	〃	104	2	1.9	
	14	〃	13	0	0	

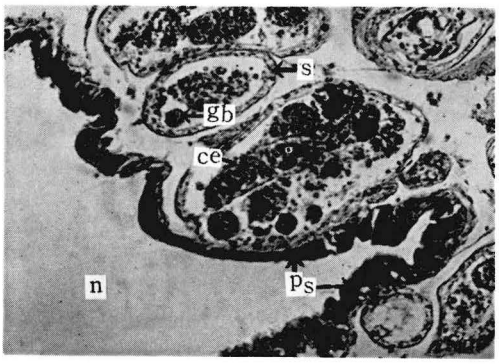
母貝の選別や仕立て処理の段階でも罹病貝と思われるものは放棄されているので，罹病貝はさらに上記の数値を上廻わっていたと思われる。

第23表　挿核手術時に放棄した罹病貝
（田辺湾内K-養殖場の資料による。
1964年4月～12月までの9カ月間の総計）

使用母貝年令	準備母貝総数	罹病貝数	罹　病　率
5年貝	30376	7587	25.0%
4年貝	320967	72204	22.5
3年貝	185739	34921	18.8
Total	537082	114712	21.4%

第5章　考　　察

罹病貝の病状は夏～秋季にかけて急激に低下することが明らかになったが，この現象が虫体の毒素分泌作用によるものかどうかをみるために，罹病貝の生殖腺からセルカリアを内臓するスポロシスト組織を切りとり，乳鉢ですりつぶし，生理的食塩水1ccに0.5gの割に混合した懸濁液を作って，これを養殖3年貝1個体当り0.1～0.3ccを閉殻筋あるいは生殖腺に接種した。しかし，全く異常が認められなかったことから，セルカリアは宿主体内では貝に対する有毒物質を生成していることはないと思われる。罹病貝を侵しているスポロシスト組織は総軟体部（閉殻筋は除くの23.7±4.4%（11月，n=12）を占めていること，また，罹病貝の病状の進行はアコヤガイ体内におけるセルカリアの分裂，成熟の時期と一致していることなどから考えると，罹病貝が9月以降に著しく衰弱するのは虫体の分裂，成熟にともなって栄養を摂取されるためのように考えられる。



第30図　罹病貝に形成された円柱上皮からなる真珠袋
ツエンカー液固定，エールリッヒヘマトキシリン—エオジン染色
ce：セルカリア，gb：胚球，n：真珠核
ps：円柱上皮からなる真珠袋，S：スポロシスト

また，第26図にみられるように前年識別罹病貝の病状は年間を通じてきわめて低下しており，当年識別罹病貝も翌年にはこのような状態に移行するわけであるから，これらを母貝として使用すると斃死率が著しく高くなることは当然の結果といえる。

なお，罹病貝に形成される真珠袋は第30図にみられるような円柱上皮からなっているものが多く，これは有機質を分泌する真珠袋上皮の形であることから[23]，有機質真珠やきず珠が多く形成されるものと考えられる。さらに薄巻き珠の出現率の高いことも明らかなので，罹病貝は母貝としては全く利用価値はないものと考えるべきであろう。なお，罹病貝の外套膜縁をピースとして使用したばあいには斃死率やきず珠の出現率のうえでは正常貝と大差はな

いが，薄巻き珠の出現率が高いので無理に使用するより放棄した方が結局は得策となるであろう。

本吸虫によって病害が生じたばあいの事業が受ける得失はこれら罹病貝の放棄のみに留まらず，挿核時における罹病貝の選別に費やす時間的労費（手術数量でみると正常の20～30%減に相当する），さらに罹病貝の養殖管理に要した無駄な経費などを考慮すると予想外の多額になると考えられる。

このような被害の発生は，第1中間宿主内におけるセルカリアの発育が時期的に早い暖海域に位置する養殖場に多くみられ，また，その発生はとくに本吸虫の最終宿主である *Caranx* 属の魚種の棲息分布と深いつながりがあると考えられる。

摘　要

本篇では本吸虫のアコヤガイにおよぼす影響を明らかにし，真珠養殖事業におよぼす被害の実態やそのとり扱いなどについての知見を得ることを目的として行なわれた。

1)　第1幼生のアコヤガイへの侵入は主として秋季に行なわるが，感染初期の罹病貝については外見上の識別が困難であり，生殖腺から注射器で組織の一部をとり出してスポロシストの有無を検鏡識別するほかはない。しかし，スポロシストが次第に発育して初夏の頃になると罹病貝の入鰓静脈は肥大し，また乳白色化（正常のものは無色透明）するので，これらの病徴により罹病の有無を識別し得るようになる。さらに病状の進んだ罹病貝は綿くず状に充満したスポロシストのために寄生部位が黄色の網目状にみえるようになる。

2)　罹病貝の病状が顕著にみられる12月に血液の pH および比重，桿晶体重量，軟体部重量，閉殻筋力，閉殻筋中のグリコーゲン含有量，閉殻筋重量などの各項目について測定し，正常貝と比較検討した結果，いずれの点についても両者の間には有意の差が認められた。さらに，貝殻重量に対する閉殻筋重量の比率(w)についてその周年変化を調べて次の諸点が明らかになった。すなわち，上記のwは正常貝では6月以降低下して8月には8%となり，9月以降再び上昇して12月から翌年の6月頃まではほぼ12～14%の値をとる。これに対して初夏にはじめて外見上識別し得るようになった罹病貝では，wはその年の6月には未だ正常貝とほぼ同じ12%の値を示しているが，8～9月になると急激に低下して8%となり，その値は9月以降もとに回復することなく徐々に低下を続ける。また，前年の初夏にはじめて外見上識別し得た罹病貝についてはその翌年のwの値は周年を通じて著しく低く，高い時期でも7%を超えることはなく，やはり8～9月にはさらに一層の低下がみられる。上記の比率が急激な低下を示す時期は罹病貝の体内におけるセルカリアの成熟，泳出の盛期とほぼ一致する。

3)　罹病貝を母貝として挿核手術を行なうと手術後の斃死率はきわめて高い。実験によると正常貝で斃死率が20%のばあいに，罹病貝ではそれが55%にも達した。産出される真珠についても罹病貝を母貝としたばあいにはきずの多い「きず珠」の出現率が高く，正常貝の35%に対して68%に達し，さらに真珠層の巻きの薄い「薄巻き珠」の出現率も正常貝の26%に対して罹病貝では71%にも達した。なお，罹病貝の外套膜縁をピースとして使用したばあいにも「薄巻き珠」の出現率がきわめて高い。

4) 本吸虫による被害の程度を知る具体的事例は乏しいが，挿核手術時に罹病貝として放棄した1か年間のアコヤガイの数量が準備貝537×10^3貝に対して115×10^3貝，すなわち罹病率が21%以上に達した例があった。実際には挿核手術に至るまでの母貝の選別や仕立て処理の段階でも罹病貝と思われるものは放棄されているので，罹病貝はさらに上記の数値を上廻っていたと思われる。

Studies on the life-history of the trematode parasitic in pearl oyster, *Pinctada fucata*, and on the hindrance for pearl culture.

Summary

The results obtained from the present studies are summarized as follows:

I. The life-history of the trematoda, *Bucephalus varicus*.

(I) The biology of the sporocyst and cercaria in the first intermediate host, the pearl oyster.

1) The very young sporocysts are spherical and 20-30 μ in diameter. They grow into a cylindrical bodies with one or more branches, in which spherical germ-cell arise and each of which develops by nucleare division into a germ-ball measuring of 22 μ in diameter. Soon after, the germ-ball begins to elongate when it has reached to 50-60 μ long, a pair of rudimental tails becomes discernible at the posterior end of its body. When the larval cercaria comes up to about 80 μ in length, a pharynx and rhynchus are formed, viz.—the former on posterio-ventral suface of the mid-body, and the later at the anterior extremity of the body. When it is about 100 μ in length, the excretory vesicle can be seen.

Thus, reaching to about 180 μ in length, it is completed in morphogenesis.

2) In the Ago Bay situated north of Kisyu province, the germ-balls in mature sporocyst which are found in the pearl oyster in July becomes young cercariae in August. From September to November the youngs grow larger and soon leave the host. However, the sporocysts remain in the body of pearl oyster as they are and pass the winter, and the formation of cercariae begins with the rise of water temperature in the following year.

While in the southern warmer regions, the formation of cercariae in the sporocyst begins 1 or 2 months early according to earlier rise of water temperature.

3) The living cercaria which emerged from the first intermediate host is elongate and is cover with minute scales.

The body is 163-273 μ in length and 45-60 μ in breadth in fixed specimens.

Mouth is situated on the posterio-ventral surface of the midbody and it is communicating with a simple sac-like intestine. The excretory vesicle extends from

near the posterior end of the body to about the middle level of the pharynx. The rhynchus formed by a mass of gland cells is terminating to four lips, each with a pointed tip.

4) Within the temperatures of 10-30°C, the young cercaria in the sporocyst parasitizing in pearl oyster is fast in growth at higher temperature.

The cercaria which emerged from the host into the water keeps on an uninterrupted movement, ascending or decending by the extension and contraction of the tails.

The life of free cercariae in water are about 3 days at 25°C, but they are having the power to penetrate into the second intermediate host within 24 hours, of course, the power is strong just after emergence.

(II) The biology of the metacercaria obtained from the second intermediate host.

1) Several species of fish expected to be the second intermediate host of this trematoda were tested to infect with the cercariae obtained from pearl oyster. The metacercariae were obtained successfully from the fishes experimented.

The metacercaria forcibly induced from the cyst is elongate and coverd with minute spines. The body is 230-312 μ in length and 84-140 μ in breadth in fixed specimens.

2) The morphology of the metacercaria were observed carefully and compared with other species belonging to the genus *Bucephalus*.

The morpholgical observation proved that the metacercaria is resembling to *Bucephalus varicus Manter*, 1940.

3) The naturally infected metacercariae were found in the fins and muscular tissue of the small fishes, *Atherina bleekeri*, *Spratelloides japonicus* and *Engraulis japonica*, collected in pearl farms, where the pearl oysters infected with the cercaria were prevalent.

The infection rate with this metacercaria in *Atherina bleekeri*, is related to the maturing and emerging season of the cercaria in the first intermediate host.

(III) The biology of trematoda (adult form) on the final host.

1) Many kinds of fish living in pearl oyster farm, where the pearl oysters heavily infected with the cercaria are found, were collected and examined in order to determine the final host of this trematoda belonging to the genus *Bucephlus*.

A species of trematoda was found in the digestive organs of *Caranx sexfasciatus* and *C. ignobilis*, and the species was identifed with *Bucephalus varicus Manter* 1940.

The species bears characteristics of the metacercaria which could be found in the body of some other small fishes or in the artificially infected fishes with the cercaria.

The trematoda was frequently found in the carangid fish caught in pearl oyster farms, where the cercaria infection among pearl oysters are severe, while the trematoda was not found always in the fish obtained from the farms free from the cercaria infection.

The infection season in which carangid fish heavily infect with this trematoda is closely related to the maturing season of the cercariae, especially to the time when they are leaving the pearl oyster.

2) Expecting the carangid fishes, *Caranx sexfasciatus* and *C. equula,* to be the final host of this trematoda, they were fed with the encysted metacercariae grown up in the body of *Rudarius ercodes,* by artificial infection with the cercaria parasitic in the pearl oyster.

The adult flukes developed from the metacercariae were obtained from the experimented fishes.

The metacercariae emerge from their cysts in the stomach of the fish, then they migrate to the intestine and 7 days after, most of them are found in the intestine. The juvenile flukes live in the intestine during some periods, after that, they migrate into the pyloric caecum and within 2-3 weeks after infection, they become adult form and reach $1925 \pm 117\ \mu$ (n=22) in average length.

The fluke obtained from the artificial infection was identified with *Bucephalus varicus Manter.*

II. The specific name of this trematoda.

Judging from the above-mentioned results, it is clear that the cercaria parasitic in the pearl oyster, which has been described as *Bucephalus margaritae Ozaki* et *Ishibashi,* is young form *B. varicus* and the carangid fishes, *Caranx sexfasciatus, C. equula* and *C. ignobilis* to be the final hosts of this cercaria.

III. Injuries caused by the trematoda.

1) Discrimination of the infected pearl oyster.

Although advanced stages of infection are easily recognized by the yellow network of trematode sporocysts which are occuring in the most of the organs of pearl oyster, but the early stages of infection can be distinguished from uninfected pearl oyster only by the detection of the presence of young sporocysts in the tissue with microscopy. Those young sporocysts grow larger and become to penetrat all tissues of the pearl oyster. In such stages, the infected pearl oysters are distinguished from the uninfected by the findings of the efferrent branchial veins which in the uninfected are colorless and transparent, but in the infected are corpulent and light yellow.

2) Physiological conditions of the infected pearl oyster.

The physiological conditions of pearl oysters as measued by the ratio of adductor muscle weight to shell weight showed wide annual changes, the ratio decreasing remarkably during the period of September to October when the cercariae mature and leave them.

3) Qualities of the pearls produced by infected pearl oyster.

The pearl oyster suffering the advanced stages of infection showed a high mortarity after operation when they are used as mother-shells.

The pearls of low qualities such as 'kizudama" (spotted pearls), "usumakidama" (pearl with thin pearl layers) are produced in high ratio in those oysters. In addition, they are useless for the so-called "piece-shell", because "usumakidama" are produced frequently when their mantle pieces are transplanted.

In view of these respects, it is considered that the infected pearl oysters should not be used as mother-shell as well as piece-shell.

The pearl oysters infected during the autumn of the preceding years do not show any decreases of their activities before summer. Therefore it seems to be a possibility that they can be used successfully as piece-shell until summer.

文　　献

1) 妹尾秀実 1932. 真珠貝及びイタボガキに寄生せるセルカリアに就いて(予報), 日水誌. 1. 62.
2) Ozaki, Y, & Ishibashi, C. 1934. Notes on the Cercaria of the Pearl oyster, Proc. Imp. Acad. Sci., 10(7), 439-441.
3) 山口正男 1947. 田辺湾の真珠貝における病貝(黄貝)の出現率について, 医学と生物学, 11, 395.
4) 小竹子之助 1963. アコヤガイの養殖真珠に関する研究VI. 徳島水試事報, 62-64.
5) 阪口清次 1962. アコヤガイに寄生する吸虫に関する研究I. セルカリアの被嚢形成, 国立真珠研報, 8, 1060—1063.
6) ———— 1964. 同上II. 第1中間宿主としてのアコヤガイにおよぼす影響, 同上, 9, 1161—1169.
7) ———— 1966. 同上III. 第2中間宿主から人工感染によつて得たメタセルカリア, 日水誌, 32(4), 312—315.
8) ———— 1966. 同上IV. 2種の *Caranx* から見出した *Bucephalus* 属の吸虫について, 同上, 32(4), 316—321.
9) ———— 1965. 同上V. 第1中間宿主におけるアルカリアの発育とその経過, 国立真珠研報 10, 1244—1253.
10) ———— 1967. 同上VI. メタセルカリアの最終宿主への人工感染実験, 同上, 12, 1445—1454.
11) Tennent, D. H. 1906. A study of the Life-history of the *Bucephalus haimeanus*, a parasite of the Oyster, Quart. Jaurn. Micr. sci., 49, 635-690.
12) Manter, H. W. 1940. Digenetic trematodes of fishes from Galapagos Island, Allan. Hancock Pacif. Exped., 2(14), 335-337.
13) Yamaguti, S. 1942. Studies on the Helminth Fauna of Japan, Part 39 Trematodes of Fishes mainly from Naha. Trans. Biogeogr. soci Japan, 3, 330-331.
14) 尾崎弘行 1960. 腹口類吸虫の Cerearia の二新種に就いて, 広島大学医学部解剖学第一講座業績集, 10, 77-84.
15) Dawes, B. 1956. The Trematoda, Univ, Press. Cambridge, London, 190-193,

16) 蓮尾真澄 1959. 「卵抜き」とアコヤガイの疲弊について，真珠研究会会報，3(9)，10-13.
17) 植本東彦 1961. アコヤガイの挿核手術に関する生理学的研究Ⅰ-Ⅲ. 国立真珠研報, 6，619-635.
18) 足利千枝 1949. アコヤガイの生化学的研究(第3報)，農化，23(2)，65-68.
19) Hvinga, B. 1928. The daily rate of growth of oyster during summer. Jour. du Cons., 3(1), 231-245.
20) 西飯保 1965. アコヤガイの成長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, 10，1246-1282.
21) 難波武雄 1966. 真珠貝の寄生虫（セルカリア）について，和歌山県水産試験場調査研究報告 15, 1-11.
22) 阪口清次，石原幸彦 1965. 田辺湾白浜地先におけるアコヤガイの *Bucephalus* 属の吸虫による罹病率について，未発表
23) 中原晧，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.

附表　1.　セルカリアの水温，比重および経過時間と正常個体出現率との関係

水温	経過時間 / 事項 / 比重 σ_{15}	3時間				6				12				16			
		調査数	正常個体 個数	正常個体率*	斃死率** %	調査数	正常個体 個数	正常個体率*	斃死率** %	調査数	正常個体 個数	正常個体率*	斃死率** %	調査数	正常個体 個数	正常個体率*	斃死率** %
30°C	5	17	6	35.3%	0	17	5	29.4%	0	15	0	0%	0	16	0	0%	0
	10	21	11	52.4	0	21	8	38.1	0	15	4	26.6	0	15	0	0	0
	15	42	38	90.5	0	31	23	74.2	0	15	8	53.3	0	15	0	0	0
	20	40	40	100	0	15	15	100	0	15	15	100	0	10	10	100	0
	25	45	45	100	0	30	30	100	0	15	15	100	0	10	10	100	0
25°C	5	25	5	20.0	0	17	3	17.6	0	15	1	6.7	0	10	0	0	0
	10	31	12	38.8	0	18	6	33.3	0	15	5	33.3	0	10	2	20.0	0
	15	40	35	87.5	0	22	15	68.2	0	15	7	46.7	0	10	3	30.0	0
	20	25	25	100	0	30	30	100	0	15	15	100	0	20	20	100	0
	25	21	21	100	0	25	25	100	0	15	15	100	0	20	20	100	0
20°C	5	21	6	28.6	0	10	2	20.0	0	15	0	0	0	10	0	0	0
	10	10	4	40.0	0	12	5	41.7	0	15	4	26.6	0	10	2	20.0	0
	15	18	15	83.3	0	14	10	71.4	0	15	6	40.0	0	10	3	30.0	0
	20	26	26	100	0	35	35	100	0	15	15	100	0	10	10	100	0
	25	18	18	100	0	30	30	100	0	15	15	100	0	10	10	100	0
15°C	5	13	5	38.5	0	12	2	16.6	16.6	15	0	0	13.3	10	0	0	20.0
	10	10	6	60.0	0	16	5	31.3	0	15	0	0	0	10	0	0	0
	15	15	15	100	0	19	14	73.7	0	15	8	53.3	0	10	0	0	0
	20	16	16	100	0	29	25	86.2	0	15	12	80.0	0	10	7	70.0	0
	25	31	31	100	0	30	30	100	0	15	15	100	0	10	10	100	0
10°C	5	16	2	12.5	0	13	0	0	23.0	15	0	0	26.6	15	0	0	26.6
	10	15	3	20.0	0	18	0	0	5.5	15	0	0	6.7	15	0	0	6.6
	15	15	6	40.0	0	13	3	23.1	0	15	3	20.0	0	15	2	13.3	6.6
	20	10	7	70.0	0	13	5	38.5	0	15	4	26.6	0	15	3	20.0	0
	25	20	15	75.0	0	15	10	66.7	0	15	6	40.0	0	15	5	33.3	0

*　体部および尾部の運動性を基準とし，それが盛んでしかも正常な状態のものの出現率

**　ピンをもつて軽く体部および尾部に接触させて運動性を確かめ，全く停止しているものの出現率

附表 2. 最終宿主として調査した魚種と *Bucephalus* 属の吸虫の寄生の有無

No.	魚種	採集地点並びに調査尾数			*Bucephalus* の寄生の有無
		御荘湾	田辺湾	宿毛湾	
1	コノシロ *Konosirus punctatus*	5			−
2	ウルメイワシ *Etrumeus micropus*		1		−
3	キビナゴ *Spratelloides delicatulus*	5	5		−
4	マイワシ *Sardinops melanosticta*		1		−
5	カタクチイワシ *Engraulis japonica*	5	5		−
6	ゴンズイ *Plotosus anguillaris*	2			−
7	ウナギ *Anguilla japonica*	4	1		−
8	マアナゴ *Astroconger myriaster*	1			−
9	ハモ *Muraenesox cinereus*	1			−
10	ウミヘビ *Oxystomus macrorhynchus*	1			−
11	ウツボ *Gymnothorax kidako*		1		−
12	サヨリ *Hemiramphus sajori*		2		−
13	トウゴロウイワシ *Atherina bleekeri*	5	5		−
14	ボラ *Mugil cephalus*	2			−
15	マサバ *Scomber japonicus*	1			−
16	タチウオ *Trichiurus lepturus*		2		−
17	ムロアジ *Decapterus muroadsi*			4	−
18	マアジ *Trachurus japonicus*	1	3		−
19	カイワリ *Caranx equula*		1		−
20	ナガエバ *Caranx sexfasciatus*	7	3	8	+
21	マルエバ *Caranx ignobilis*	7			+
22	シマアジ *Caranx delicatissimus*		6		−
23	イトヒキアジ *Alectis cilialis*		1		−
24	ヒラマサ *Seriola aureovittata*	2			−
25	ブリ *Seriola quinqueradiata*	4	3		−
26	カンパチ *Seriola purpurascens*	2			−
27	ヒイラギ *Leiognathus nuchalis*		2		−
28	マナガツオ *Pampus argenteus*	2			−
29	マハタ *Epinephelus septemfasciatus*	3			−
30	キス *Sillago sihama*		1		−
31	メジナ *Girella punctata*	2			−
32	スズキ *Lateolabrax japonicus*	1			−
33	ムツ *Scombrops boops*	1			−
34	チダイ *Evynnis japonica*	3			−
35	クロダイ *Mylio macrocephalus*		1		−
36	シマイサキ *Therapon oxyrhynchus*	4			−
37	ギンポ *Enedrias nebulosus*		5		−
38	シマハゼ *Tridentiger trigonocephalus*		5		−
39	マハゼ *Acanthogobius flavimanus*	2			−
40	キヌバリ *Pterogobius elapoides*		5		−
41	ウミタナゴ *Ditrema temmincki*			3	−
42	ササノハベラ *Pseupolabrus japonicus*	2			−
43	アイゴ *Siganus fuscescens*	1	1		−
44	カワハギ *Stemphanolepis cirrhifer*	5			−
45	アミメハギ *Rudarius ercodes*	5	5		−
46	クサフグ *Fugu niphobles*	1			−
47	メバル *Sebastes inermis*	1			−
48	カサゴ *Sebastiscus marmoratus*	1			−

調査月日　御荘湾…1963年9月29日～10月5日
田辺湾…1963年10月22日～10月25日
宿毛湾…1964年10月2日

附表 3. 試験魚（ナガエバ）から得た虫体の大きさと寄生部位との関係

a) 第1回人工感染実験

単位：μ

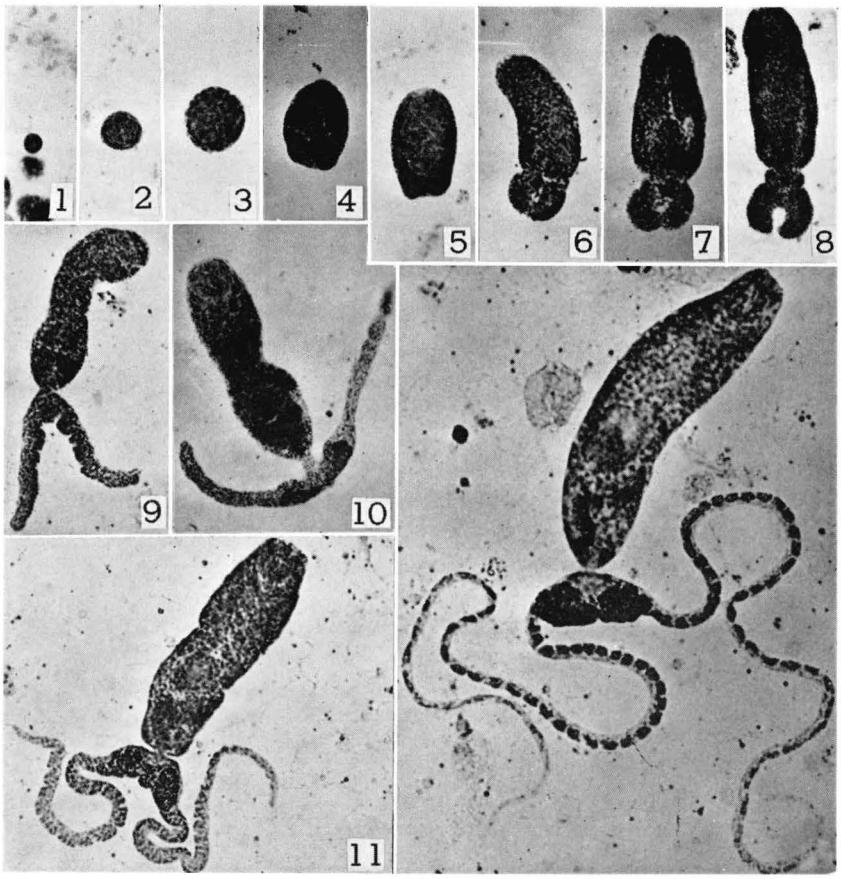
胃	腸		幽門垂	
230*	250*	320**	(1750)	(2100)
240*	250*	350**	(1780)	(2100)
245*	255*	360**	(1800)	
245*	280*	380**	(1800)	
245*	280*	400**	(1850)	
245*	280*	420**	(1850)	
250*	300*	430**	(1850)	
260*	300*	450**	(1850)	
265*	300*	470**	(1900)	
270*	305**	500**	(1900)	
270*	305**	530**	(1960)	
275*	310**		(2000)	

*　虫体の排泄嚢に排泄顆粒の蓄積が認められるもの
**　虫体の排泄嚢に排泄顆粒が認められないもの
（ ）　成熟している虫体

b) 第2回人工感染実験

単位：μ

胃	腸		幽門垂	
370	375	850	1400	1800
	380	850	1400	1900
	380	870	1450	1900
	385	950	1450	2000
	385	980	1500	2000
	390	1000	1500	2000
	420	1000	1500	2100
	430	1080	1550	2150
	480	1100	1550	
	480		1600	
	500		1600	
	550		1650	
	590			



附図 1. 罹病貝の生殖腺内にみられる種々の発育段階の虫体（器官の形成の詳細は第2図-10～20）
1：胚細胞，　2～3：胚球，　4：体長50μ-段階の虫体，5：60μ-段階，
6：70μ-段階，7：80μ-段階，8：90μ-段階，9：100μ-段階，
10：120μ-段階，11：130μ-段階，12：180μ-段階

真珠養殖漁場の養殖海洋学的研究

V. 老化漁場における底泥の有機物量および フェオフィチン量の季節的変化について*,†

澤田保夫・谷口宮三郎
国立真珠研究所

真珠養殖漁場の密殖や老化に起因する生産性の低下が問題視されて以来，その解決のための研究や対策[1,2,3,4,5,6]が行なわれている。著者らは前報[2]で漁場の底泥中の有機物量・過マンガン酸カリ消費量・硫化物量および溶存酸素消費量の季節的消長を老化漁場と非老化漁場について比較検討した結果，底泥の有機物量の蓄積と漁場老化が密接な関係を持っていることを認めた。その後澤田・上野[3]はアコヤガイを中心とした物質循環について追究し，アコヤガイの体内で餌料としてとり入れられた植物性プランクトンのクロロフィルが分解し，これがフェオフィチンに変化して排泄され海底に沈積する事実を認め，このフェオフィチンが漁場の養殖密度や漁場老化の指標の一つとなり得るものと推定した。本報では漁場の底泥の化学的成分，特に有機物量およびフェオフィチン量と養殖密度との相互関係を求める基礎資料を得る目的で，枝湾内のこれらの化学成分の分布とそれらの季節的変化を検討した。

観測地点および分析方法

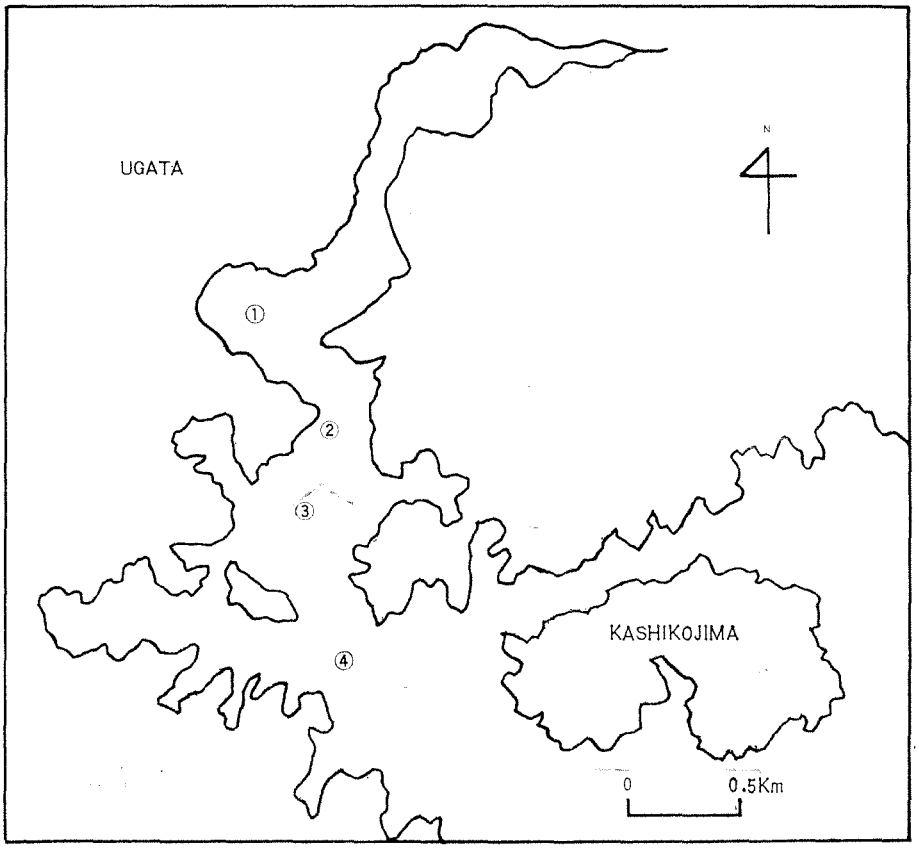
観測点を設定した湾は漁場老化の進んでいるとみなされる枝湾で，湾奥部から湾口部にかけて比較的直線的で，しかも観測に便利な英虞湾の奥部の鵜方浦を選んだ。観測点は第1図に示した4点で，老化の進行度合を比較するために湾奥部から湾口部までほぼ等間隔に4点を設定した。

観測は1967年5月から同年11月までの養殖期間中に約1か月に1回の割合で行なったが，環境の変動が大きいと考えられる時には適宜に観測の間隔を変更した。

環境海水と底泥の分析方法は次のとおりである。すなわち海水は北原式B号採水器を用

* Yasuo Sawada and Miyasaburo Taniguchi. The Oceanographical studies on the pearl cultare ground. V. On the seasonal changes of organic matter and phaeophytin contents in bottom mud of the superannuated pearl culture ground. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 13: 1689—1702.1968.

† 国立真珠研究所業績 No. 172.（国立真珠研究所報告 13：1689—1702. 昭和43年7月）



第1図　鵜方浦観測地点附近略図

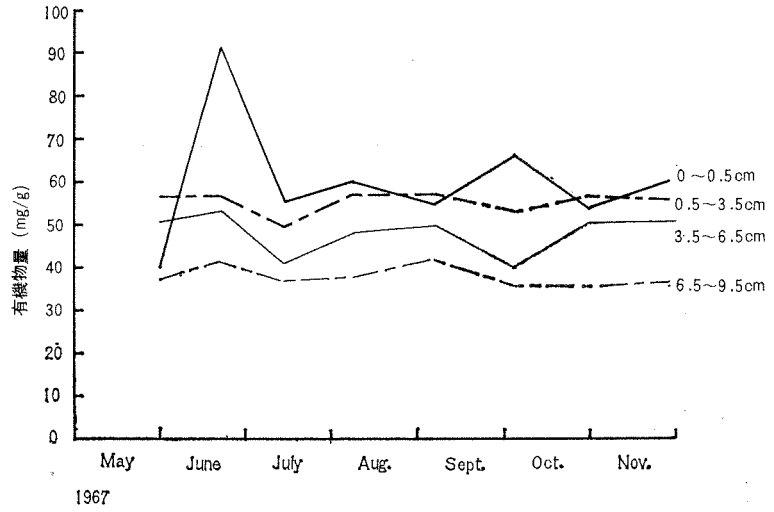
いて採取し，常法に従って溶存酸素量と塩素量を測定した。また水温はサーミスター水温計を用いて測定した。採泥はナウマン採泥器を用いてできるだけ自然の状態に底泥を柱状に採取し，各観測点ごとに肉眼的にみて色調，採泥状態および採泥量が一定するまで繰り返し採取しなおした。採取後の底泥は採泥管のままアイスボックスに入れて運び，先ず浮泥層(泥層0～0.5 cm と上部の海水約 20 cc を混合したもの)を吸い上げた後，残余の底泥を採泥管から取り出し，これを 0.5～3.5 cm，3.5～6.5 cm，6.5～9.5 cm の4層に分けた後，試料中に存在する海草，小石，貝殻等を篩い分けて有機物量，フェオフィチン量および過マンガン酸カリ消費量の定量を行なった。有機物量・過マンガン酸カリ消費量は前報[2]と同様の方法により，またフェオフィチン量は乾燥泥を90%アセトンで20時間抽出した後，遠心分離し沪液を日立自記分光光度計 EPS II 型を用いて比色分析[3]した。

実　験　結　果

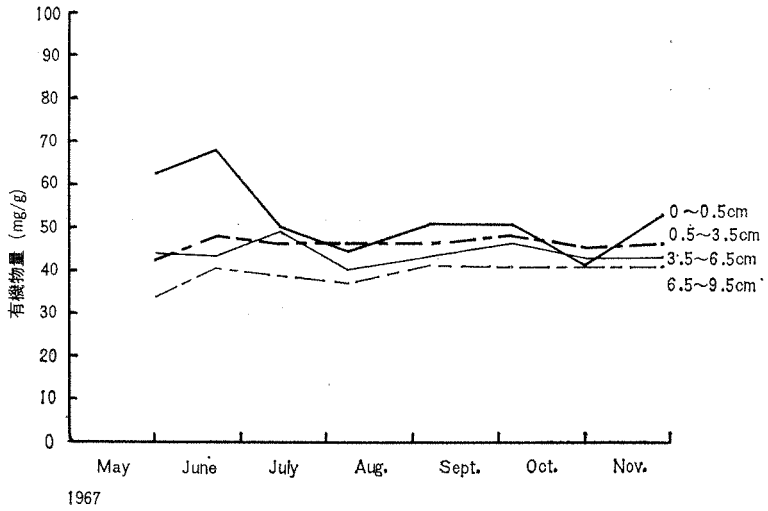
底泥中の有機物量

底泥の有機物量の季節的変化は第2図から第5図に示したとおりである。各観測点における有機物量は量的には差異が認められるが，季節的消長では各観測点に共通した傾向を示している。すなわち，4月上旬からの養殖作業の開始にともなって多量に垂下養殖されたアコヤガイの排泄物や附着生物の海底への落下によって，初夏に急速に蓄積された底泥の有機物は夏季の水温の上昇と共に底泥中の微生物の作用で激しく分解され一時減少する様子が認められるが，秋季には水温の降下によって有機物の分解速度が低下し，ふたたび蓄積されていく様子を示している。

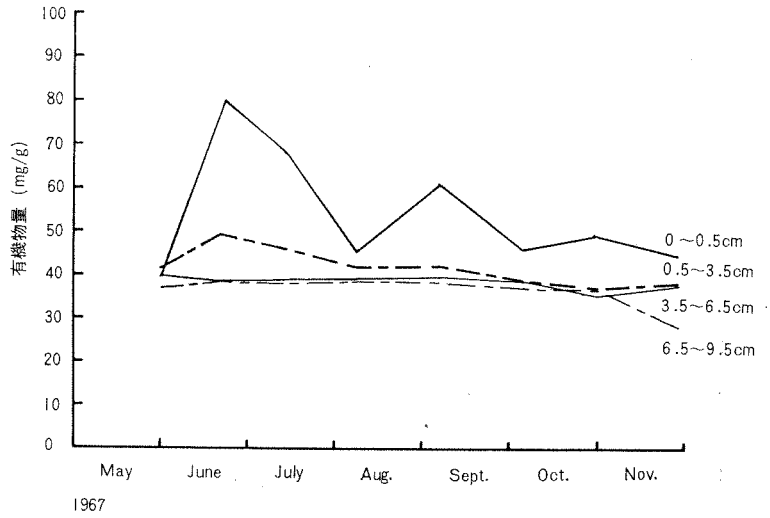
底泥の有機物量の分布を各観測点別に検討すると，湾の最奥部の最も海水の停滞する



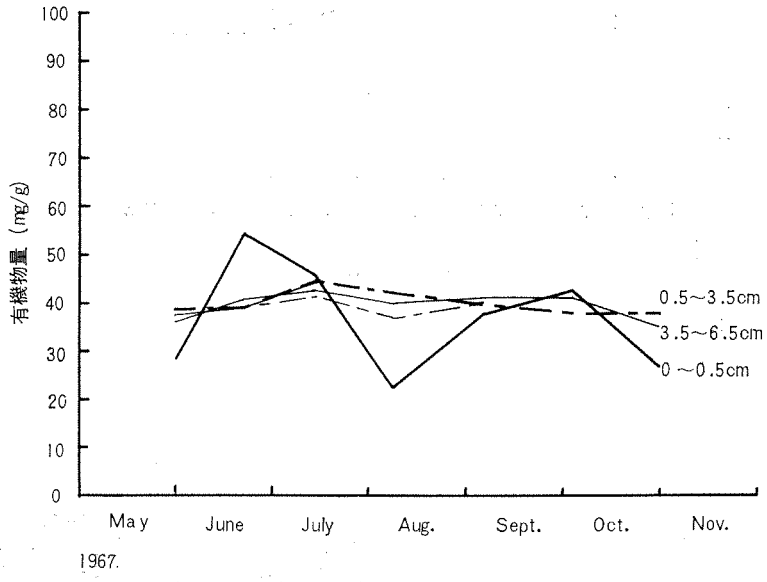
第2図　鵜方浦の有機物量の季節変化（stn. 1）



第3図　鵜方浦の有機物量の季節変化（stn. 2）



第4図　鵜方浦の有機物量の季節変化（stn. 3）



第5図　鵜方浦の有機物量の季節変化（stn. 4）

stn. 1は観測期間中常に他の地点よりも底泥の有機物量が多量に含有されている。湾の狭くなった部分に位置するstn. 2は湾奥部であるにもかかわらず底泥の有機物量はかなり低い値を示しているが，これはstn. 2が陸水の流出経路上にあたり，stn. 1にくらべると海水の停滞がそれ程ないので底泥への有機物の蓄積が少なかったものと考えられる。さらに湾口部に近くなったstn. 3は有機物量の減少が認められず，むしろ湾奥部よりも増加する傾向を示している。この地点は他の観測点と異なって左右に小さな枝湾があり，その枝湾

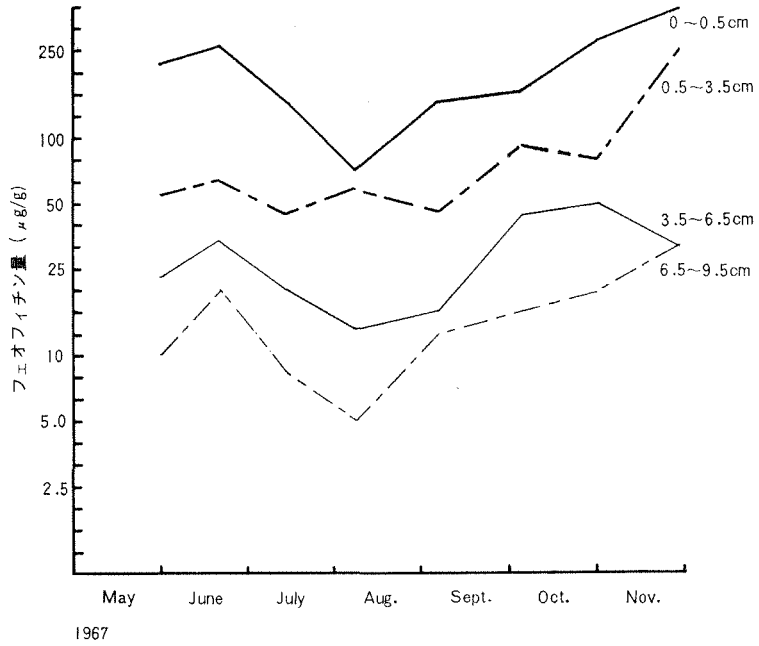
と湾奥部からの海水の流れが重なる地点であり，その上水深が窪みのように深くなっていることから海水の流れによって運び出された有機物がここに停滞沈積した結果と推察される。湾口部のstn. 4は，やや開放的な漁場であり水深も12～13 mと湾奥部にくらべて深く，有機物の拡散が大きく底泥への蓄積が少なかったと考えられる。

次に底泥中の有機物量を底泥の深度別にみると，いずれの地点においても上層部に有機物が多量に存在することが認められ，しかも湾奥部になるに従ってその量が増加するだけでなく下層部の含有量も増加する傾向のあることが認められる。一般に浮泥層における有機物の蓄積は漁場の使用度合いによって変化されやすいものであり，その季節的消長や観測点間の有機物量の値を比較しても変動が大きく，安定した層でないと考えられる。第2図から第5図に示したように，鵜方浦においては底泥の有機物量は約40m g/gが安定した値であり，それ以下に減少することはほとんどないので，これ以上の底泥中の有機物量は主として養殖密度の度合に比例して増加したものと考えられる。今仮に底泥の有機物量が約40 mg/gの泥層を一応安定した値と考えると，この泥層は湾口部のstn. 4では0.5～3.5 cmの泥層であり，stn. 3では3.5～6.5 cm，stn. 2では6.5～9.5 cmと順次深部の泥層までも汚染されていることが認められる。さらに湾奥部のstn. 1では6.5～9.5 cmの層でも，なおかつ40 mg/gよりも高い有機物量を示し真珠漁場として極度に悪化していることが推察される。

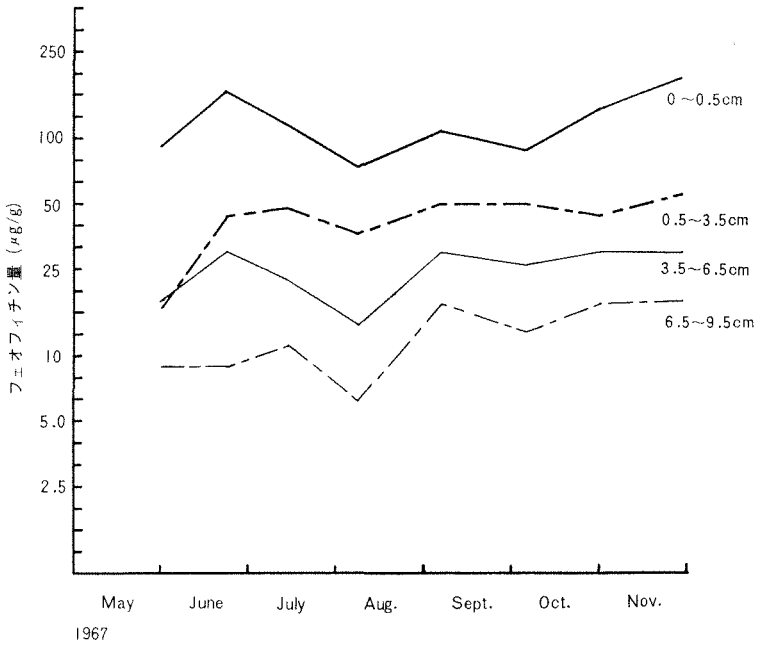
以上の底泥の有機物の変化から，完全に底泥の有機物の挙動が解明し尽したとはいえないにしても，この値の相違を知ることによって湾内の密殖度合を推測できることを確認した。

底泥中のフェオフィチン量

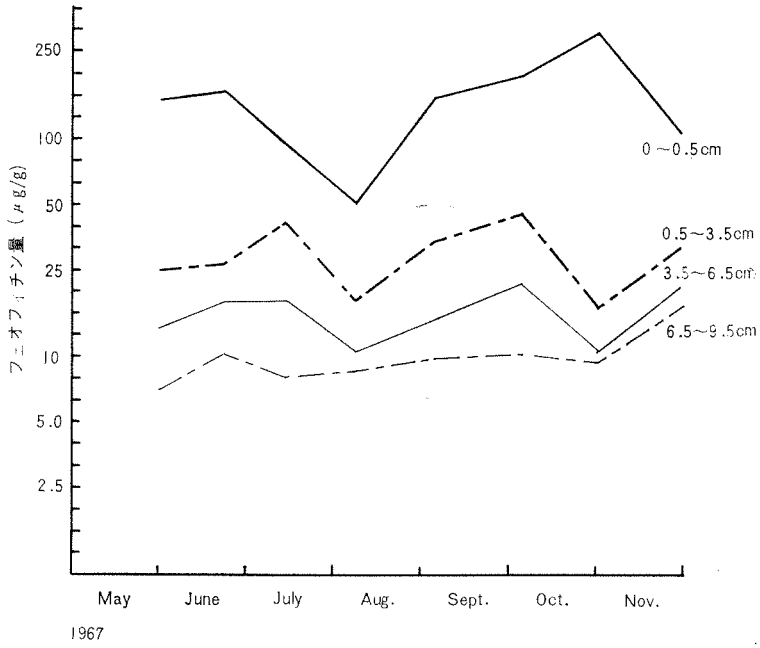
底泥のフェオフィチン量の持つ意味については澤田ら[3]が研究し，その根源はアコヤガイの排泄物によるもので，底泥中のフェオフィチン量は漁場内の養殖収容密度に比例すると考えた。第6図～第9図は鵜方浦の底泥中のフェオフィチン量の季節的変化を示したものである。図からも明らかなように底泥中のフェオフィチン量は各観測点共に養殖初期の初夏には増加するが，8月に一時減少し，初秋から再び増加していく傾向を示している。また，底泥中のフェオフィチン量は湾奥部と湾口部を比較すると湾口部の方が変動値が小さく，さらに泥層別にみた場合深部になるに従って変動値が小さくなり，湾口部のstn. 4では各泥層共に周年にわたり季節的変動の少ないことが認められる。特にstn. 3では底泥の有機物量で認められた現象と同様にフェオフィチンの含有量も高く季節的に変動値が大きいことは，stn. 3の特異な位置によるものであろう。鵜方浦の底泥ではこれらの図からも認められるように，含有量が少なく，また，季節的変動が少ないのは20 μg/g以下のフェオフィチン量を示す層である。今仮に有機物の場合と同様に20 μg/g程度を安定した量と考えると，stn. 4では0.5～3.5 cm層でほぼ25 μg/g，最上部の浮泥層でも100 μg/g以下のフェオフィチン量を示し，底泥がそれ程汚染されていない様子を示している。しかし湾奥部になるにしたがってフェオフィチンの含有量が増加し0～3.5 cm層では100 μg/gあるいはそれ以上のフェオフィチン量が認められる。これらのことから，フェオフィチン



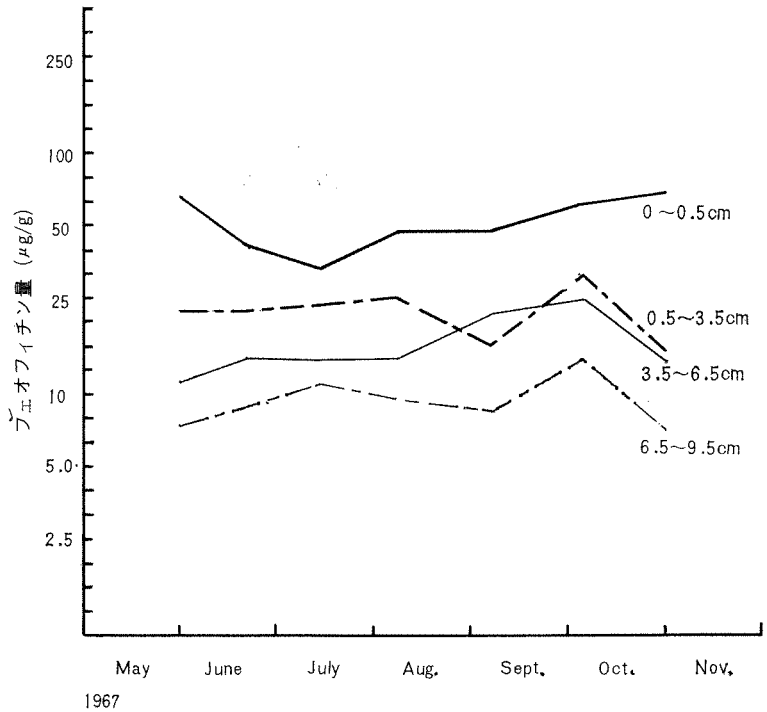
第6図　鵜方浦のフェオフィチン量の季節変化（stn. 1）



第7図　鵜方浦のフェオフィチン量の季節変化（stn. 2）



第8図　鵜方浦のフェオフィチン量の季節変化（stn. 3）

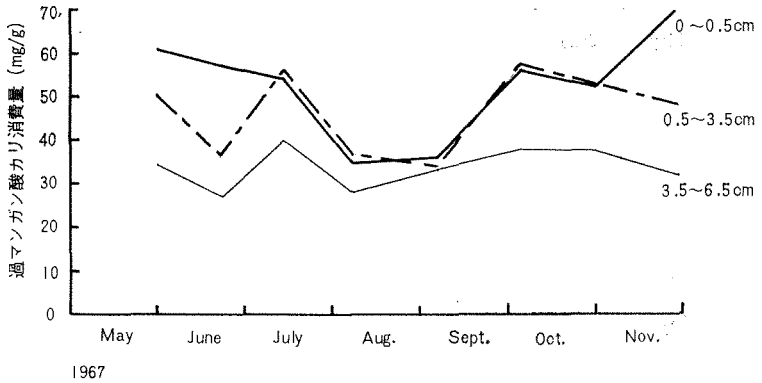


第9図　鵜方浦のフェオフィチン量の季節変化（stn. 4）

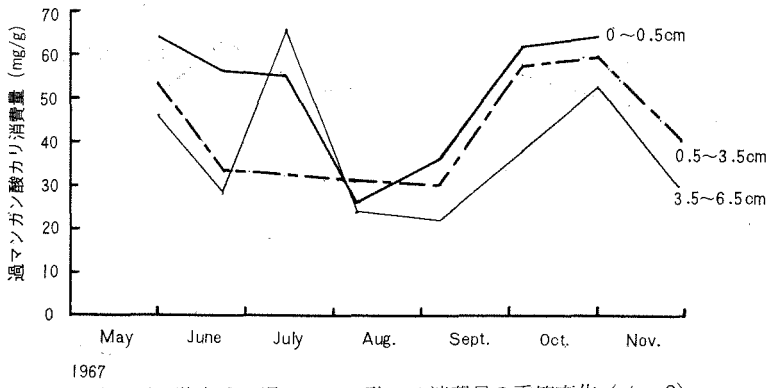
の根源としてアコヤガイの排泄物以外にプランクトンや海藻類のクロロフィルによる場合が考えられるにしても，フェオフィチンが漁場の利用度と密接な関係があることは明らかである。

底泥中の過マンガン酸カリ消費量

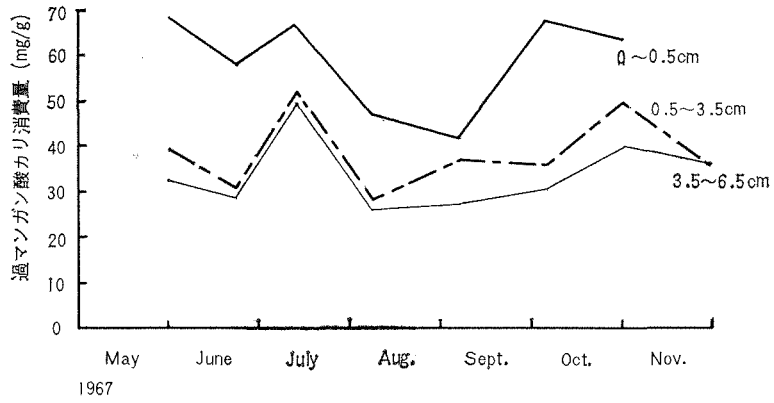
すでに報告[1,2]したように老化漁場の底泥では有機物と過マンガン酸カリ消費量とは密接な関係を持っており，異常環境の形成される時期には興味深い挙動を示すものである。鵜方浦における底泥の過マンガン酸カリ消費量の季節的変化は第10図～第13図に示したとおりである。その消長は初夏に高い値を示し，底泥中の有機物の分解の激しい夏季になると一時減少し，その後徐々に増加していく事実は有機物量やフェオフィチン量に似た傾向であるが，養殖密度による顕著な差異が認められないところから密殖の指標とはなりにくく，むしろ有機物と組み合せて漁場内の異常環境を示す指標として用いるのが適当と考えられる。



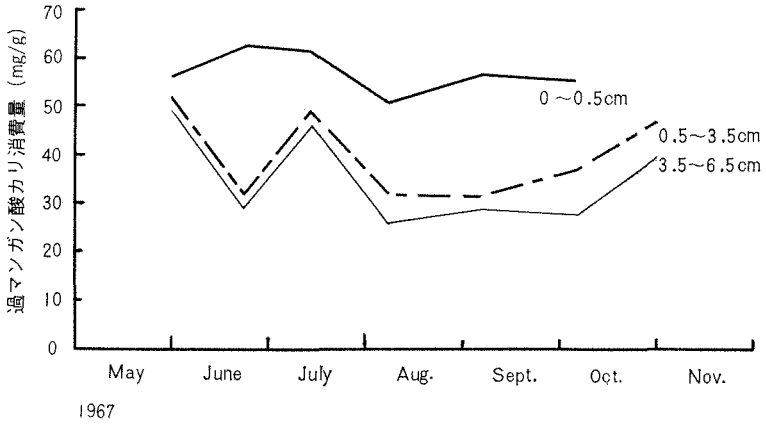
第10図　鵜方浦の過マンガン酸カリ消費量の季節変化（stn. 1）



第11図　鵜方浦の過マンガン酸カリ消費量の季節変化（stn. 2）



第12図　鵜方浦の過マンガン酸カリ消費量の季節変化（stn. 3）



第13図　鵜方浦の過マンガン酸カリ消費量の季節変化（stn. 4）

考　　察

以上の分析結果から底泥中の有機物量は養殖密度の低い湾口部から養殖密度の高い湾奥部へと増加することが認められるが，これは有機物の補給源であるアコヤガイの排泄物や附着生物の海底への落下に起因するものであると考えられる。しかし底泥の有機物量の供給源はこの他降雨時に河川によって運び込まれたり，他の海域から持ち込まれたりして湾奥部の水の停滞する場所ではそれが落下沈積し，実際の漁場利用量以上に存在することも考えられるので，底泥の有機物量は漁場の老化の指標とはなるが必ずしも漁場の利用度と比例しない場合があることを考慮しなければならない。このことはstn. 3の有機物量で明白に示されているといえる。stn. 3は湾の中央部に位置するので，有機物の傾斜から考えれば当然stn. 2よりも低い値を示さなければならないが，実際には有機物量の高い値を示

したのはstn. 3の水深が窪みのように深かったことと，この位置がstn. 1，stn. 2から湾口への流出経路の他に，左右に小枝湾が存在していたこと等から，ここに落下沈積する有機物が上部の養殖貝からの排泄物の落下と，他から運び込まれたものが合わさって大きな有機物量の値となったものであると考えられる。また，stn. 1は河川の流出経路からややはずれた位置にあるが水の停滞しがちなところであるので養殖貝の排泄物や附着生物の残骸あるいは河川などからの有機物が流出することなく蓄積されたものと考えられる。

一方，底泥中のフェオフィチン量は前述のようにその根源が主としてアコヤガイの排泄物によるものであり，養殖密度と密接な関係があることが考えられるが，この他にも生物の排泄物やプランクトンの残骸，時には赤潮を形成する多量のプランクトンの残骸または海草の腐敗等の供給源が考えられる。このことば真珠養殖として未利用の海域でも10 μg/g以上のフェオフィチン量が存在[3]することから明白であろう。以上のことから漁場の底泥中の有機物量やフェオフィチン量は直接その附近の漁場の利用度を示さないにしても，底泥の老化現象を示す指標となり得ることは明白であるので，これらの量比の多寡がその漁場の利用限界を決定する要素となり得るものと思われる。しかしながら，現在の資料のみではこの決定は困難であり，さらに各漁場の観測結果を総合し底泥の有機物やフェオフィチンの蓄積・分解過程を解明して，この問題の解決を行なうことを計画している。なお，水温・溶存酸素量および塩素量は底泥を検討するためには直接関係がないので参考資料として附表にした。

要　　約

英虞湾奥部の比較的漁場老化の進んでいると考えられる鵜方浦において，漁場底泥の有機物量およびフェオフィチン量の季節的変化を追究した。

1)　漁場底泥の有機物・フェオフィチン量は漁場の老化度合を示す指標の一つであると考えられ，鵜方浦においては，湾奥部から湾口部にかけての各泥層の含有量からみて有機物量では約40 mg/g 乾泥，フェオフィチン量では約20 μg/g 乾泥が，漁場の利用度の限界を示す含有量でないかと推定した。

文　　献

1)　澤田保夫・谷口宮三郎 1965.　真珠養殖漁場の養殖海洋学的研究 Ⅲ.　老化漁場における海水ならびに底質の季節変化について．国立真珠研報 10：1213—1227.

2)　澤田保夫・谷口宮三郎 1967.　真珠養殖漁場の養殖海洋学的研究 Ⅵ.　老化漁場における底質の性状とその改良方法の一例について．国立真珠研報 12：1379—1408

3)　澤田保夫・上野福三 1966.　海底およびアコヤガイの排泄物のアセトン抽出物についてⅠ．アセトン抽出物の吸収曲線．国立真珠研報11：1298—1307

4)　澤田保夫・丹下孚・関政夫 1958.　真珠養殖漁場の養殖海洋学的研究 Ⅰ.　1958年7月英虞湾立神浦における真珠貝異常斃死漁場の観測結果について．国立真珠研報4 ：347—355.

5)　国立真珠研究所・京都大学工学部資源工学教室　1967.　真珠養殖漁場における水中障害物の爆破除去に関する研究（第1報）．国立真珠研報 12：1455—1487.

6)　上野福三 1964.　真珠漁場における餌料基礎生産と漁場の海洋構造についてⅡ．海水並に底泥の性状の季節変化と海底耕耘の効果について．三重県立大学水産学部概要6（2）：145—169.

第1表　観　測　結　果（水温°C）

地点	1										
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5			B−1	B	水深
1967											
5.30	23.5	22.9	21.1	20.4	19.9				16.6	19.4	6.5
6.20	26.0	25.4	24.5	24.5					23.7	23.1	5.5
7.13	26.9	26.7	25.9	25.5	25.3	25.0			24.7	24.4	6.8
8. 8	30.1	30.3	29.8	29.1					28.3	27.4	6.2
9. 6	29.3	29.9	28.7	27.7	27.0				26.0	25.3	6.2
10. 4	23.1	23.2	23.2	23.3	23.2				23.4	23.5	6.0
11. 1	17.3	19.7	19.5	19.6					19.9	19.9	5.4
11.29	13.9	14.2	14.1	14.1	14.2				14.2	14.4	5.9

地点	2											
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5	6	7		B−1	B	水深
1967												
5.30	24.2	22.6	21.6	20.9	20.2	19.8	19.6			19.3	19.0	8.6
6.20	25.5	25.0	25.2	24.5	24.0	23.5				23.1	22.5	7.5
7.13	27.8	26.4	25.7	25.3	25.1	24.8	24.7	24.3		24.1	23.9	8.9
8. 8	30.1	30.2	30.4	30.0	29.3	28.8	28.2			27.3	26.5	8.2
9. 6	29.6	29.6	28.4	27.6	27.3	27.1	26.9			25.8	25.2	8.1
10. 4	23.2	23.3	23.2	23.5	23.6	23.6	23.6			23.6	23.6	8.0
11. 1	18.3	19.4	19.7	19.8	19.8	19.9	19.8			19.9	20.2	7.6
11.29	14.1	14.4	14.4	14.4	14.3	14.4	14.4			14.6	14.6	8.1

地点	3											
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5	8	B−2	B−1	B	水深	
1967												
5.31	24.6	24.0	22.9	21.7	21.1	20.5	19.7	19.4	18.9	18.9	9.5	
6.20	26.0	25.6	25.3	25.2	24.2	23.7		23.6	22.8	22.6	8.6	
7.13	28.5	26.5	25.6	25.1	24.8	24.7	24.0		23.7	23.4	9.7	
8. 8	30.4	30.3	30.5	30.2	29.5	28.9		27.8	27.1	25.8	8.7	
9. 6	29.4	29.9	28.5	27.6	27.2	26.7		26.2	24.7	24.1	9.0	
10. 4	22.6	22.7	22.9	23.3	23.3	23.3		23.3	23.3	23.2	8.7	
11. 1	19.4	19.4	19.9	20.1	20.1	20.2		20.2	20.2	20.2	8.6	
11.29	14.2	14.2	14.2	14.4	14.4	14.3		14.5	14.6	14.6	9.0	

地点	4											
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5	8	10	B−2	B−1	B	水深
1967												
5.30	24.0	22.9	22.2	21.2	20.7	20.2	19.3	18.8	18.8	18.6	18.4	14.0
6.20	26.1	25.5	25.1	25.0	24.8	24.5	23.2	22.5	22.4	22.0	22.0	13.0
7.13	28.9	26.9	25.7	25.2	24.9	24.7	24.1	23.7	23.3	23.3	23.2	10.05
8. 8	30.3	30.2	30.2	30.0	29.8	29.1	27.3	26.9	26.2	25.4	25.3	13.0
9. 6	29.7	29.4	28.4	27.8	26.9	26.5	25.4		24.4	24.1	23.6	12.05
10. 4	20.0	21.8	21.9	23.0	23.0	23.1	22.9	22.9	22.8	22.8	22.7	13.0
11. 1	18.1	18.9	19.3	20.6	19.8	20.0	20.1		20.2	20.2	20.3	12.1
11.29												

第2表 観測結果（塩素量 ‰）

地点	1										
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5			B—1	B	水深
1967											
5.30	16.53	17.47	18.06	18.20	18.31				18.32	18.36	6.5
6.20	17.73	18.00	18.29	18.41					18.55	18.57	5.5
7.13	3.88	13.97	16.43	17.31	17.82	17.94			18.25	18.28	6.8
8. 8	16.15	16.70	17.06	17.49	17.60				17.67	17.82	6.2
9. 6	6.92	15.67	17.37	18.04	18.30				18.41	18.56	6.2
10. 4	18.56	18.55	18.53	18.50	18.40				18.10	18.10	6.0
11. 1	14.94	16.68	18.75	18.03	18.50				18.15	18.36	5.4
11.29	17.15	17.79	18.42	18.47					18.53	18.56	5.9

地点	2											
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5	6	7		B—1	B	水深
1967												
5.30	17.08	17.58	18.11	18.26	18.30	18.33	18.35			18.45	18.45	8.6
6.20	18.01	18.25	18.51	18.51	18.59	18.60	18.66			18.68	18.68	7.5
7.13	4.02	13.58	16.56	17.41	18.06	18.08	18.10	18.29		18.57	18.57	8.9
8. 8	15.48	16.46	16.78	16.85	17.58	17.58	17.74			17.94	18.07	8.2
9. 6	8.34	15.66	17.13	18.08	18.23	18.35	18.51			18.59	18.71	8.1
10. 4	18.15	18.33	18.49	18.56	18.60	18.60	18.62			18.62	18.62	8.0
11. 1	15.12	17.27	17.92	18.08	18.22	18.25	18.31			18.45	18.59	7.6
11.29	17.34	18.17	18.42	18.42	18.53	18.55	18.59			18.62	18.62	8.1

地点	3											
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5	8	B—2	B—1	B	水深	
1967												
5.31	17.42	17.82	18.04	18.25	18.30	18.36		18.41	18.60	18.60	9.5	
6.20	18.21	18.21	18.48	18.58	18.65	18.60		18.69	18.70	18.70	8.6	
7.13	5.38	11.37	16.85	17.39	17.94	17.94	18.43		18.53	18.55	9.7	
8. 8	16.80	16.87	16.39	17.44	17.54	17.66		17.84	17.94	18.15	8.7	
9. 6	7.92	11.56	17.34	17.89	18.26	18.45		18.50	18.68	18.79	9.0	
10. 4	18.27	18.39	18.46	18.56	18.61	18.61		18.61	18.61	18 61	8.7	
11. 1	15.87	16.91	17.74	18.11	18.21	18.31		18.41	18.57	18.42	8.6	
11.29	17.67	18.23	18.47	18.52	18.54	18.60		18.60	18.63	18.63	9.0	

地点	4												
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5	8	10	B—2	B—1	B	水深	
1967													
5.30	17.52	17.67	18.06	18.26	18.34	18.41	18.46	18.50	18.50	18.55		14.0	
6.20	18.41	18.41	18.41	18.50	18.65	18.72	18.75	18.75	18.75	18.75	18.75	13.2	
7.13	5.20	13.53	16.75	17.33	17.83	17.92	18.41	18.52	18.60	18.62	18.78	10.05	
8. 8	16.92	16.95	17.15	17.50	17.64	17.69	17.92	17.96	18.06	18.13	18.28	13.0	
9. 6	7.45	13.33	17.29	17.82	18.30	18.39	18.45		18.70	18.70	18.80	12.05	
10. 4	18.00	18.04	18.36	18.51	18.55	18.56	18.57	18.57	18.57	18.57	18.57	13.0	
11. 1	15.75	17.41	17.68	18.02	18.08	18.22	18.53		18.65	18.65	18.68	12.1	
11.29													

第3表　観　測　結　果（溶存酸素量 O_2cc/ℓ）

地点	1											
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5			B—1	B	水深
1967											
5.30	5.49	5.58	5.20	5.27	5.09				5.02	4.42	6.5
6.20	4.62	4.77	4.80	4.99					4.95	4.47	5.5
7.13	5.67	3.72	2.39	2.17	2.21	2.03			1.51	0.91	6.8
8. 8	4.18	4.56	4.24	4.31	4.14				4.15	3.77	6.2
9. 6	5.27	4.05	3.29	2.65	2.76				2.83	2.55	6.2
10. 4	3.45	3.52	3.75	3.80	3.77				3.73	3.72	6.0
11. 1	5.44	4.96	4.87	4.65					4.51	3.95	5.4
11.29	4.36	4.43	4.42	4.39	4.37				4.22	4.23	5.9

地点	2											
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5	6	7		B—1	B	水深
1967												
5.30	5.63	5.57	5.20	5.09	5.00	4.77	4.46			4.11	3.65	8.6
6.20	4.50	4.91	5.08	5.07	5.15	5.09				5.02	3.78	7.5
7.13	5.39	3.94	2.68	2.48	2.33	2.26	1.96	1.65		1.59	1.42	8.9
8. 8	4.62	4.62	4.41	4.51	4.12	3.40	3.01			3.56	3.37	8.2
9. 6	5.73	3.92	3.90	3.28	2.98	2.88	2.31			2.32	1.92	8.1
10. 4	3.86	3.84	3.85	3.62	3.57	3.49	3.49			3.81	3.45	8.0
11. 1	5.00	4.93	4.81	4.71	4.48	4.54	4.46			3.94	3.86	7.6
11.29	4.46	4.42	5.15	4.56	4.33	4.23	4.12			4.14	4.06	8.1

地点	3											
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5	8	B—2	B—1	B	水深
1967											
5.31	5.48	5.40	5.20	4.98	4.96	4.84		4.65	4.39	4.27	9.5
6.20	4.77	4.61	4.79	4.95	5.00	4.90		4.71	4.36	3.53	8.6
7.13	5.74	4.90	3.60	3.59	2.86	2.85	1.57		1.48	0.46	9.7
8. 8	4.47	4.48	4.41	4.50	4.32	4.13		3.96	4.01	3.28	8.7
9. 6	5.86	5.15	3.75	3.69	3.41	3.07		2.76	2.62	2.23	9.0
10. 4	3.90	4.01	3.90	3.80	3.74	3.78		4.27	3.76	3.44	8.7
11. 1	5.07	5.26	4.96	4.85	4.47	4.42		4.09	4.17	4.13	8.6
11.29	4.34	4.49	4.42	4.42	4.27	4.37		4.17	4.29	4.09	9.0

地点	4											
年月日＼水層m	0	1	2	3	4	5	8	10	B—1	B—2	B	水深
1967												
5.30	5.45	5.33	5.16	5.06	5.01	5.10	4.54	4.16	4.06	3.77		14.0
6.20	5.03	5.11	4.96	5.05	5.26	5.18	5.21	4.39	4.31	4.63	2.55	13.2
7.13	6.22	5.64	3.84	3.72	3.51	3.27	1.90	1.68	1.63		1.44	10.05
8. 8	4.54	4.45	4.32	4.31	4.41	4.41	4.35	4.37	4.28	2.99	2.69	13.0
9. 6	5.75	4.90	4.26	4.08	3.70	3.30	2.93		2.36	2.30	2.28	12.05
10. 4	4.25	4.77	4.21	4.09	4.07	4.05	4.08	4.03	4.02	4.00	3.99	13.0
11. 1	5.48	5.51	5.45	5.35	5.05	4.95	4.38		4.27	4.30	4.24	12.1
11.29												

第4表　底泥分析結果（有機物量 mg/g）

地点	1				2				3				4			
年月日＼泥層	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1967																
5.30	40.1	56.0	50.8	37.5	62.1	41.8	43.4	34.6	39.4	40.9	39.5	37.0	28.6	38.0	36.7	37.9
6.20	91.8	56.4	53.9	41.8	67.6	47.4	43.4	41.0	78.9	49.1	38.3	38.3	54.4	39.4	40.4	
7.13	55.5	49.9	41.3	37.5	49.5	46.7	48.8		67.1	46.3	38.7		45.1	44.3	43.1	41.8
8. 8	60.1	57.0	48.4	38.3	44.6	45.5	40.2	36.5	44.5	41.6	39.1	38.7	22.8	41.4	40.0	37.0
9. 6	55.2	57.3	50.3	42.9	50.6	46.9	43.5	42.9	60.7	42.3	38.1	38.6	38.6	40.7	41.5	40.7
10. 4	66.5	53.6	40.5	36.5	50.2	48.4	45.3	40.7	45.8	39.3	38.0	37.7	43.1	38.7	41.7	38.9
11. 1	54.4	56.8	50.9	36.3	41.8	45.4	42.4		48.9	36.8	35.4	36.3	27.0	38.3	35.5	
11.29	60.4	56.7	51.2	36.7	54.8	46.9	43.6	41.4	44.8	38.6	37.6	27.9				

第5表　底泥分析結果（過マンガン酸カリ消費量 KM_nO_4mg/g）

地点	1			2			3			4		
年月日＼泥層	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1967												
5.30	60.82	50.30	34.17	63.93	53.42	45.82	68.62	39.61	32.90	55.58	52.95	49.30
6.20	57.60	36.33	27.28	56.08	33.66	28.75	58.33	31.24	29.25	63.41	31.68	28.67
7.13	54.91	56.03	40.42	55.25	56.37	65.91	66.90	51.15	49.88	62.23	48.54	46.06
8. 8	34.38	36.65	27.93	25.59	31.08	24.17	47.66	28.50	26.25	51.23	32.37	27.80
9. 6	36.33	34.38	33.06	36.25	29.91	21.99	42.10	37.82	27.59	58.28	32.03	29.82
10. 4	55.99	56.51	34.82	61.76	57.67	37.76	67.80	36.09	30.81	55.73	37.66	28.92
11. 1	53.75	53.65	38.28	63.86	59.83	51.57	64.52	50.55	40.84		46.26	39.38
11.29	69.94	47.83	32.62		40.23	34.18		37.14	37.04			

第6表　底泥分析結果（フェオフィチン量 μg/g）

地点	1				2				3				4			
年月日＼泥層	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1967																
5.30	219.5	53.4	24.2	10.9	94.6	16.8	18.4	8.9	151.5	25.9	13.6	7.3	66.3	22.5	11.3	7.5
6.20	261.8	63.2	33.1	19.1	163.8	44.0	23.9	9.1	166.7	36.7	17.9	12.4	41.2	22.3	14.6	
7.13	146.9	46.6	19.9	8.8	115.4	47.5	22.2	11.1	102.1	41.9	18.5	8.1	33.3	24.1	13.9	10.8
8. 8	69.2	56.5	13.6	4.9	67.9	38.6	14.8	6.3	49.2	18.1	10.4	8.8	48.0	25.5	15.2	9.5
9. 6	145.4	49.8	19.9	12.4	108.0	50.2	30.0	17.5	155.9	33.6	15.2	10.1	48.3	16.1	21.9	13.7
10. 4	167.3	89.9	43.4	15.6	89.2	51.4	26.5	12.5	250.6	45.2	22.5	15.6	61.4	32.5	24.3	13.4
11. 1	283.9	81.6	49.5	23.9	136.3	45.5	30.2	17.6	372.1	37.5	19.3	15.5	53.7	32.1	23.0	12.0
11.29	306.2	77.7	32.1	32.1	191.3	56.4	30.8	18.7	106.7	31.0	20.7	17.5				

真珠養殖漁場における水中障害物の爆破除去に関する研究（第2報）

Ⅳ．水中障害物除去による漁場改良効果について*,†

澤田保夫・谷口宮三郎
国立真珠研究所

真珠漁場の老化を引き起こす原因としてはすでに報告[1]したように，地形的なものに起因する枝湾内の海水交流の低調，漁場の水深が10 m 以下のような比較的浅いこと，および，その漁場に特有な養殖収容密度を超過した時に起こる異常環境水の発生の3つの条件が考えられる。真珠養殖の歴史の古い英虞湾では事業の発展にともなって湾奥部の漁場が多く使用されるようになり，このために以上の悪条件のそろったところでは漁場の老化現象で真珠の生産性の低下や異常斃死の発生といった被害が多発している。現在これらの地域で漁場改良方法として実施されているものには，底泥の浚渫や耕耘あるいは底泥の酸化効果を期待した赤土等の客土やこれらの併用法があるが，さらに積極的な方法として漁場内の海水交流特に底層流の促進をうながす土木工事が実施されると漁場の改良効果が向上するものと考えられる。

この考えに基づいて1967年に英虞湾奥部の船越地区で漁場内に存在する水没堰堤の爆破除去が実施され，その工法や水中爆破による水産生物への影響等についての研究を前報[2]で報告したが，ひきつづき漁場環境の変化を観測したのでその結果を報告する。

なお，この研究は水産庁の浅海漁場開発調査の直轄研究費によるものである。

観測地点および分析方法

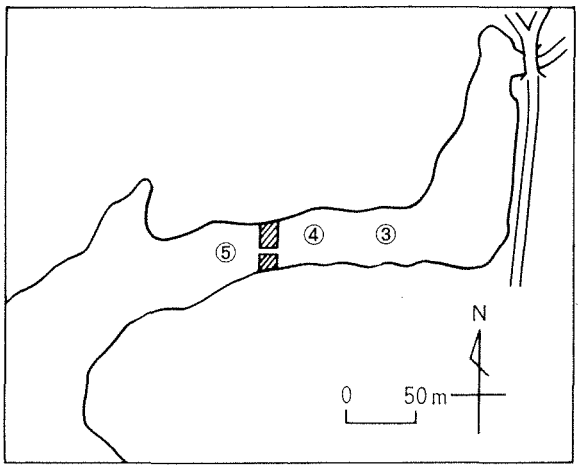
観測地点は第1図に示した英虞湾船越地区の風ヶ崎浦である。図で中央部の斜線で示した部分は，養魚の目的で約100年以前に築かれた堰堤が水没しているところである。このために，堰堤以内の漁場は，毎年夏期になるとごく上層部を除いては環境海水が無酸素状態に陥りやすく，その上硫化水素の頻発が加わって真珠養殖に多大の被害があるところで

---

* Yasuo Sawada and Miyasaburo Taniguchi. Studies on the under water blasting of reef in the pearl culture ground — II. IV. On the change of environment of the pearl culture ground by the under water blasting. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 13: 1703—1711. 1968.

† 国立真珠研究所業績 No. 173.（国立真珠研究所報告13：1703—1711．昭和43年7月）

ある。また，一たんこのような異常環境が出現した場合には，水没堰堤が内外の海水交流を阻止しているために，回復に長時日を要する地域である。今回の水中堰堤爆破除去は堰堤内の底層流を促進し，漁場改良を図る目的で行なわれたものであるので，この効果を検討するために，堰堤除去前後における堰堤内部の底層の流速の比較と堰堤除去後における堰堤内外の環境海水および底泥の諸化学成分の比較を行なった。



第1図　風ケ崎浦観測点略図

観測項目および分析方法は次のとおりである。すなわち，流速はサーミスター微弱流速計（K.K.芝浦電子製作所製・無指向性）を用い，第1図に示した観測点3・4の中間で24時間連続記録を行なって比較した。環境海水および底泥は，第1図に示した3・4・5の観測点で1967年5月から11月まで毎月1回試料を採取し分析に用いた。海水の溶存酸素量はウィンクラー法により分析した。底泥はナウマン採泥器を用いて柱状に採泥し，上層部の浮泥層およびその下層部について有機物量・フェオフィチン量・過マンガン酸カリ消費量・溶存酸素消費量を求めた。有機物量はクロム硫酸による簡易滴定法[3]によって定量した。底泥のフェオフィチン量は，底泥のアセトン抽出液から比色により求めた[4]。また，底泥の過マンガン酸カリ消費量は荒川・新田[5]の方法によったが，その表現は消費した過マンガン酸カリの重量で表わした。底泥の溶存酸素消費量は奥田・加藤[6]の方法によったが，約350 ccの容器に3g内外の新鮮泥をとり20時間放置後の酸素消費量を乾燥泥1g当りに換算して表わした。

実験結果

水没堰堤爆破除去前後の堰堤内部の底層附近の流速の比較

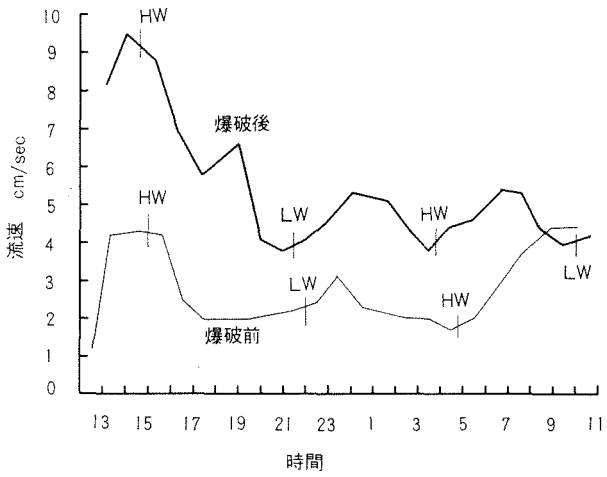
水没堰堤の爆破除去の目的は，湾内の底層流の促進にあるので，その効果を検討する手段として爆破前後の湾内の流速を第1図で示した観測点3・4の中間で測定した。風ケ崎浦のような英虞湾の奥部の地域では，流速が微弱で普通に用いられる流速計では測定が不可能であるので，微弱な流速が測定できるサーミスター微弱流速計を用いた。この流速計は0～10 cm/sec.の流速の測定が可能なものであるが，測感部はアコヤガイを中心とする海水の動きを知る目的のために無指向性になっており，船の運航や養殖筏附近での作業による振動が加えられた時は，これらが海水の水平的な動きに加えられて実際の流速値よりも大きく現われることがある。

測定は堰堤内部の中層以下の海水の動きをみるために養殖筏から測感部を吊り下げ，堰堤内部の平均水深が高潮時で約3mであるので2m層の流速を測定した。すなわち，爆破除去前は1967年1月24日から25日まで，爆破除去後は除去前と潮汐および潮高の比較的類似した3月23日から24日まで測定を実施した。測定方法はサーミスター流速計に自記記録装置を接続し1分間に6回の打点記録で24時間連続記録し，その測定結果を各時間ごとの平均流速値として算出し比較した。測定結果は第1表および第2図に示したとおりである。水没堰堤爆破前においては，堰堤内部の流速は流潮時と停潮時との間に大きな変化は認められず，平均流速が1.2～4.4 cm/sec. の間を変化しているに過ぎず，全測定時間の流速の平均値は2.8 cm/sec. であった。これにくらべて爆破後は流速の変化がかなり大きくなっ

第1表　水没堰堤爆破除去前後の流速の比較

爆破前 1月 24—25日		爆破後 3月 23—24日	
時刻	流速	時刻	流速
h m h m	cm/sec	h m h m	cm/sec
13 04—14 04	1.2	13 45—14 45	8.2
14 04—15 04	4.2	14 45—15 45	9.5
15 04—16 04	4.3		
HW 16 04	143 cm	HW 15 45	145 cm
16 04—17 04	4.2	15 45—16 45	8.8
17 04—18 04	2.5	16 45—17 45	6.9
18 04—19 04	2.0	17 45—18 45	5.8
20 06—21 06	2.0	19 28—20 28	6.6
21 06—22 06	2.1	20 28—21 28	4.1
22 06—23 06	2.2	21 28—22 28	3.8
LW 23 06	−2 cm	LW 22 28	10 cm
23 06—00 06	2.4	22 28—23 28	4.1
00 06—01 06	3.1	23 28—00 28	4.5
01 06—02 06	2.3	00 28—01 28	5.3
02 57—03 57	2.0	01 59—02 59	5.1
03 57—04 57	2.0	02 59—03 59	4.3
04 57—05 57	1.7	03 59—04 59	3.8
HW 05 57	146 cm	HW 04 59	153 cm
05 57—06 57	2.0	04 59—05 59	4.4
06 57—07 57	3.0	05 59—06 59	4.6
07 57—08 57	3.7	06 59—07 59	5.4
09 27—10 27	4.4	07 51—08 51	5.3
10 27—11 27	4.4	08 51—09 51	4.4
		09 51—10 51	4.0
LW 11 27	76 cm	LW 10 51	53 cm
		10 51—11 51	4.2
平均値	2.8	平均値	5.4

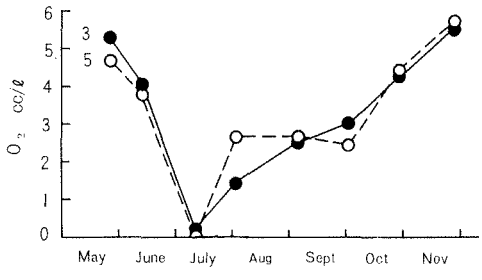
ているのが認められ，1時間当りの平均流速が 3.8 ～ 9.5 cm/sec. と大きな変動を示し，全測定時間の平均流速は 5.4 cm/sec. という爆破前の約1.9倍の値を示し，堰堤除去後の内部の底層水の動きが活発になっているのが認められた。なお，第2図において，爆破前の平均流速値が測定の最後に高い値を示しているのは，爆破前の準備のために測定地点の養殖筏の上で行なわれた作業による振動が加わったものと推定される。



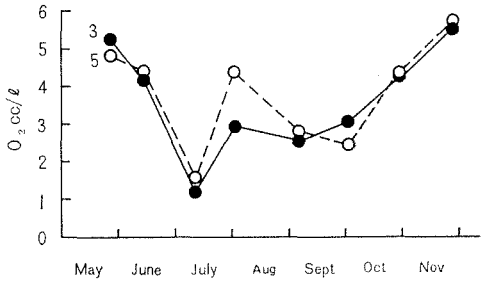
第2図　風ケ崎浦水没堰堤爆破前後の堰堤内部の2m層の流速（無指向性流速計による）

水没堰堤爆破除去後の堰堤内外の底層水の溶存酸素量の比較

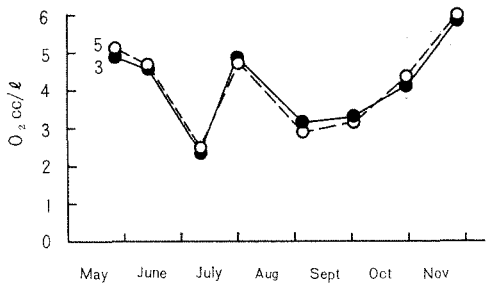
前述のように爆破除去後の堰堤内部の底層の流速は爆破前にくらべると約1.9倍も促進されたことが明らかとなったが，この結果当然堰堤内部の環境水にも変化が起こることが考えられる。堰堤除去前の詳細な観測は実施されていないが，経験的に，毎年初夏から堰堤内部の貝の垂下層である2m以下の水深では常に貧酸素状態に陥り，養殖貝の生育に悪影響を与えるだけでなく，たびたび無酸素状態の形成や硫化水素の出現の危険性のあるところであるので，堰堤除去後の環境水の変化の状態を観測するために溶存酸素量を指標として堰堤内外の環境水の季節的変化を観察した。観測点は第1図に示した3・5の地点であるが，観測点3は枝湾内部の屈曲点にあたり，海水の停滞しがちな最も環境の悪いと見なされる地点である。観測結果は第3・4・5図に示したとおりである。第3図は風ケ崎浦の底層の溶存酸素量の季節的変化を示したものである。堰堤外の観測点5では底層の溶存酸素量は6月下旬から急速に減少し7月中旬にはほとんど無酸素状態に陥るが，その後回



第3図　風ケ崎浦の底層の溶存酸素の季節的変化



第4図　風ケ崎浦の底層附近（3m層）の溶存酸素量の季節的変化



第5図　風ヶ崎浦の2m層の溶存酸素量の季節的変化

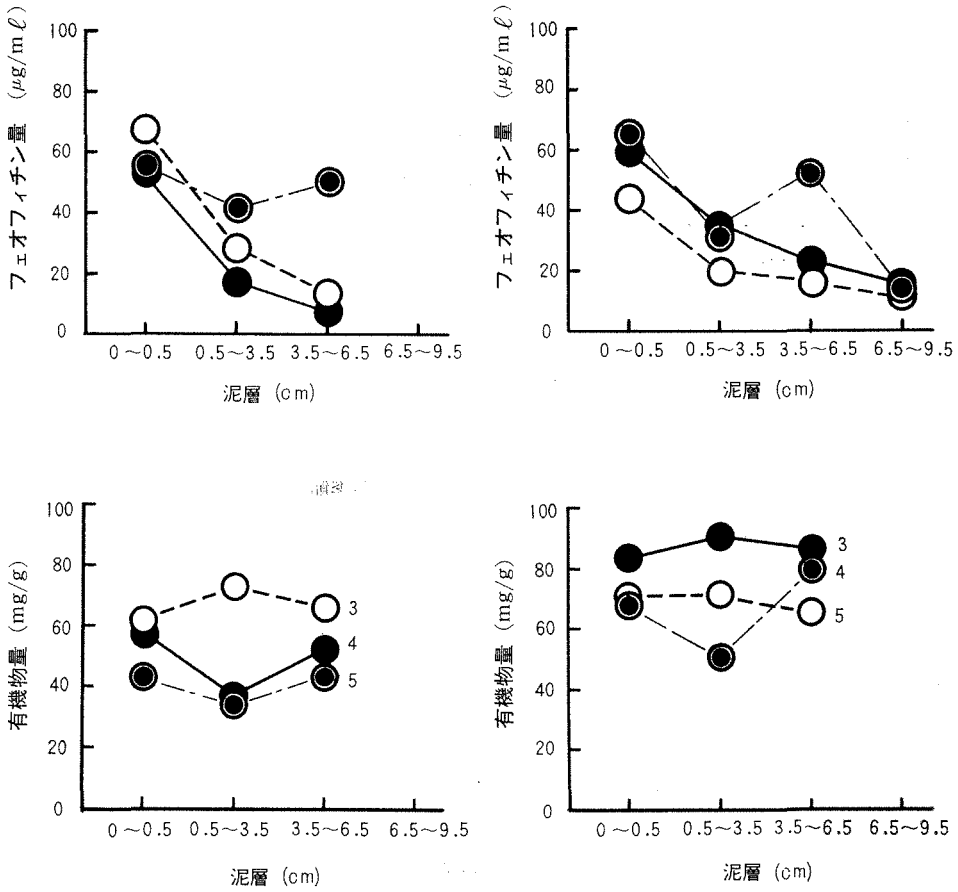
復して9月中旬まで3cc/ℓ以下の貧酸素状態を示す。しかし，水温の降下する10月以後は次第に回復して正常の値にもどっていくのが認められる。堰堤内部の最も水が停滞しがちな観測点3の底層水では，堰堤外と同様に7月中旬には無酸素化しているが，その回復が観測点5にくらべて僅かにおくれる以外はほとんど同じ季節的消長を示しているのが認められる。また，底層から少し上層の水深3mの層では，第4図に示したように7月中旬の底層が無酸素化している時期でも1.5cc/ℓ前後の溶存酸素量を示している。さらに上層部の養殖貝の垂下層である水深2mになると7月中旬に一時2.5cc/ℓの低い溶存酸素量を示すが，全観測期間中養殖貝の生育に悪影響を与える程の貧酸素状態は現われず，また堰堤内外の溶存酸素量の差異が全く認められなかった。実際に7月上・中旬には，附近の枝湾では養殖貝の垂下層の溶存酸素量が極度に低下し，被害を受けたところやあるいは他の海域へ養殖貝の避難を実施したところがあったが，堰堤内部の漁場ではこれが原因すると考えられる貝の斃死は全く認められなかった。うに風ヶ崎浦における水没堰堤の爆破除去は環境水特に底層水の交流を向上させ堰このよ堤内外の環境条件を同一にしたものと考えられる。

水没堰堤爆破除去後の堰堤内外の底泥の化学成分の比較

老化漁場における物質循環の異常の起こる第一の場は漁場の底泥である。すなわち，その漁場に特有な養殖密度を越えて使用された場合，養殖貝からの排泄物や貝の附着物の残骸が海底に多量に落下し，その結果底泥中の有機物量の蓄積が増加していく。蓄積された有機物の腐敗や分解作用には海水中の溶存酸素が多量に消費されていくので，海水交流の悪い海域では酸素の補給が少ないために急激に貧酸素状態が形成されていくと考えられる。したがって底泥中の有機物量の多寡は，漁場の過密度合あるいは漁場老化の度合を知る指標となるものである[7]。一方真珠養殖に用いられるアコヤガイの餌料の大半を環境水中に生育している硅藻類と考えると，貝に摂取された硅藻類中のクロロフィルは体内で分解されてフェオフィチンとなって排泄され底泥へ落下蓄積することが認められているので，底泥中のフェオフィチン量もまた一応他からの底泥への補給経路が考えられるとしても，有機物量と同様に指標の一つとなると考えられる。

風ヶ崎浦の場合，浦の中央部に水没していた堰堤の爆破除去は堰堤内外の環境水の差をなくしたことを観察したが，これが底泥の改良にどれ程効果を及ぼしたかを知るために，堰堤内外の底泥中の有機物量とフェオフィチン量を中心とする季節的変化を求めた。

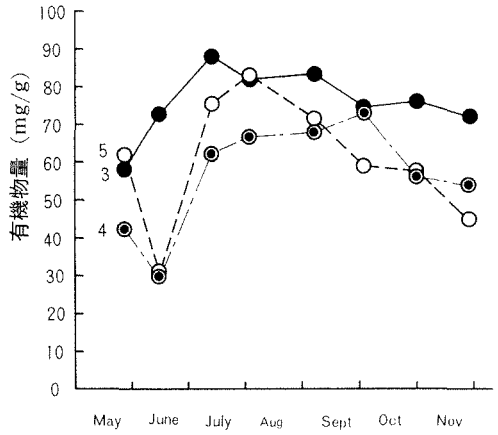
第6図は風ヶ崎浦の底泥のフェオフィチンおよび有機物の含有量を泥層別に比較したものである。観測初期の5月26日では，観測点3・5のフェオフィチン量は泥層が深くなるにつれて減少しているが，堰堤のすぐ内部である観測点4では逆に下層部で増加している



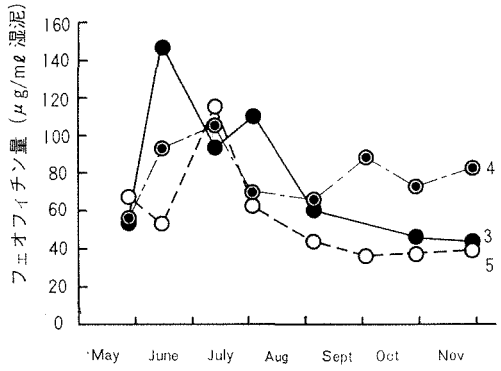
第6図　風ケ崎浦の底泥のフェオフィチン量および有機物量の泥層別の比較

のが認められる。この時期は真珠養殖の季節に入った直後であるために底泥への有機物量の蓄積は少なく，フェオフィチンにおいて認められたような観測点4の特異な現象は示されていない。9月5日の観測例ではフェオフィチンおよび有機物量の蓄積が顕著に現われており，観測点4の泥層3.5～6.5 cmが強く汚染されているのが認められる。このことは，観測点4が堰堤爆破現場の近くであり，爆破による海底攪拌の結果で上層の浮泥層が飛散し，従来の0.5～3.5 cmの泥層が露出してその上に攪拌混合された附近の底泥が2～3 cmの厚さに落下して沈積した結果と考えられる。

第7・8図は風ケ崎底泥の浮泥層の有機物量およびフェオフィチン量の季節的消長を示したものである。浮泥層は底泥のごく上層部であるので蓄積や分解の変遷が激しく，また漁場の合理的な利用による使用度合の差で著しい変化を示すので，図からは規則正しい消長は認められないが，特に条件の悪いところと考えられる観測点3を除いて考察すると，観測初期の初夏までは水中爆破による底泥の攪拌で浄化効果の強く現われたことが認めら



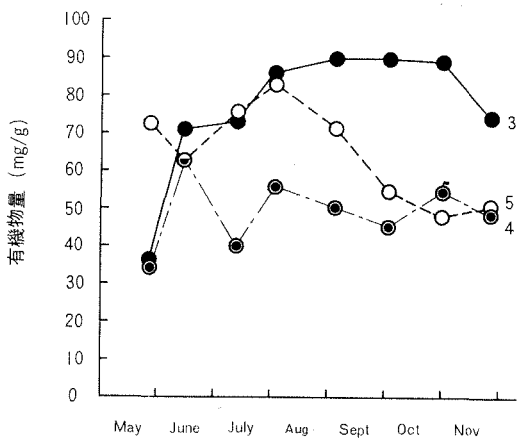
第7図　風ケ崎浦の底泥の有機物量の季節的変化（泥層 0～0.5 cm）



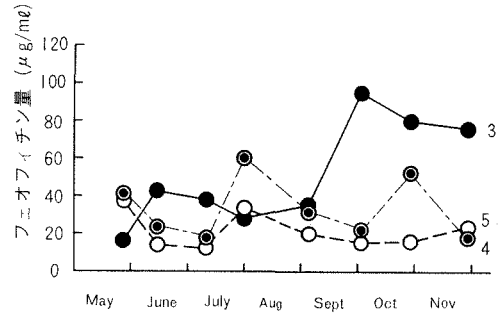
第8図　風ケ崎浦の底泥のフェオフィチン量の季節的変化（泥層 0～0.5 cm）

れる。その後は，各観測点における養殖筏の使用度合等の相違で各成分の季節的消長が複雑に変化している。

これをさらに下層部の 0.5～3.5 cm 層についてみると第9，10図に示したようになる。この層では浮泥層のように他からの直接の影響が認められず，堰堤爆破後の底泥中の有機物量およびフェオフィチン量の季節的変化が明瞭に示されている。観測点3のような環境条件の悪いところでは，漁場が使用されると共に底泥中の有機物量やフェオフィチン量が蓄積されていくが，堰堤内外の4・5の観測点では初秋からの底泥の浄化作用が強く現われて夏季に蓄積された有機物やフェオフィチンが分解されたりあるいは流出して徐々に減少し，観測末期の11月ではすでに堰堤内外の量差が認められなくなることから，水没堰堤



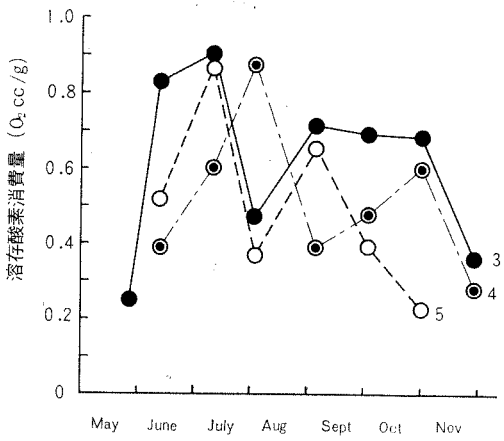
第9図　風ケ崎浦の底泥の有機物量の季節的変化（泥層 0.5～3.5 cm）



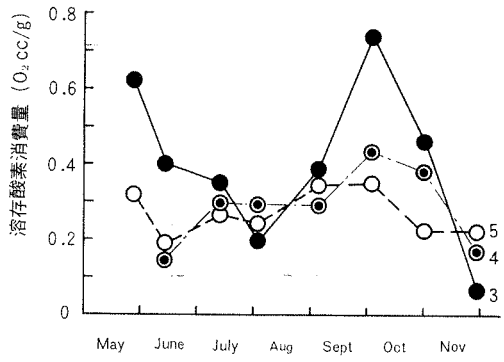
第10図　風ケ崎浦の底泥のフェオフィチン量の季節的変化（泥層 0.5～3.5 cm）

の爆破除去は環境海水だけでなく底泥の改良にも効果を及ぼし，堰堤内外の環境の差をなくしたものと考えられる。

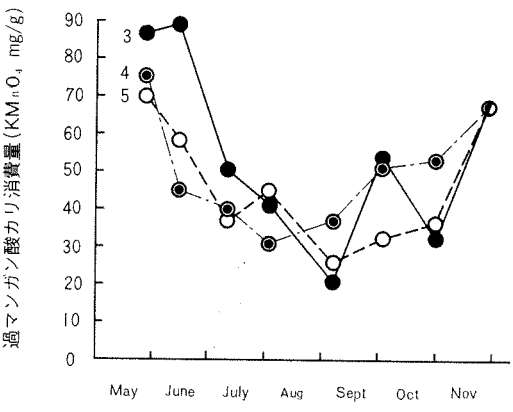
このことは，さらに第11，12図に示した底泥の溶存酸素消費量にも認めることができる。溶存酸素消費量の持つ意味は必ずしも明白であるとはいえないにしても，底泥の硫化物量と密接な関係を持つことが認[1]められており，特に底泥の浮泥層の溶存酸素消費量は底層水の貧酸素化と関連の深いものである。第11図は浮泥層の溶存酸素消費量の季節的変化を示したもので，前述の有機物量やフェオフィチン量のように規則的な季節的消長を示していないが，第12図に示したやや下層部の泥層での溶存酸素消費量は，条件の悪い観測点3では不安定な変化を示しているのに比べて，堰堤内外の観測点では一般に低い値を示しており，水没堰堤の爆破除去によって堰堤内部の底泥も著しく浄化されたことがうかがわれる。



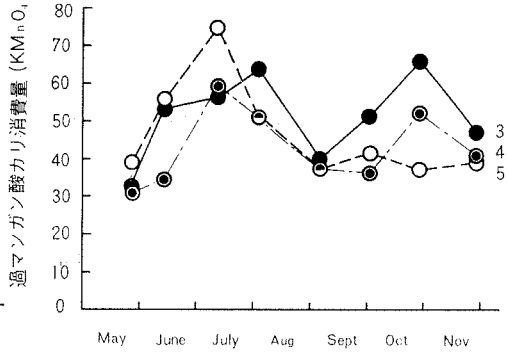
第11図　風ケ崎浦の底泥の溶存酸素消費量の季節的変化（泥層 0～0.5 cm）



第12図　風ケ崎浦の底泥の溶存酸素消費量の季節的変化（泥層 0.5～3.5 cm）



第13図　風ケ崎浦の底泥の過マンガン酸カリ消費量の季節的変化（泥層 0～0.5 cm）



第14図　風ケ崎浦の底泥の過マンガン酸カリ消費量の季節的変化（泥層 0.5～3.5 cm）

第13，14図は堰堤内外の底泥の過マンガン酸カリ消費量の季節的変化を示したものであるが，図からも明らかなように，有機物量やフェオフィチン量の季節的変化に認められたことは逆に水没堰堤の爆破除去後の底泥の改良効果を示す指標ではないと考えられる。むしろ蓄積された底泥の有機物の分解過程を示すものと考えられ，その消長もすでに報告[7]したように底泥の有機物量の季節的消長と逆の傾向にあることを図からも顕著に認められる。

以上の研究結果から，風ヶ崎浦における水没堰堤の爆破除去除去は，堰堤内の底層の海水交流を促進し環境海水や底泥の改良をもたらしたと考えて差支えはなかろう。実際に水没堰堤の除去以前では，降雨時に湾奥部からの流出する濁水が堰堤内部に停滞し，その流出に数日を要したが，現在では短時間のうちに濁水が流出する事実からみてもその効果は明白であろう。しかし，ただこの程度の土木工事では，枝湾特有の生産性を越えた改良が行なわれたとは本研究の結果からは認められないが，この水中爆破除去が1 kg の爆薬で1 m^3 の水中障害物を除去できる可能性を示したことから，将来このような工法の改良研究によって，比較的安価に漁場改良が行なえるものと考えられる。

要　　約

1. 真珠養殖漁場内に存在する水没堰堤の爆破除去後の堰堤内部の漁場改良効果を検討した。

2. 水没堰堤の爆破除去は堰堤内部の底層流の促進にあるが，観測の結果堰堤内部の底層流は除去前の約2倍に向上した。

3. 水没堰堤除去後の堰堤内部の環境水は堰堤外部と同様に向上したことを溶存酸素量の季節的変化から確認した。

4. 水没堰堤除去後の堰堤内部の底泥は堰堤外部と同様に向上したことを，底泥の有機物量およびフェオフィチン量の季節的変化から確認した。

文　　献

1) 澤田保夫・谷口宮三郎　1967. 真珠養殖漁場の養殖海洋学的研究Ⅳ. 老化漁場における底質の性状とその改良方法の一例について. 国立真珠研報　12：1379—1408.

2) 国立真珠研究所・京都大学工学部資源工学教室　1967. 真珠養殖漁場における水中障害物の爆破除去に関する研究（第1報）国立真珠研報　12：1455—1487.

3) Chemical Method of Soil Analysis. Assembled and eddited by H.J.Atkinson, G.R.Giles. A.J.MacLean and J.R.Wright. Contribution No. 169. Chemistry Divsion-Science Service. Canada Department oJ Agriculture. OTTAWA. 1958.

4) 澤田保夫・上野福三　1966. 海底泥およびアコヤガイの排泄物のアセトン抽出物について　Ⅰ. アセトン抽出物の吸収曲線. 国立真珠研報　11：1298—1307.

5) 荒川清・新田忠雄　1943. 工場廃水の研究第1報（8）海底泥の分析法に関する研究. 内海区水研報告第3号：27-32.

6) 奥田泰造・加藤健司　1952. 海洋底質の化学的研究（5）海底土による海水溶存酸素の消費作用について. 北大水産学部研究彙報第2巻第4号：281—291.

7) 澤田保夫・谷口宮三郎　1965. 真珠養殖漁場の養殖海洋学的研究　Ⅲ. 老化漁場における海水ならびに底質の性状の季節変化について. 国立真珠研報　10：1213—1227

爆薬を利用した真珠養殖漁場の底質改良に関する研究*,†)

澤田保夫・谷口宮三郎
国立真珠研究所
若園吉一・小川輝繁・中野雅司
京都大学工学部資源工学教室

最近，産業火薬の用途はかなり拡大されてきており，特に従来の土木・鉱山における火薬の利用以外に水中での爆破が盛んに研究されるようになってきた。すなわち，我が国においては，海岸線の複雑なところが多く，そのために港湾の浚渫や船舶航路の拡張などに水中爆破の利用が要求されてきている。

これに関連して，著者らは1967年に三重県英虞湾奥部の風ケ崎浦で漁場内に存在する水中障害物の爆破除去を実施したが[1]，この水中爆破によって漁場の底泥が激しく攪拌されることを認め，爆薬を利用した海底耕耘の研究を開始した。

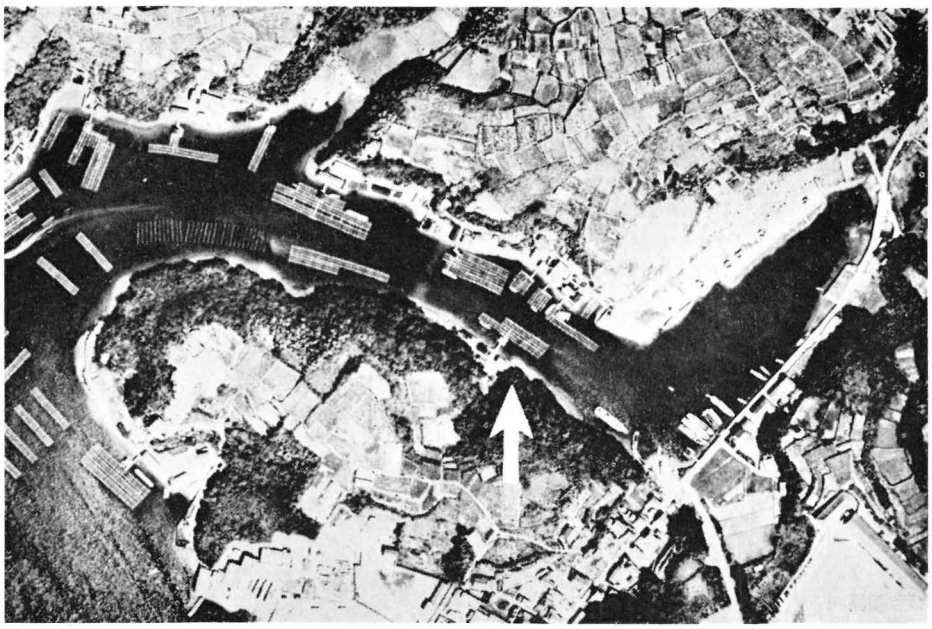
我が国独自の産業である真珠養殖においては，最近真珠の生産性の低下が顕著になり，この原因の一つとして漁場老化の問題が検討されている。漁場老化による生産性の低下は，漁場内の物質循環の異常によるものと考えられ，特に底泥の異常が問題とされて，異常環境水の流出を図るために底層水の交流促進を目的とした漁場内の水中障害物の除去や底泥の耕耘が考えられ，特に底泥の耕耘はその効果が約1か年持続することを認めている[2]。

本研究は，この耕耘を火薬の力を利用して漁場の底泥を攪拌し還元泥の酸化をねらったものである。先ず予備実験として1967年3月に三重県英虞湾船越地区の風ケ崎浦の水没堰堤の爆破除去を実施した直後に，同浦内で，3号桐ダイナマイト・ANFO爆薬・コーズマイト23号などを使用して，これら爆薬の耕耘効果の検討を行ない，同年12月に同じ船越地区の野沖浦において3号桐ダイナマイトを用いて爆破耕耘を行なった。

風ケ崎浦における爆破耕耘

風ケ崎浦は第1図に示したような，英虞湾内の最奥部の枝湾である。爆破耕耘を実施した場所は，湾中央部より内部の第1図の矢印で示したところである。耕耘効果の良否を検討

* Yasuo Sawada, Miyasaburo Taniguchi, Yoshikazu Wakazono, Terushige Ogawa and Masashi Nakano. Studies on the explosion ploughing of the bottom mud in the superannuated pearl culture ground. Bull. Natl. Pearl Res. Lab. 13 : 1241—1247. 1968.
† 国立真珠研究所業績 No. 174.（国立真珠研究所報告 13：1712—1718. 昭和43年7月）

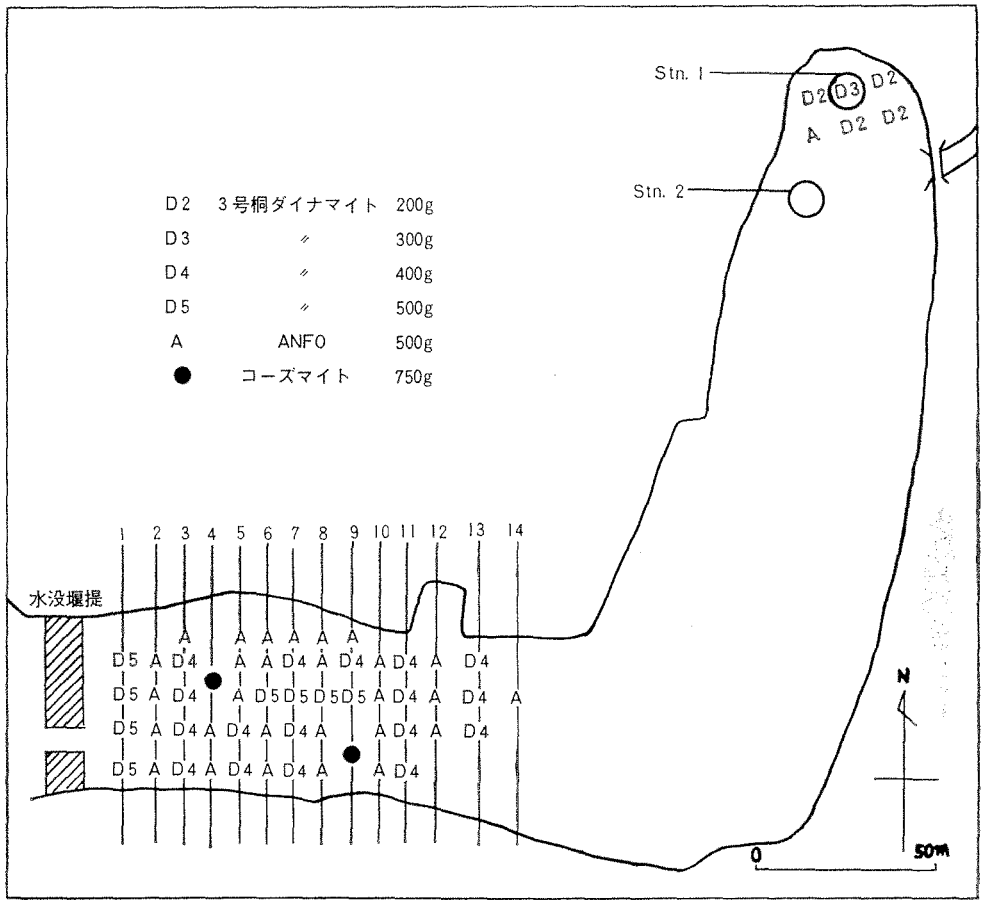


第1図　風ケ崎浦爆破耕耘現場（三重県水産真珠課提供）

するために使用した爆薬は，3号桐ダイナマイト・ANFO爆薬・コーズマイト23号の3種である。3号桐ダイナマイトは 100 g の薬包を束にしてポリエチレン袋に入れ，ビニールテープを用いて密閉し使用した。コーズマイト23号は 750 g の円筒形に成形されたものを使用した。また，ANFO 爆薬は薬量500gを直径約 8 cm 高さ約20 cm のブリキ缶に挿入するかあるいはポリエチレン袋に入れて使用し，いずれの場合も原則として電気爆破を行なった。さらに爆破耕耘の間隔を一定にするために爆破母線は両岸から張った直径 1.5 cm のナイロンロープに添わせ，なるべく真珠養殖筏を浮かせる予定の場所に集中して爆破耕耘を行なった。これらの爆破の概要は第2図に示したとおりである。第2図の中で湾の最奥部に示された爆破耕耘の地点は，河川の流出経路の外側に位置する水の停滞するところであり，特に爆破耕耘の効果を観察するために便利であると思われるので選んだ。

爆破耕耘は底泥の攪拌を目的とするので，爆薬の海底からの距離が底泥の攪拌効果に及ぼす影響を知るために，先ず爆薬を海底から 0 cm・25 cm・50 cm・100 cm の各位置で爆発させ，海面に浮上してくる底泥からの濁りの広さで適当な爆薬の位置を求めた。この結果，耕耘の目的には爆薬を海底に置くことが最も良好な効果のあることが判明したので，耕耘の実施はすべて爆薬を底着させる方法を用いた。なお，コーズマイト23号は，予備爆破後の採泥結果から耕耘には適当でないと判断したので，第2図に示した2か所に使用しただけに止めた。

爆破耕耘の効果の判定は，耕耘前後に爆破地点の底泥をナウマン採泥器で柱状に採泥し，底泥の浮泥層（0～0.5cm）とその下層部の有機物量[3]およびフェオフィチン量[4]を分析し



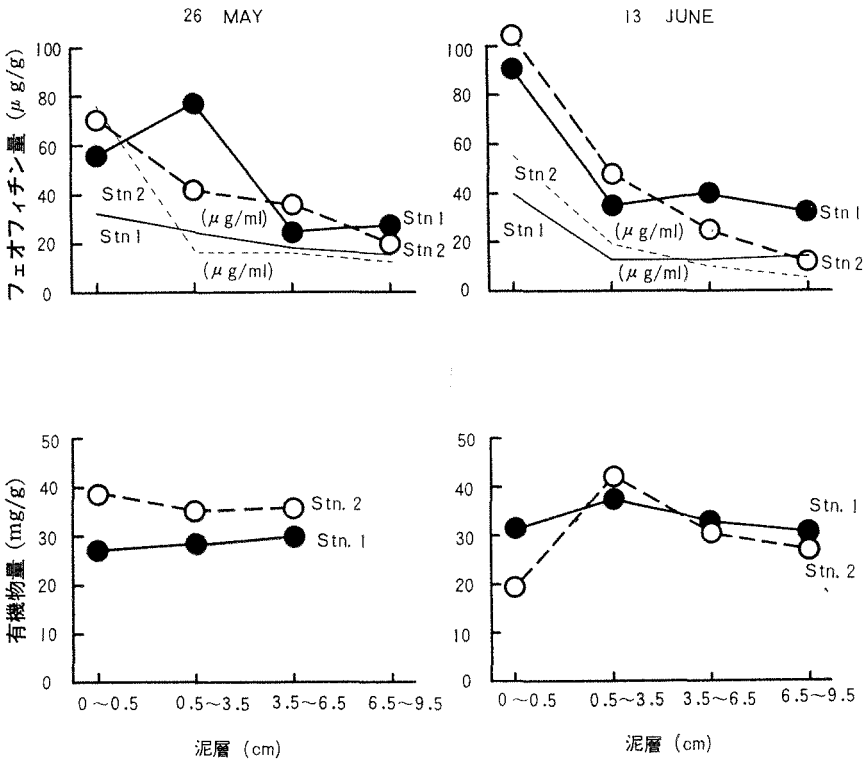
第2図　風ケ崎浦の爆破耕耘実施図

て比較した。

第1表は，3号桐ダイナマイトを用いて爆破耕耘を行なった場合は ANFO の爆薬を用いた場合の耕耘効果の比較を行なったものである。表からも明らかなように，底泥の浮泥層における有機物量およびフェオフィチン量が爆破後に減少することが認められ，爆破による耕耘効果が顕著であることを示している。風ケ崎浦で実施した爆破耕耘は爆薬のみを耕耘に用いたことや爆薬を海底に設置したことなどが原因となって，耕耘後の海底に直径約1m・深さ約 30 cmの窪みを生じたので耕耘としては必ずしも良好な方法とはいえない。このために，爆破効果の確認時に採泥器が窪みの中央部を突くかあるいはその外周部を採泥するかによって分析結果に大きな影響を与えるものと考えられる。第1表の3号桐ダイナマイトの耕耘前後における 0.5～3.5 cm の泥層の分析値が耕耘後高くなっているのは，上述の原因によるものと考えられる。また耕耘面積は，海面上に浮上する底泥からの濁りの広さで判定した場合，ダイナマイトを用いる方法が ANFO 爆薬より幾分広いことを認

第1表　爆破耕耘前後の風ケ崎浦底泥の化学成分
（ダイナマイトと ANFO の比較）

		泥層 cm	フェオフィチン量 μg/g	有機物量 mg/g
3号桐ダイナマイト 500g	耕耘前	0～0.5	81.0	71.8
		0.5～3.5	20.0	55.6
		3.5～6.5	——	47.1
	耕耘後	0～0.5	53.0	58.0
		0.5～3.5	40.0	52.4
		3.5～6.5	61.2	43.1
ANFO	耕耘前	0～0.5	87.0	85.3
		0.5～3.5	50.5	55.4
		3.5～6.5	20.3	45.4
	耕耘後	0～0.5	60.0	59.5
		0.5～3.5	14.2	39.2
		3.5～6.5	——	31.1



第3図　風ケ崎浦の爆破耕耘による底泥の変化

めた。

第3図は，第2図に示した浦の最奥部の耕耘前後の底泥を比較したものである。採泥場所は水深が約1mの浅いところであるので，耕耘場所の stn. 1 では耕耘によって生じた窪みの外周を船上から確認しながら採泥した。stn. 2 は stn. 1 から約 50 m 離れた未耕耘の地域である。この附近はアマモの密生しているところであるが，爆破耕耘後は爆破地点一帯にはアマモの繁殖が認められなくなったので，アマモの繁殖内部を stn. 2 として耕耘効果を比較した。採泥は耕耘後約2か月経過した後に行なわれたが，底泥のフェオフィチン量および有機物量が顕著な耕耘効果のあったことを示している。特に底泥のフェオフィチン量では底泥の単位体積当りの量に換算した第3図の細線で明白に認められる。しかしながら，風ケ崎浦の場合には，耕耘による底泥改善効果と水没堰堤の爆破除去による漁場内の底層流の促進効果が重なっているため，この浦において耕耘効果の程度を判定することは困難であった。

野沖浦における爆破耕耘

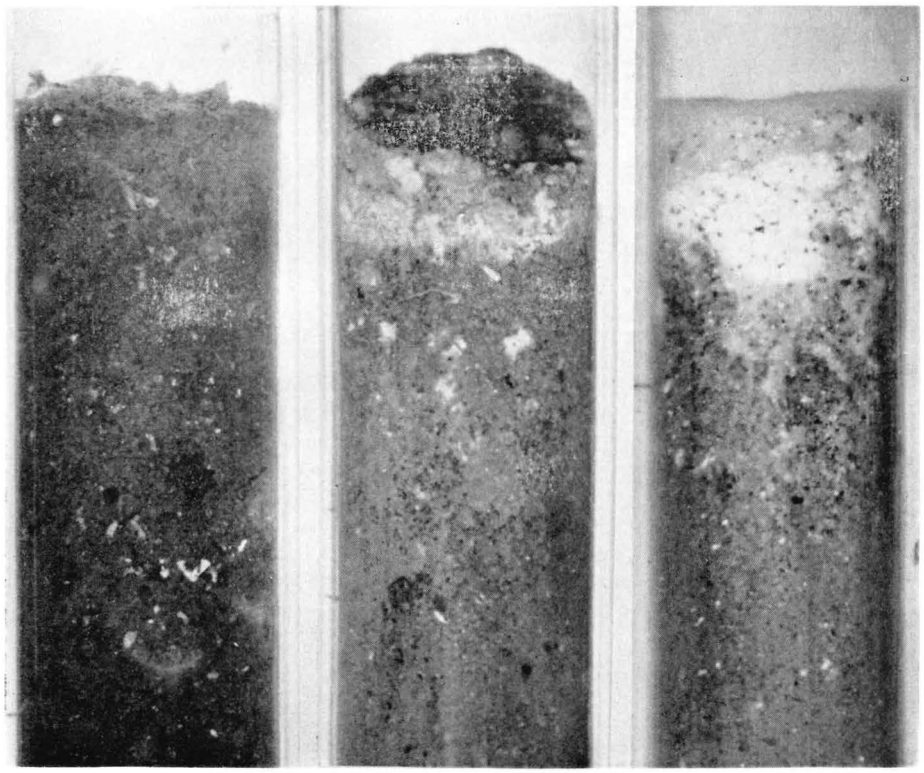
風ケ崎浦における耕耘の結果から，爆薬による耕耘は効果のある方法と認められたので，1967年12月6～23日にわたって船越地区の野沖浦で爆薬による耕耘を実施した。耕耘を実施した場所は，第4図に示した点線内部の枝湾である。全耕耘面積は約69.000 m^2 で 12m 平方間隔に爆薬一包の割で爆破耕耘を実施した。

使用した爆薬は日本油脂製3号桐ダイナマイトで，これを500 g（100 g の薬包5本）の束にして，15 kg 入の石灰の袋に挿入して耕耘に用いた。石灰を使用した理由は，火薬力を

第4図　野沖浦爆破耕耘現場（三重県水産真珠課提供）

利用して漁場の底泥を攪拌し耕耘すると共に，石灰を微細な粒子にして泥層中に均一に飛散させ底泥改善の効果をねらったものである。雷管は日本化薬製の脚線長10mの6号電気雷管を使用した。爆破母線は風ケ崎浦の場合と同様に両岸からナイロンロープを張り，特に巾の広い場所では中間に真珠養殖筏を設置して，この上に組んだ三角叉で両岸に横断しているナイロンロープを持ち上げるようにして結線部の水没を防止した。また，結線部はビニールテープを充分に巻き防水を期した。使用した発破器は50発掛のもので，完爆を期すために爆破数は発破器の容量の60%とし，一回の爆破耕耘は30発を限度として実施した。

耕耘前後の採泥結果は，第5図に示したとおりである。左端は耕耘前の底泥で上部に浮泥の沈積している様子がうかがえるが，耕耘後では浮泥層が認められず上部に石灰の沈積が多量に存在するのが認められる。同様の現象は爆破地点から5mの距離で明瞭に認められることから，爆破耕耘は少なくとも10m平方以上に及んでいるものと考えられ，今回の12m平方の間隔で実施された耕耘は，充分に湾内の全域に及んだものと思われる。また，従来の石灰散布は，船上から散布あるいは袋のままで投入されており均一に海底に散布することは不可能であったが，爆破耕耘では周囲の底泥に石灰が飛散していることが認めら



耕耘直前　　耕耘直後

第5図　野沖浦における爆破耕耘前後の底泥の比較

れ，また石灰の併用は爆破後に海底の窪みを作らないことなど底泥改良に有効な方法であることが判明した。

結　　言

真珠養殖における漁場老化の改善方法の一つである耕耘は，従来船で桁網などを曳きまわし底泥を攪拌する方法がとられてきたが，この方法では多大の労力を必要とする上に，底泥を均一に耕耘することが困難であった。今回実施した爆破耕耘はこれらの欠点を補って充分に耕耘効果が期待できる方法であることが認められた。底泥の耕耘は，真珠養殖における漁場老化の問題だけでなく，養蠣や養魚においても必要と考えられることであるので，爆薬を利用した耕耘法は爆薬の応用方法の一つとして興味深いことであるだけでなく，これら沿岸漁場の老化改善に対する有効な手段と考えられる。現在のところ，爆薬を利用した耕耘は実験段階であるために，真珠養殖筏1台当りの負担額は約1000円となっているが，今後は爆薬のプラスチック成型化などによる操作の省力化と経費の低減などの研究を進めんとしている。

要　　約

1.　真珠養殖漁場の漁場老化の改良法として爆薬を利用した漁場底泥の爆破耕耘を実施した。

2.　耕耘前後の底泥中の有機物量およびフェオフィチン量の比較から，爆破耕耘は有効な底泥改良方法であることを認めた。

3.　3号桐ダイナマイト 500 g と石灰 15 kg を併用した爆破耕耘では，耕耘範囲が10m平方以上に及ぶことを認めた。

文　　献

1)　国立真珠研究所・京都大学工学部資源工学教室　1967. 真珠養殖漁場における水中障害物の爆破除去に関する研究（第1報）. 国立真珠研報 12：1455—1487.

2)　澤田保夫・谷口宮三郎　1967. 真珠養殖漁場の養殖海洋学的研究　Ⅳ. 老化漁場における底質の性状とその改良方法の一例について. 国立真珠研報 12：1379—1408.

3)　澤田保夫・谷口宮三郎　1965. 真珠養殖漁場の養殖海洋学的研究　Ⅲ. 老化場漁場における海水ならびに底質の性状と季節変化について. 国立真珠研報 10：1213—1227.

4)　澤田保夫・上野福三　1966. 海底泥およびアコヤガイの排泄物のアセトン抽出物について. Ⅰ. アセトン抽出物の吸収曲線. 国立真珠研報 11：1298—1307.

アコヤガイの飼育餌料としての米粉末について*

桑谷幸正・西飯 保**

(1967年10月19日受理)

On the Rice Powder as a Diet of the Pearl Oyster

Yukimasa KUWATANI and Tamotsu NISHII**

A series of experiments on the rice powder as the diet of the pearl oyster were made with special reference to the sedimenting velocity and the frequency distribution of size of the particles of rice powder, their distribution and sedimenting rate in culture vessels, and the feeding rate and growth of the oyster.

1. In the rice powder which was made by soaking grains of rice for one day in distilled water and pulverizing them with a homogenizer, about 85% (in weight) of the raw material was available as the diet of oyster. The 15% loss may be a total of the embryos which are not easily broken, the moisture lost during powdering and drying and a part of the soluble components (Table 1 and 2).

2. From the velocity of sedimentation, the size of most (about 90% in weight) of the particles prepared as stated above was calculated to be under 10 μ in diameter. These particles took one hour or more to sediment 10 cm in sea water (σ_{15} 1.025). Particles less than 5~6 μ (about 4 hours to settle) account for 60% of the total (Table 2, 3 and Fig. 1).

3. Particles suspended from the surface to a depth of 10 cm were removed by filteration and dried. The actual size of these particles measured 2~10 μ in diameter, averaging 5.3 μ immediately after preparation of suspension and 4.5 μ after 5 hours (Fig. 2 and Table 4). These observations show that the rice powder may be suitable in respect of size as a diet for the pearl oyster.

4. The distribution of rice powder particles in two vessels, CV and FOV in a re-circulating rearing system shown in Fig. 3, became approximately similar (51.5 : 46.0% in weight of the total particles added) 20 minutes after the beginning of circulation and almost the same (49.0 : 48.5%) after 40 minutes. The diminution of the amount of suspended particles due to sedimentation in this rearing system amounted to only 11.5% after 4 hours (Table 5 and Fig. 4). These results suggest the possibility that almost all of the rice powder particles supplied may be utilized by pearl oysters in this type of culture equipment.

5. Additional experiments using 7 culture equipments of the same type and 56 full 1-year-old pearl oysters (7 groups of 8 animals each) which had been reared on diets of various quantities of rice powder for 56 days before experiments were conducted as follows: Each group of oysters was supplied with rice powder of the same quantities as in the rearing period (20~200 mg/time; twice a day, a. m. and p. m.) and the amount of the rice powder suspended in the water of the culture vessels were determined at an interval of 1 hour for 5 hours. Starch content was taken as a measure of the amount of rice powder. The diminution rate of rice powder varied depending on the quantity of diet given. When 120 mg was supplied, the rice powder was diminished more rapidly than in case of other quantities (Table 6, Fig. 6 and Table 7, Fig. 7).

6. The starch content of the substances sedimented on the bottom of the culture vessels was measured after 4 hours. By deducting the amounts of rice powder remaining suspended in the water and sedimented one from the quantity supplied at the beginning, the feeding

* 国立真珠研究所業績第157号 (Contribution No. 157 from National Pearl Research Laboratory)

** 国立真珠研究所 (National Pearl Research Laboratory, Kashiko-jima, Ago-cho, Mie Prefecture)

rate of the oyster was calculated, on the assumption that the rice powder fed by the oyster was digested and no starch was paesent in the faeces. The results showed that the amount of rice powder remaining suspended in the water 4 hours after supplying was negligible as compared with that fed by the oysters, while the starch content of the sediments was in direct proportion to the amount of rice powder supplied (Table 8 and Fig. 8). The calculated feeding quantities were in direct proportion to and the feeding rates in inverse proportion to the amount supplied.

7. A relationship between the amount of rice powder ingested and the growth (increase in under-water weight) in the last week of the rearing period (Fig. 5) was shown to be a linear regression (Fig. 9). It is concluded, therefore, that the rice powder can be used as a dietary source though it may not be perfect.

これまでの二枚貝の飼育餌料に関する研究の大部分は沈着するまでの稚仔あるいは極く初期の稚貝に関するものであつて，しかもそれらはすべて living plankton を用いている。人工餌料に関する研究としては沢野[1]がアコヤガイを対象として血球，lipoid および澱粉を投与してそれぞれの消化過程を組織学的に追究し，また山本[2]はホタテガイの稚貝にクローバの圧搾汁を与えてかなりの成長を得た。その後，桑谷[3]はアコヤガイに大豆，魚粉および米の磨砕懸濁液を投与してその成長からそれぞれの餌料効果の検討を試み，結果として，これらの餌料のうち，貝に良好な成長をもたらし，飼育水の水質を悪化することがなく，しかも保存が容易であるところの米を選定し，その後，諸種の飼育実験[4]を行なつてきた。

一方，*Commercial Fisheries Review*[5] によれば，Virginia の海洋科学研究所ではカキの体維持のために 1966 年から澱粉の投与を試み，また，South Carolina の Bears Bluff 研究所では 1963 年からカキの飼育試験を行ない，最近，澱粉のかわりに米ぬか (rice chaff) および米を用いて増重を得，さらに，海洋保護管理研究所の Florida 支所では過去2年間，カキに澱粉原料としてのトオモロコシ粉末 (corn meal) を与え，その結果著しい増肉を得た，と報告されている。

今回は，現在，筆者らが諸種の実験に供しているところの米粉末について，その粒径分布，沈降速度および実験水槽内における沈降・移動，さらにアコヤガイによる摂餌率と成長などの実験を行なつたので，それらの結果をとりまとめて報告する。

なお，本報告に先立ち，研究の機会を与えられた国立真珠研究所，太田　繁所長および英文の校閲をいただいたテキサス大学 Dr. G. BEVELANDER および中原　皓博士に厚く感謝する。

実験方法および結果

実験 I　米粉末の沈降速度および粒径分布

沈降速度およびそれから計算した粒径分布

材　料

1昼夜の間，蒸溜水中に浸漬した精白米に，孔径 0.45 μ の millipore filter で沪過し $NaCl_2$ を加えて比重 σ_{15} 1.025 に調整した海水（以下調整海水と呼称する）を加え，佐久間式ホモゲナイザーにより，顕微鏡により大形な粒子がほとんどみえなくなるまで，約 30 分間連続粉砕した。このようにして作られた濃厚懸濁液は，調整海水をもつてその 500 ml 中に米粉末が 1000 mg 含まれるよう稀釈した。ただし，これらの操作間に容器の底に沈澱した大形粒子は，同海水をもつて数回洗滌し除去した。

方　法

500 ml 用シリンダーを用い，上記の稀釈懸濁液 500 ml をこれに満たし，十分に攪拌混合してのち静置して，それぞれ所定の時間後に同液面から深さ 10 cm までの液，207.5 ml をサイフォンをもつて採取した。静置から採水までの時間（米粉末の沈降時間）はそれぞれ 0，20，40，60，120，180，240 そして 300 分とし，0～60 分を懸濁液作製当日に，120～300 分を作製翌日に実験した。採取した懸濁液は孔径 0.45 μ の millipore filter を用いて沪別し，filter 上に残つた米粉末を filter とともに減圧デシケーターに入れて乾

Table 1. Comparison between the dried rice and the rice soaked in distilled water for one day, on weight, volume and density.

Befor soaking		
Weight of dried rice (a)	10,000.00 mg	
Weight of distilled water equal in volume to dried rice (b)	6,686.25 mg	
Estimated density of dried rice (c)	1.4956 g/cm³	c = a/b
After soaking for one day		
Weight of soaked rice. The water surface was removed on its with blotting paper (a′)	12,853.50 mg	a′/a = 1.285
Weight of distilled water equal in volume to soaked rice (b′)	9,375.00 mg	b′/b = 1.432
Estimated density of soaked rice (c′)	1.3427 g/cm³	c′ = a′/b′

燥したのち，秤量した。なお，別に，米粉末 10 g を含む調整海水 1 *l* の懸濁液中から 1 分以内に同海水の深さ 10 cm 以上を沈降する大形粒子のみを，数回洗滌したのち取り出し，上記同様に乾燥・秤量した。

結　果

精白米を 1 昼夜間，蒸溜水中に浸漬することによつて，精白米は膨潤して重量で約 1.3 倍，容積で約 1.4 倍に達し，米の比重は 1.496 から 1.343 にと減少する (Table 1)。ただしこの場合，1 昼夜浸漬による米の膨潤が，澱粉粒，細胞質，細胞膜および細胞間隙にそれぞれどのような割合いで吸水されたためか明らかでない。

沈降時間別 207.5 m*l* (深さ 10 cm) の懸濁液中に含まれる米粉末重量を Table 2 に示す。懸濁液 207.5

Table 2. Change with sedimenting time in dry weight of the rice powder contained in a suspension (filtered sea water σ_{15} 1.025) 10 cm deep (207.5 m*l*).

		Content in 207.5 m*l* suspension mg and % to (a)	
Estimated whole weight (a)		415.00(100.00)	
Estimated moisture and others (b)		39.63(9.55)	(a)−(b)−(c)
Macro-particle* (c)		23.87(5.75)	575.23**×(a)/10,000.0
Micro-particle (d)		351.50(84.70)	
Date	Sedimenting time in min.	mg and % to (d)	
1st day***	0	351.50(100.00)	
〃	20	281.25(80.01)	
〃	40	246.25(70.06)	
〃	60	216.50(61.59)	
2nd day	120	187.50(53.34)	
〃	180	132.00(37.55)	
〃	240	94.25(26.81)	
〃	300	69.75(19.84)	

* These particles descended 10 cm in sea water within a minute.

** 575.23 mg of macro-particles (embryo of rice) was contained in 10,000 mg of rice powder.

*** The suspension used was prepared on the same day.

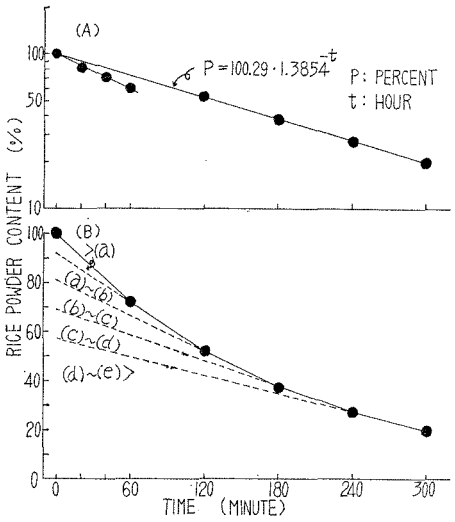


Fig. 1. Relationship between sedimenting time (min.) and rice powder content (%) of the suspension (sea water σ_{15} 1.025) 10 cm deep. (A) Exponential curve from the data of Table 2. The lower line shows the result obtained in the day when the suspension was prepared and the upper shows that in the next day. It is assumed that clods of rice powder particles were collapsed by soaking in sea water for one day. (B) Changes with sedimenting time in size composition of rice powder particles in the suspension. (a), (a)~(b), (b)~(c), (c)~(d) and (d)~(e) show the size of particle indicated in Table 3-A.

ml 中には計算上 415.00 mg の米粉末が含まれていることになるが，静置直後に採取した液のそれは 351.05 mg (84.70%) であつた。その差 63.50 mg (15.30%) は材料の項で述べた稀釈操作間に除かれた大形粒子，秤量のための粉末乾燥により失なわれた水分および澱粉粒を構成するアミロースの溶出などによるものと思われる。別に 10 g の米から採取した大形粒子の重量は 575.23 mg (5.75%) であり，これを 415.00 mg に換算すると 23.87 mg であつて，残りの 39.63 mg (9.55%) が水分および可溶性成分であると推定される。

沈降時間と静置直後の米粉末含有量 (351.50 mg) に対する重量 % (対数) との関係を Fig. 1(A) に示す。Fig. 1(A) によれば，沈降時間 0～60 分までの各含有量の減少は急な傾斜を示しているが，120 ～ 300 分までのそれは比較的ゆるやかであつて，後者は 100% (0 分) をとおる直線 (指数曲線) をもつて示すことができる。これは方法の項で述べたように前者が懸濁液作製当日に，後者は，その翌日に実験が行なわれ，当日十分に粉砕されていなかつた粒子のかたまりがさらに 24 時間浸漬されることにより崩壊した結果とみることができる。そこで，第1日目の0分，100% および第2日目の 120 分以後の各点をもつて回帰式を求めると

$$P = 100.29(1.3854)^{-t}$$

が得られる。P は0分に対する含有量の % であり，t は経過時間 (沈降時間 hrs.) である。この式により各点は0時間を含有量 100.3% とするとき1時間後 72.3%，2 時間後 52.2%，3 時間後 37.7%，4 時間後 27.2%，5 時間後 19.2% となる。

つぎに，この沈降時間から粒子の大きさを求めるために STOCKES の液体の粘性に関する公式

$$x = \frac{2}{9}\frac{g}{\eta}(\rho' - \rho)a^2$$

x: 粒子の沈降速度 cm/sec, g: 重力 980 C.G.S. unit, η: 媒液の粘性係数 (本実験の場合 10.85×10^{-3}), ρ': 粒子の密度 g/cm³ (乾燥米 1.496, 浸漬米 1.343), ρ: 媒液の比重 (σ_{15} 1.025), a: 粒子半径 cm.

を用いて既知のそれぞれの値を与えて，まず σ_{15} 1.025 の海水中を 10 cm 沈降するのに1時間，2時間…5時間かかる粒子の大きさをそれぞれ計算し，さらにそれらの粒子径によつて分類される各時間ごとの粒径別重量 % を算出した。なお，米の膨潤がはたして粉砕された米の粒子，澱粉粒の膨潤に直接つながるかどうか疑問があるため，一応乾燥米と浸漬米の両者の密度 (g/cm³) をもつて粒径の計算をした。計算結果を Table 3 および Fig. 1(B) に示す。つまり，乾燥米として 5.414 μ，浸漬米として 6.584 μ 以下の粒子が0時間においてすでに過半 (57.6%) を占め，その後，時間の経過とともに大形粒子の比が減少して，1時間後には 69.2%，2 時間後には 81.2%，3 時間後には 92.3%，4 時間後には 100% を占めている。

Table 3. Size composition of rice powder particles (micro-particle in Table 2) remained in and lost from sea water 10 cm deep with the lapse of time.
A. Estimated size by STOCKES's formula.

Sedimenting time	Estimated size in diameter		
	As the dried rice, density: 1.496 g/cm³	As the soaked rice, density: 1.343 g/cm³	Class
1 hrs.	10.828×10^{-4} cm	13.170×10^{-4} cm	(a)
2	7.914	9.312	(b)
3	6.252	7.604	(c)
4	5.414	6.584	(d)
5	4.842	5.890	(e)

B. Estimated size composition, figures show percentage in weight of the remained particles and those in parenthesis do that of the lost particles.

Sedimenting time	Particle size classified according to the above Table A					
	(a)	(a)~(b)	(b)~(c)	(c)~(d)	(d)~(e)	Total
hrs.	%	%	%	%	%	%
0	7.9 (−7.9)	11.2 (−5.6)	12.0 (−4.0)	11.6 (−2.9)	57.6 (−7.6)	100.3 (−28.0)
1	0	5.6 (−5.6)	8.0 (−4.0)	8.7 (−2.9)	50.0 (−7.5)	72.3 (−20.1)
2		0	4.0 (−4.0)	5.8 (−2.9)	42.4 (−7.6)	52.2 (−14.5)
3			0	2.9 (−2.9)	34.8 (−7.6)	37.7 (−10.5)
4				0	27.2 (−7.6)	27.2 (− 7.6)
5					19.6	19.6

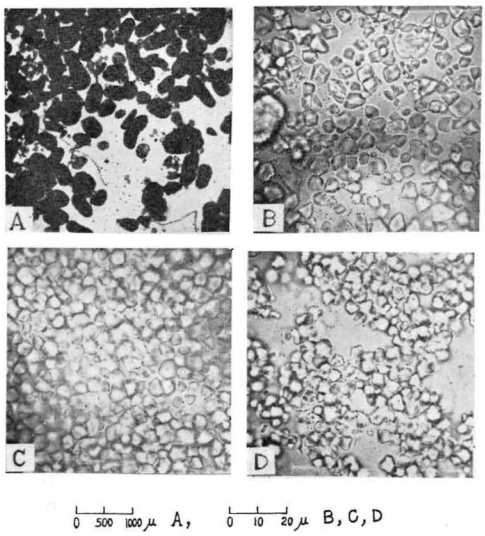


Fig. 2. Rice powder particles pulverized by a homogenizer. A: Embryos of rice. They were hardly crushed by homogenization and descended 10 cm in sea water within one minute. B: Particles contained in a suspension 10 cm deep just after preparation. C and D: Particles remained in the suspension after 2 and 5 hours, respectively.

Table 4. Frequency distribution and average and standared deviation of size of rice powder particles.

A. The micro-particles filtered off from a suspension 10 cm deep on a millipore filter (0.45 μ in pore diameter), dried and measured on photograph magnified.

Particle size in μ*	Sedimenting time in minute					
	0	60	120	180	240	300
− 2.0	4	2	2	5	4	4
− 2.5	2	2	2	1	4	8
− 3.0	6	5	5	12	4	5
− 3.5	4	4	4	7	6	8
− 4.0	15	11	12	15	15	19
− 4.5	8	10	14	6	9	8
− 5.0	14	17	15	15	21	17
− 5.5	7	15	10	14	13	13
− 6.0	8	19	16	11	14	11
− 6.5	12	6	11	5	3	3
− 7.0	10	5	4	6	5	2
− 7.5	2	2	4	2	1	1
− 8.0	4	2	1	0	1	1
− 8.5	2	0	0	1	0	0
− 9.0	1	0	0	0	0	0
− 9.5	1	0	0	0	0	0
−10.0	0	0	0	0	0	0
Total	100	100	100	100	100	100
Average	5.28	5.13	5.13	4.76	4.82	4.55
Standard deviation	±1.67	±1.26	±1.29	±1.42	±1.28	±1.30

* The average of the maximum and minimum diameters of a particle.

B. The macro-particles (embryo of rice) descended 10 cm in sea water within a minute.

Particle size in μ*	Number of particle
−100	6
−200	10
−300	20
−400	26
−500	5
−600	7
−700	8
−800	0
Total	72
Average	423.8
Standard deviation	±140.5

* The maximum diameter.

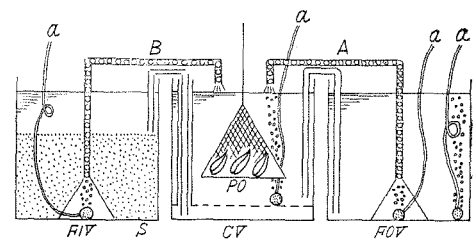


Fig. 3. Scheme of the apparatus used for rearing experiments. FIV: Filter vessel, CV: Culture vessel, FOV: Food-supplying vessel, PO: Test oysters in a vinyl cage, a: Air-supplying tube, s: Filter sand, A and B: Glass tube for circulating water. Water quantity in CV and FOV: 15 l Water quantity and sand volume in FIV: 15 l, and 9 l (15 kg), Number of PO: 8, Water circulation rate in A and B circle: 0.5 l/min., Rate of aeration for agitating: 500 ml/min. In A circle water was circulated all day and in B circle it was stoped twice a day for feeding (8~12 a.m. and 4~8 p.m.).

顕微鏡写真により求めた粒径分布

方　法

前記の沈降速度測定のため，沪別し乾燥した沈降時間別材料をユニオン光学顕微鏡により 1000 倍に拡大し，その写真上で粒子の平均径（長径と短径の平均）を 100 粒ずつ測定し，それぞれの頻度分布からその直径の平均値および標準偏差を求めた。なお，Table 2 に示した大形粒子は 20 倍に拡大して同様の方法でその長径を測定した (Fig. 2 参照)。

結　果

頻度分布およびそれぞれの直径の平均値および標準偏差を Table 4 に示す。前述の沈降速度からの計算値と比較して，平均粒径は各時間とも小さく，また各時間相互の差も小さく，静置直後において 5.28 μ, 5 時間後において 4.55 μ とその差はわずか 0.73 μ であつた。これは前述沈降速度からの重量組成においても小形のものが当初からその過半を占めており，粒径頻度分布においては小形のものの占める割合いがさらに大きくなつたためと判断される。なお，前述計算値では米の形でその密度が測定されそれにもとづいて粒径が算定され，実測値では米を粉末とした後，完全乾燥した材料を用いたことも粒径の縮小した一因となつているかもしれない。

大形粒子の平均長径は 423.8 μ もあり，その形は卵形，長楕円形をなし，色もやや黄色を帯びて，澱粉粒とは明らかに区別される。これは米の胚 (embryo) が離脱したもので，本実験に使用した粉砕器では容易に砕くことができない。

実験 II　アコヤガイの米粉末の摂取率と成長

投与米粉末の実験水槽間の分布

方　法

アコヤガイの飼育実験においてはこれまで Fig. 3 に示すような飼育装置が用いられ，餌料の投与時間（1日2回，1回4時間）には，沪過槽 (FIV) と飼育槽 (CV) との循環 (B 回路) は中止し，餌料槽 (FOV) と飼育槽との循環 (A 回路) のみが行なわれ，餌料槽に入れた餌料がその間に貝に摂取される。本実験は貝が収容されていない状態での餌料投与時間における米粉末餌料の分布とその沈降率を確かめるため行なつた。

Fig. 3 に示すような飼育装置のうち餌料槽と飼育槽（各 25×25×30 cm）の2個を用い，各水槽には前述の調整海水 15 l を満し，送気により各槽の攪拌と両槽海水の循環とを行なつた。循環水量は毎分約 0.5 l, 各槽の攪拌のための送気量は毎分約 500 cm^3 であつた。まず餌料槽に計算上 10 g の米粉末を投入し，十分に攪拌を行なつた後 100 ml を採取し，つぎに両槽の循環を開始してから 20, 40, 60, 120, 180, 240, 300 分後にそれぞれの水槽から 100 ml ずつを採取し，その中に含まれる米粉末を孔径 0.45 μ の millipore filter で沪別し，乾燥し，秤量した。

結　果

まず，餌料槽には計算上 66,666 mg/100 ml の米粉末が投入してあるはずであるが，攪拌直後の採水では 59.75 mg/100 ml で計算量の 89.6% であつた。この 10.4% の減はおそらく沈降速度測定実験の項で述べたように大形粒子の沈澱と水分および可溶性成分による減に基づくものと思われる。そこで，59.75 mg に対する各経過時間後の含有量を % をもつて示した。結果を Table 5 および Fig. 4 に示す。両槽は毎分約 0.5 l ずつ循環しており，両槽の米粉末の含有量は 20 分後にすでに 51.5 : 46.0% とかなり接近し，40 分後には 49.0 : 48.5% とほぼ平衡に達した。両槽が常に完全に攪拌混合され，米粉末の沈降が全くないと仮定した場合，餌料槽の含有量の変化は近似的に

$$y = y_0 e^{-c(1-c)x}$$

y: 餌料槽の米粉末含有 %, y_0: 循環開始時における %, c: 増減係数, x: 経過時間（分，min.)

をもつて表すことができる。$y_0 = 100(\%)$, $c = 0.5/15 = 0.03333$ とおき $y = 50(\%)$ のとき $x = 22{,}279$

Table 5. Changes in distribution of rice powder particles between two vessels (FOV and CV in Fig. 3, without animal) with the lapse of time after supplying them to one vessel. Rice powder supplied: 10 g/30 *l* of rearing water.

Time in min.	Content in mg/100 m*l* and (%)		
	Food-supplying vessel	Culture Vessel	Total
0	59.75(100.0)*	—(—)	59.75(100.0)
20	30.75(51.5)	27.50(46.0)	58.25(97.5)
40	29.25(49.0)	29.00(48.5)	58.25(97.5)
60	28.75(48.1)	28.25(47.3)	57.00(95.4)
120	28.00(46.9)	27.25(45.6)	55.25(92.5)
180	28.00(46.9)	27.00(45.2)	55.00(92.1)
240	26.75(44.8)	26.25(43.9)	53.00(88.7)
300	27.00(45.2)	26.25(43.9)	53.25(89.1)

* Rice powder content at the start is calculated at 66.67 mg/100 m*l* from the weight of the material. The difference 2.92 mg must be caused by loss of macro-particles, moisture and others (see Table 2).

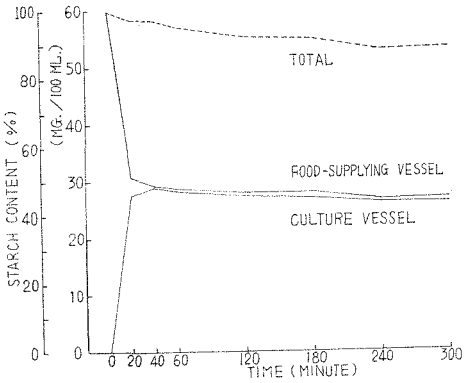


Fig. 4. Diagram dipicting the data presented in Table 5.

となり，約 22 分間後に両槽はおおむね平衡に達すると計算される。つまり，米粉末は上記の計算上の仮定をほぼ満足する状態にあるとみることができる。

なお，両槽の含有量を合計して投与直後における餌料槽の含有量に対する % を求めると，時間の経過とともに徐々に減少して4時間後には 11.3% のものが失なわれている。これはおそらく，海水の攪拌流動における死角 (dead angle) での比較的大形の粒子の沈澱によるものと思われる。この場合，水槽底に沈澱した粒径を確かめてはいないが，前述の沈降実験の組成からみて，粒径 10 μ 以上のものが主体をなしていると推察される。

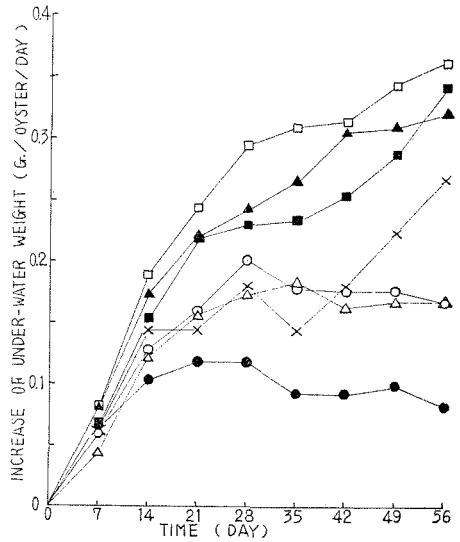


Fig. 5. Cumulative increased weight of the oysters during the rearing period. Open circles, solid circles, open triangles, solid triangles, open squares, solid squares and cross marks show oyster groups supplied with 20, 40, 60, 80, 120, 160 and 200 mg of rice powder/8 oysters/time (twice a day), respectively.

貝の摂取率とそれによる成長

材　料

1966 年 10 月 24 日から 12 月 19 日まで通算 56 日間，投餌量に対する成長度の比較試験に用いた飼育装置および供試貝をそのままひきつづいて本実験に供した。装置および供試貝はつぎのとおりであつた。供試貝：満1年生アコヤガイで水中重量 5.6～6.5 g の範囲にあり，そのうちとくに成長の良好とみられるもの 56 個を選び各群の水中重量が均等になるように8個ずつの7群に分けた。飼育方法：Fig. 3 に示す飼育装置7組を作製し，飼育槽にそれぞれ8個の貝を収容し，1日1回 15 l の換水と1日2回の投餌とを行なつた。餌料は前述の方法によつて作られた米粉末懸濁液を用い，1回1槽当りの投与量はそれぞれ 20, 40, 60, 80, 120, 160, 200 mg とした。

供試貝のこの期間中における水中増加量は Fig. 5 に示すとおりであつた（なお，投餌量に対する成長度の比較試験については水質等の調査結果を含め別に詳報する予定である）。

方　法

このようにして飼育した各貝群に，飼育期間と同様，1日2回，1回当り 20, 40, 60, 80, 120, 160, 200 mg の米粉末を投与し，投与後1時間（12 月 21 日実験），2時間（12 月 22 日），3時間（12 月 23 日），4時間（12 月 24 日）に各槽の餌料残存量を調査した。餌料残存量は各時間に表層の飼育水 2 l を採取し，その中に含まれる米粉末を孔径 0.45 μ の millipore filter で沪別し，filter と共に 2.5% 塩酸溶液に浸し，3時間加熱加水分解して glucose とし，Somogyi 法 (1952) により定量し 0.9 を乗じて澱粉量とした。また，12 月 25 日 10 時 45 分に上記と同量の米粉末を各槽に投与し，14 時 45 分に貝を洗滌して水槽から除き，同時に送気攪拌を中止し，10 分後に上澄みをすてて沈澱物を採集し，上記同様の方法で含まれる澱粉量を測定した。これらの沈澱物中には大形の米粒子，偽糞および糞が含まれているが，これらを量的に区分することはできなかつた。

結　果

1. 摂取率について

Table 6. Changes with the lapse of time in the starch content of rearing water supplied with various quantities of rice powder. Number of test animals: 8 oysters, Volume of rearing water: 30 l, Water temperature: 23.5～24.1°C

Rice powder supplied	Feeding time in minute				
	0	60 (21, Dec.)	120 (22, Dec.)	180 (23, Dec.)	240 (24, Dec.)
		a.m. p.m.	a.m. p.m.	a.m. p.m.	a.m. p.m.
mg	mg (%)	mg (%)	mg (%)	mg (%)	mg (%)
20	14.4 (100.0)	7.10 6.88 (49.3) (47.8)	0 1.44 (0) (10.0)	0 0 (0) (0)	0.55 0 (3.8) (0)
40	28.8 (100.0)	20.42 20.19 (70.9) (70.1)	6.21 10.65 (21.6) (37.0)	1.44 4.77 (5.0) (16.6)	1.44 3.11 (5.0) (10.8)
60	43.2 (100.0)	36.62 51.26 (84.8) (118.7)	13.32 21.30 (30.8) (49.3)	3.44 0.78 (8.0) (1.8)	1.33 3.88 (3.1) (9.0)
80	57.6 (100.0)	46.60 59.25 (80.9) (102.8)	25.74 24.52 (44.7) (42.6)	11.54 10.65 (20.0) (18.5)	7.43 7.88 (12.9) (13.7)
120	86.4 (100.0)	15.09 17.98 (17.5) (20.8)	4.11 6.77 (4.8) (7.8)	1.78 2.44 (2.1) (2.8)	2.89 6.33 (3.3) (7.3)
160	115.2 (100.0)	57.58 92.65 (50.0) (80.4)	7.88 30.85 (6.8) (26.8)	3.22 4.44 (2.8) (3.9)	4.33 5.77 (3.8) (5.0)
200	144.0 (100.0)	54.59 73.23 (37.9) (50.9)	25.41 28.41 (17.6) (19.7)	14.20 4.88 (9.9) (3.4)	5.10 6.88 (3.5) (4.8)

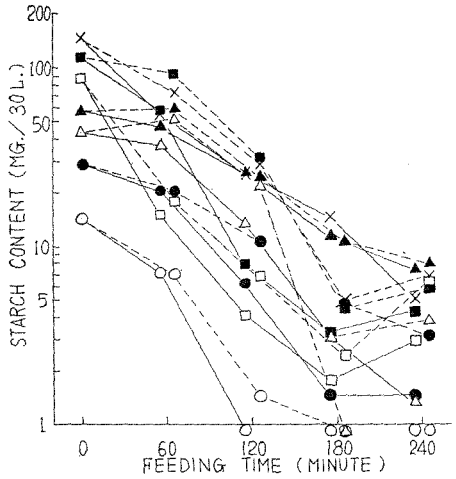


Fig. 6. Diagram depicting the data presented in Table 6.

投与餌量のちがいによる水槽内澱粉量の残存率についての実験結果を Table 6 および Fig. 6 に示す。図によれば，飼育水の澱粉含有量の残存率は全般的にみて餌料投与後 60 分までは大きく，60～180 分では小さく，180～240 分ではふたたび大きくなつている。投与後 60 分までの残存率の大きい原因は，餌料の高濃度[6] と外因的な刺激とが考えられるが，残存率の大小と投与量の多少とには全く関係が認められないので，これはおそらく外因的な刺激によるものと推察される。また，投与後 180～240 分において残存率が大きい原因としては，餌料投与時には沪過による飼育水の浄化が行なわれていないために生じた水質の悪化と餌料濃度の著しい低下[7] とが考えられるが，いずれとも明らかでない。

今回は，原則として貝の沪過水量および摂餌率は constant であると考え，つぎの両式により 1 時間当りの平均残存率 a と，100% をとおる指数曲線とを求めた。

$$a^5-(\Sigma P/P_0)a+(\Sigma P/P_0)=1$$

$$P=P_0a^t$$

P_0: 0時間の残存率 (100%)，ΣP: 0時間を含む各時間の % 値の合計，t: 経過時間 (hrs.)，P: t 時間後の % 値。

計算結果を Table 7 および Fig. 7 に示す。餌料の投与時刻，つまり午前および午後のそれぞれの残存

Table 7. Remaining rate of the starch content calculated with the data of Table 6 and the following expression. $a^5-(\Sigma P/P_0)a+(\Sigma P/P_0)=1$
a: remaining rate, ΣP: Total of per-cent values including P_0, P_0: Per-cent value of 0 hour after supplying.

Feeding time	Rice powder supplied mg	Starch content at the beginning mg (%)	Remaining rate /hrs	Calculated starch content after 4 hrs mg(%)
a. m.	20	14.4(100)	0.359	0.1684(1.66)
p. m.	〃	〃	0.379	0.2971(2.06)
a. m.	40	28.8(100)	0.526	2.2046(7.66)
p. m.	〃	〃	0.609	3.9614(13.76)
a. m.	60	43.2(100)	0.590	5.2345(12.12)
p. m.	〃	〃	0.702	10.4915(24.29)
a. m.	80	57.6(100)	0.662	11.0620(19.21)
p. m.	〃	〃	0.700	13.0867(22.72)
a. m.	120	86.4(100)	0.217	0.1918(0.22)
p. m.	〃	〃	0.280	0.5313(0.62)
a. m.	160	115.2(100)	0.394	2.7763(2.41)
p. m.	〃	〃	0.563	11.5729(10.05)
a. m.	200	144.0(100)	0.415	4.2710(2.97)
p. m.	〃	〃	0.441	5.4460(3.78)

率を比較すると，いずれの場合もそれは午前より午後の方が大きいが，その差は極めて小さく，また投与量に対する残存率の変化の形は近似している。残存率は投与量が 20 mg から 80 mg へと増加するにしたがつて大きくなるが，120 mg になると急に小さくなり，160～180 mg でふたたび大きくなつている。このような残存率の差は供試貝がそれまでに飼育されていた条件(水質，摂餌量など)，つまりその間に獲得された成長力，生理的活力などによる沪水力あるいは捕食力の差を示すものと考えられる(Fig. 5 参照)。

ちなみに，つぎの式をもつて沪過水量を算出する。

$$M(1-a)/n = m$$

M: 飼育水の水量，n: 貝の個数，a: 餌料の残存率，m: 1時間当りの沪過水量。

$M = 30\,l$, $n = 8$ 個とおくと，最小の残存率を示した米粉末投与量 120 mg の場合の沪過水量は 2.70～2.94 l/hour であり，最大の残存率を示した 80 mg の場合は 1.13～1.27 l/hour となる。ただし，辻井ら[7] が試みたように残存率の大きい初終期を除いて計算すれば，おそらく上記よりかなり大きい沪過水

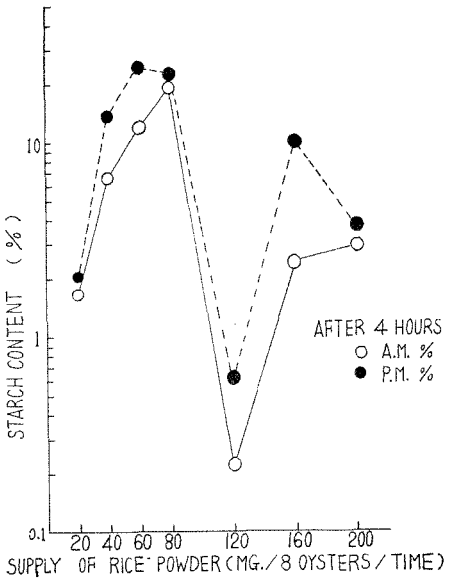


Fig. 7. Calculated starch content of the rearing water 4 hours after supply of rice powder.

Table 8. Feeding rates of the pearl oyster supplied with various quantities of rice powder.

Supplied		Division of the rice-starch supplied 4 hours after the start of feeding.		
Rice powder mg	Calculated in starch mg(%)	Remained in the water mg(%)	Sedimented on the bottom mg(%)	Fed by the oyster mg(%)
20	14.4 (100.00)	0.278 (1.93)	0.740 (5.14)	13.382 (92.93)
40	28.8 (100.00)	2.275 (7.90)	1.664 (5.78)	24.861 (86.32)
60	43.2 (100.00)	2.607 (6.03)	3.588 (8.31)	37.005 (85.66)
80	57.6 (100.00)	7.656 (13.29)	8.063 (14.00)	41.881 (72.71)
120	86.4 (100.00)	4.605 (5.40)	10.079 (11.67)	71.716 (83.00)
160	115.2 (100.00)	5.049 (4.38)	21.860 (18.98)	88.291 (76.64)
200	144.0 (100.00)	5.992 (4.16)	30.384 (21.10)	107.624 (74.74)

Figures are the means of the starch contents presented on the columns of a.m. and p.m. after 240 minutes in Table 6.

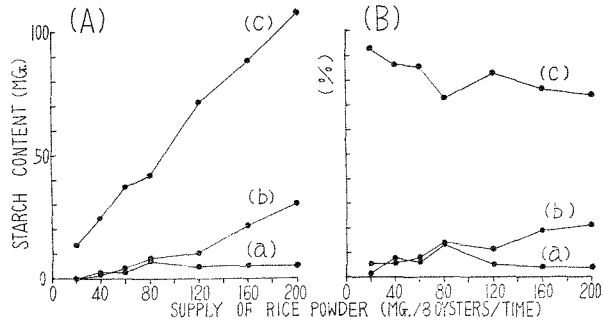


Fig. 8. Diagram depicting the data presented in Table 8. Starch content of rice powder suspended in rearing water (a), sedimented on the bottom (b) and fed by the oyster (c).

量が得られるものと考えられる。

つぎに，米粉末投与後4時間を経過した各水槽の沈澱物を採集し，その中に含まれる澱粉量を定量した結果および前述の4時間後の水中残存澱粉量(午前と午後の実測値の平均)，さらに投与量からそれらの合計値を差引いた計算摂取量(および率)を Table 8 および Fig. 8 に示す。沈澱物中には偽糞，糞および沈澱した米粉末が含まれており，それぞれある量の澱粉を含有していると思われるが，この場合，捕食された米粉末の澱粉のほとんどすべてが消化吸収され，米粉末の沈澱は無視できる量であると考えられるので，沈澱物中の含有澱粉量の大部分が偽糞によつてもたらされたものと推測される（この点については改めて実験検討する予定である)。

水中残存量 (Fig. 8 の a 線) は前述のように投与米粉末量 80 mg の場合がとくに大きいが，全般的にはそれらの占める割合いは著しく小さく，沈澱量あるいは摂餌量の変化に対してはほとんど影響を与えていない。沈澱量 (Fig. 8 の b 線) は明らかに投与量によつて変化しており，投与量が増大するにしたがつて量的にも，また比率的にも増大している。前述のようにその含有澱粉量の大部分が偽糞によるものであるとすると，少なくともこの実験における餌料濃度の範囲内（最大 6.67 mg/l) では，餌料投与量に比例して偽糞量は増大するものと考えられる。この点に関して，千葉・大島[8] はアサリ・ハマグリ・カキ・ムラサキイガイについて投与ベントナイト濃度が 10～20 mg/l に達すると偽糞の排出が顕著になるが，その濃度以下でも僅かに排出が認められると述べている。つぎに，計算摂取量 (Fig. 8 の c 線) は量的には投与量の増加にともなつて増えるが，比率的には逆に減少する傾向が認められる。これは，明らかに前述の偽糞の排出率の増加が投与量のそれを上回るためと思われる。

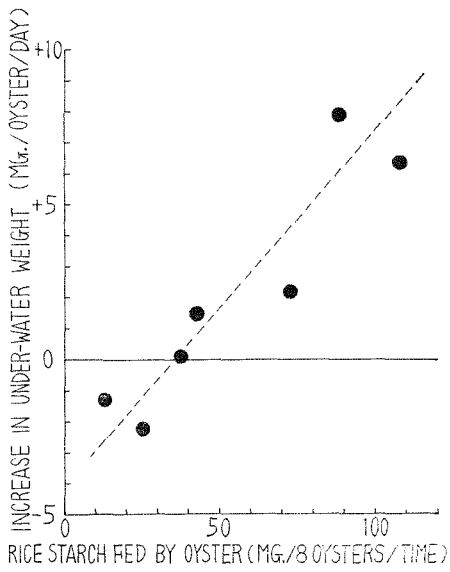


Fig. 9. Relationship between the quantity expressed as starch of the rice powder taken by the oysters and the increase in under-water weight of them in the last week of the rearing period (Fig. 5).

2. 摂取量と成長との関係

前述のとおり米粉末の摂取量はほぼ投与量に比例して増加する傾向がみられた。Fig. 5 に示した成長量は飼育期間中 (56 日間) の累積増重量であつて，本実験の摂取量と直接的に結びつくのは，飼育期間の最終期つまり 49 ～ 56 日目の1週間の成長量である。米粉末摂取量 (計算摂取澱粉量/8 oyster/A time) と成長量 (水中増重量/oyster/day) との関係を Fig. 9 に示す。図に

みるように，摂取量の少ない2群では減量が認められ，全体として，摂取量と成長量との間には直線をもつて示されるところの有意な相関性が認められる。このことは米粉末が餌料として有効であることを示すものと考えられる。なお，飼育期間中における増重量の変化は残留効果，水温，水質などその他の要因によつてもたらされるものと考えられ，それらの詳細については別に報告する。

論　　議

これまでに桑谷[9,10]はアコヤガイの胃および消化盲嚢 (digestive diverticula) の構造と機能について解剖学的に，また炭素粒子を投与してその摂餌機構（主として大きさによる選別機構）を組織学的方法をもつて解析した。これらの結果，同貝は主として粒径 30 μ 以内のものを捕食し，これを胃内において杆晶体の消化酵素により分解して微粒化し，それらのうち粒径約 5 μ 以下のものを導管を経て盲嚢細管へと送り，同壁細胞によつて摂取することを明らかにした。つまり，径 30 μ 以上の大形のものおよび杆晶体の消化酵素によつて分解されない蛋白質あるいは脂肪質の径 5 μ 以上のものは餌料として不適当である。沢野[1]は amaebocyte および phagocyte の大きさからみて，餌料となるものの大きさは 2～5 μ が最もよく，最大 10 μ 程度が適当であると述べている。これらの知見から，米粉末は，桿晶体消化酵素によつて消化分解され，その大きさは他の穀類に比較して小さく，また餌料として投与することによつて飼育水の水質を悪化することが少なく，入手保存も容易であることから飼育餌料として適切であると考えられ，これまで各種の実験に用いられてきた。

今回，米粉末が実際にどのような状態で摂取され，そして成長に結びつくかを詳細に把握するために本実験を行なつたが，米粉末の粒径分布，沈降速度，アコヤガイによる摂取率およびそれにともなう成長からみて，二枚貝類の主餌料として適当であることが再確認された。しかしながら単に澱粉質餌料のみで貝の栄養のすべてが満足できるものとは考えられないので，今後この点について改めて検討が加えられねばならない。

要　　約

二枚貝の飼育餌料としての米粉末の沈降速度，粒径分布および実験水槽内における時間的分布，沈降率，さらにアコヤガイを対象とする摂取率およびそれによる成長に関する一連の実験を行なつた。その結果はつぎのとおりである。

1. 1昼夜間，蒸溜水中に浸漬され，ホモゲナイザーをもつて粉砕された米粉末が二枚貝の餌料として利用されるのは原料の約 85% であつた。これは米の胚芽部の沈澱分離による除去，粉末乾燥による水分のそう失および一部成分の溶出によるものと考えられる。

2. このようにして作られた米粉末はその沈降速度からみて大部分（約 90%，重量比）のものが粒径 10 μ 以下であり，そのうち 5～6 μ 以下のものが約 60% を占めている。また各時間（静置後 0～5 時間）ごとに表面から 10 cm 深までの米粉末懸濁海水を採取し，沪別・乾燥した粒径の実測値は 2～10 μ の範囲内にあり，平均 5.3 μ（0時間）～4.5 μ（5時間後）であつた。

3. 海水 15 l 入り水槽2個を用い，送気により攪拌（毎分約 500 cm^3）と両槽の循環（毎分約 0.5 l）とを行ない，一方の水槽に米粉末を投与して，経過時間にともなう両槽の米粉末分布と沈澱による減少率とを調べた。両槽の分布量は循環開始 20 分後に 5.15 : 46.0% とかなり接近し，40 分後にはほぼ平衡に達した。また減少率は4時間後においてわずかに 11.3% を示したにすぎなかつた。

4. 56 日間，米粉末餌料により飼育した満1年生アコヤガイ 56 個（8個×7組）を用いて，飼育期間と同量（1回当り）の米粉末を投与（20～200 mg/30 l）して，時間別水中残存量（澱粉量として）を調査した結果，捕食率は米粉末投与量 120 mg の場合に最も大きかつた。

5. 餌料投与4時間後の沈澱物中の澱粉量を調査し，それに前述の水中残存澱粉量を加え，投与量から差引いて摂取量を求めた。結果として水中残存量の占める値は小さく，沈澱物中澱粉量（主として偽糞によるものと推察）は投与量に比例し，また計算摂取量は量的には正比例し，率的には逆比例している。

6. 上記摂取量と飼育期間の終期（49～56日目）における成長量（水中重量の増加量）との関係は直線回帰をもつて示され米粉末が餌料として有効であることが確認された。

文　　献

1) 沢野英四郎：水産研報，**3**，48～57 (1950).
2) G. YAMAMOTO: *Bull. Marine Biol. Sta. Asamushi Tohoku Univ.*, **7**, 69～71 (1955).
3) 桑谷幸正：国立真珠研報，**9**，1135～1142 (1964).
4) 桑谷幸正・西飯　保：国立真珠研報，**11**，1308～1333 (1966).
5) *Commercial Fisheries Review*, **28** (2), 34 (1966).
6) V. L. LOOSANOFF and J. B. ENGEL: *Fishery Bull.*, **42**, 31～57 (1947).
7) 辻井　禎・大西侯彦：国立真珠研報，**3**，194～200 (1957).
8) 千葉健治・大島泰雄：本誌，**23**，348～353 (1957).
9) Y. KUWATANI: This Bull., **31**, 174～186 (1965).
10) 桑谷幸正：同誌，**31**，789～798 (1965).

(*Reprinted from Nature, Vol.* 219, *No.* 5149, *p.* 62 *only, July* 6, 1968)

Spiral Growth of Calcitostracum

SPIRAL growth hills built up of many tabular calcite microcrystals can be seen in definite regions of the growing surface of the left shell valve of the calcitostracum of *Anomia lischkei* under a reflexion microscope (Fig. 1). The spiral growth hill of calcitostracum contrasts interestingly with that of nacre[1]; the former is composed of many microcrystals of calcite distributed radially outwards[2], whereas the latter is formed by many microcrystals of aragonite in nearly parallel orientation[3,4] as Laue photographs and microscopes show.

The spiral patterns of the calcitostracum are formed by the emergence of the edges of mineral lamellae on the growing surface of the layer, the central point being the highest. A circular spiral is common. A group of many step lines usually starts from the centre of a spiral. Steps are usually as high as one lamella is thick—less than about 3500 Å. As in nacre, spiral growth hills are concentrated in one or more small defined areas in the central zone of a shell. New microcrystals grow chiefly in re-entrant corners between parallel imbricated microcrystals lying on the growth fronts of lamellae. Their three-dimensional orientation is variable. The growing surface of calcitostracum is the (0001) plane of calcite microcrystals which grow nearly parallel to each other except for the parts

Fig. 1. A spiral growth hill of calcitostracum in *Anomia lischkei*. (×130.)

Contribution No. 164 from National Pearl Research laboratory.

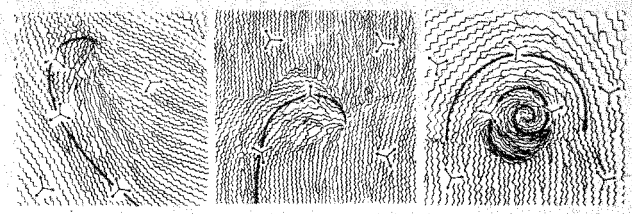


Fig. 2. Schematic drawing of the process of development of spiral growth hill of calcitostracum in *Anomia lischkei*. The arrows represent the rhombohedral axes of calcite microcrystals. Note the relationship between the orientation of microcrystals and the rotation of ledges of mineral lamellae started from the deformed portion between two groups of microcrystals of different orientations.

in which growth hills are found. Growth fronts of mineral lamellae may move forward from the postero-dorsal to the antero-dorsal and through the ventral region in the pallial zone of the shell of *Anomia*, and the direction of advance of lamellae coincides closely with the rhombohedral axes of microcrystals.

Fig. 2 is a schematic illustration of the development of a spiral growth hill of calcitostracum for *Anomia lischkei*. If two groups of microcrystals, oriented differently, interfere with each other at some angles, there may be elevation, depression or misfit on the sides. Many mineral lamellae in the deformed part develop into a spiral growth pyramid which resembles a spherulite. On the other hand, growth hills of the calcitostracum of *Crassostrea gigas* consist of dendritic spherical aggregates of foliated calcite microcrystals[5], and appear to differ in their development from those of *Anomia lischkei*. The spiral growth hills of the calcitostracum of *Anomia lischkei* are further characterized by left-handed spirals, which predominate regardless of their position on the shell valve or the materials of which they are made. The formation seems to depend on the specialized directions of growth of the calcitostracum between pallial and central zones during the morphogenesis of the shell.

These observations probably indicate that the spiral growth of calcitostracum of *Anomia lischkei* originates in portions of the growing surface which are deformed by internal and external stresses in and near the boundary between two groups of microcrystals, differently oriented, during the growth and morphogenesis of the shell. If dislocations occurred or if the boundary of microcrystals moved, stress fields could be cancelled in calcitostracum. It is, of course, necessary to take into account the nature, amount and distribution of organic matrix, which can perhaps be regarded as impurity, when considering the precipitation of the calcium carbonate contained in shells. These considerations suggest that the mechanism of formation of spiral growth of polycrystalline material such as

nacre and calcitostracum may be very accurately explained by modification of Frank's screw dislocation theory[6] of the spiral growth of single crystals taking into account the theories of orientation and aggregation of microcrystals during crystallization from a colloidal solution.

I thank Professor T. Sudou for his guidance and for revising the manuscript.

KOJI WADA

National Pearl Research Laboratory,
Mie Prefecture,
Japan.

Received April 24, 1968.

[1] Wada, K., *Nature*, **211**, 1427 (1966).
[2] Wada, K., *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **29**, 320 (1963).
[3] Wada, K., *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **24**, 422 (1958).
[4] Wada, K., *Bull. Nat. Pearl Res. Lab.*, **7**, 703 (1961).
[5] Wada, K., *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **30**, 132 (1964).
[6] Frank, F. C., *Disc. Faraday Soc.*, **5**, 48 (1949).

Printed in Great Britain by Fisher, Knight & Co., Ltd., St. Albans.

真珠養殖技術における仕立て作業の意義とその効果に関する研究

植　本　東　彦

要　　約

1. アコヤガイの真珠養殖において，挿核手術前に行なわれる仕立て作業の意義・目的・効果を明らかにし，その技術改良に資する目的をもって本研究を行なった。

2. 仕立て作業が考え出されてから現在に至るまで，経験的に得られた生殖腺と挿核手術後の結果との関係について検討を加えた。すなわち，生殖細胞の多寡と真珠の歩留りおよび品質に関する実験の結果は，生殖細胞の多量に存在する夏季においては，生殖細胞の量と真珠の歩留りおよび品質との間に殆んど関係がみられないこと，春季の生殖腺の発達が始まる時期では，生殖線の発達を示した群のこれらの成績が不良であること，秋季では生殖細胞が殆んどないにも拘わらず，仕立て作業の有無あるいは方法の相違によって成績が異なることなどを明らかにした。これらの結果から生殖腺に関して一般に信じられてきた事柄の中には矛盾があり，生殖細胞の多寡と成績との関係を直接に結びつけるのは妥当でなく，生殖腺の状態は限られた範囲において貝の生理状態の一面を示す指標として扱うのが適切であると考えられた。

3. 仕立て作業中の貝の生理状態の変化について諸種の指標を用いて推察した。その結果は次のようであった。貝殻形成の停止，足糸形成の減少，軟体部色調の淡色化，貝肉重量の減少（対照群の90%），生殖細胞の新生の停止，杆晶体重量の減少（正常値の50～70%），閉殻筋力の減少（60%），酸素消費量の減退（70～80%），蛋白質代謝の異化・同化両作用の減衰（約90%），含水炭素代謝の異化・同化両作用の減衰（90%・60%），中腸腺アルカリ性および酸性フオスフアターゼ活性の低下(50%および70%)，中腸腺ポルフィリン体量の減少（20%）などが観察された。すべての指標は正常よりも生理状態が低下していることを示しており，この低下は生理活動の抑制によると考えられた。

4. 挿核手術後の生理状態の推移は，手術時の貝の生理活動の状態によって異なる。こ

全真連真珠技術研究会々報59：1-99，1967.
国立真珠研究所業績 No. 158

れをそれぞれの指標が正常あるいは正常値に回復するまでに要した日数で示せば次のようになる。仕立て作業により生理的に抑制された貝では，貝殻・足糸形成20日以内，生殖細胞の新生30日以上，杆晶体重量20日，閉殻筋力7日，蛋白質代謝における異化および同化作用の均衡の回復20日，含水炭素代謝における同均衡の回復10日，中腸腺ポルフィリン体量5日と，生殖細胞の新生を除く全ての指標はおよそ20日以内でほぼ正常値まで戻った。すなわち，貝の生理状態は手術後20日で正常の活動を営み得るところまで復帰すると考えられた。他方，正常に生理活動を営む貝に挿核手術を行なった場合は，貝殻・足糸形成20日以上，生殖細胞の新生40日以上あるいは停止，杆晶体重量30日以上，閉殻筋力20日，蛋白質・含水炭素代謝における異化作用の増大による不均衡の継続30日以上，中腸腺ポルフィリン体量17日となっている。この中には手術後30日の実験終了時まで回復がみられないものも含まれる。このように生理状態の低下と回復の遅延が起こった。この両者の相違は，挿核手術の刺激に対する生体の生理的混乱の強さによってあらわれると考えられた。すなわち，生理的抑制状態のもとでは刺激による内部的混乱が起こり難く，抑制を取り除いた場合は順調に回復が始まると考えられた。

5.　真珠袋上皮細胞の形態は，それが形成されてから円柱，立方，扁平の各形態を経ることになり，分泌形成されるものもそれに従って殻皮質，稜柱質，真珠質と変化する。実験の結果では，挿核手術後の生理状態の在り方によって，これらの変化の仕方が異なることが明らかになった。すなわち，真珠袋が扁平上皮に変化し真珠層を形成する状態になるためには，生理状態が正常である必要があると考えられた。手術後の回復が早い個体では早い時期から扁平上皮が現われ，真珠層の形成が行なわれるので，真珠の品質（形および質）は良好となるが，生理的に低下した状態が続き回復が遅延した場合は，上皮の形態が円柱あるいは立方上皮にとどまり，殻皮層，稜柱層の形成が長い期間行なわれることから，真珠の品質が不良になると考えられた。

6.　上述の実験結果と考察から，仕立て作業の目的は貝の生理活動を抑制することにあり，その効果は直接的には挿核手術後の生理状態の順調かつ早期の回復にあるが，間接的にはそのことから斃死・脱核を阻止して真珠の歩留りを向上させること，さらに真珠袋上皮細胞の変化を促進して真珠の品質を良好に導くなど，広範囲に亘る効果を持つものである。また，これらのことから本作業は挿核手術後の貝の生命管理および真珠の品質管理の意義を有し，優良真珠生産の基礎として真珠の品質の不良化を防止する上で不可欠の作業であると考えられる。

7.　本研究によって，仕立て作業は従来の生殖腺中心の考え方から，貝の生理的抑制を中心とすることとなった。従って，本作業の技術上の基本もそこに置かれることとなり，具体的には貝と環境水との間の物質交換量を減少させる意味で潮流の制禦が提示された。技術改良の方向は今後主としてこの面において行なわれると考えられる。

記　　事

アコヤガイの学名記載変更について

（編集委員）

当研究所では，これまでアコヤガイの学名を

Pinctada martensii (Dunker)

と記載してきたが，波部忠重（1964）が J. S. Hynd（1955）および G. Ranson（1961）の両論文を検討の上，整理したところの

Pinctada fucata (Gould)＝*P. radiata* (Leach) ベニコチヨウガイ

＝*P. martensii* (Dunker) アコヤガイ

にもとずき，今後，原記載に従ってアコヤガイの学名を

Pinctada fucata (Gould)

と記載することとした。なお，本件について懇切なる御指導をいただいた波部忠重氏に深謝する。

参考文献：貝類学雑誌 Venus, 23（1），56—57（1964）.

昭和43年7月1日 印刷
昭和43年7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　池末彌
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

13

July 1968

CONTENTS

Machii, A. Histological studies on the pearl-sac formation ····1489

Wada, K. Electron microscopic observations of the formation of the periostracum of *Pinctada fucata* ····1540

Wada, K. Mechanism of growth of nacre in bivalvia ····1561

Kuwatani, Y. and Nishii, T. Effects on the growth of Japanese pearl oyster of the various alkaline reagents added to the culture water for the control of its pH ····1597

Uemoto, H. Relationship between oxygen consumption by the pearl oyster and its environmental temperature ····1617

Mizumoto, S. Studies on the disease of the shells of pearl oyster (*Pinctada fucata*)—III. On the seasonal process of the disease caused by *Polydora ciliata* ····1624

Sakaguchi, S. Studies on the life-history of the trematode parasitic in pearl oyster, *Pinctada fucata*, and on the hindrance for pearl culture···1635

Sawada, Y. and Taniguchi, M. The oceanographical studies on the pearl culture ground. V. On the seasonal changes of organic matter and phaeophytin contents in bottom mud of the superannuated pearl culture ground ····1689

Sawada, Y. and Taniguchi, M. Studies on the under water blasting of reef in the pearl culture ground (II)—IV. On the change of environment of the pearl culture ground by the under water blasting···1703

Sawada, Y., Taniguchi, M., Wakazono, Y., Ogawa, T. and Nakano, M. Studies on the explosion ploughing of the bottom mud in the superannuated pearl culture ground ····1712

The originals published in other journals

Kuwatani, Y. and Nishii, T. On the rice powder as a diet of the pearl oyster

Uemoto, H. Effects of the physiological control of oyster as previous works of nuclear insertion operation on the pearl formation

Wada, K. Spiral growth of calcitostracum

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