

海棲貝類の飼育と実験^{*}

魚 住

** 悟

10数年前「貝類を研究するのなら飼育してみても……」と井尻先生にすすめられた。正直なところ、当時それほど強い目的意識をもたないままに、動物が好きなことも手伝って飼育に着手した。皆目無知だったので、すでに飼育実験をはじめていた柴田松太郎氏に手ほどきをうけ、飼育のコツを少しずつ会得していった。以来今日まではそぼそではあるが海棲生物を飼育しつづけ、今年で10年目をむかえた老貝すら生きつづけている。

この間、飼育を媒介として海棲動物、海藻、医学、獣医の研究者の知己もふえ、種々の技術の秘伝を口づたえに教えられてきた。いまでは海棲生物を思うままに実験できる自信をやっと得ることができた。また水槽を通じて、個体・群集生態、成長、再生、汚染などさまざまな問題を考えさせられ、教えられている。いいかえると、水槽中の生物は単なる実験の材料としてではなく、むしろ師であり、友であると思われてならない。

この10年間、これらの生物を材料として、思考錯誤の実験も数多くおこなってきたが、今回はとくに石灰化の問題に関して、2,3の観察をのべてみたいと思う。

1. 貝類殻体にみられる石灰化現象

— Compartment Hypothesis に関連して —

Bevelander and Nakahara(1969)は海棲斧足類殻体の真珠層を材料として、超薄切片によるTEM電顕の研究から、真珠層における石灰化は、有機基質・コンキオリンの形成によって先行され、このシート間に結晶が形成されることを明らかにした。いわゆる Compartment Hypothesis とよばれているものである。

一方 Mutvei(1972)は以前より独自の見地から両

者の関連に着目し検討をすすめ、近年見事な SEM電顕像から、この説を強く支持している。しかしこの仮説には異論もあり、必ずしも固定しているとはいえない。

筆者もコンキオリンと結晶の相関には深い関心をもってきたが、従来の諸説に対し1つの疑問をもっていた。それは貝類の種属のちがいによって、石灰化のプロセスが異なるものであろうか。また殻体の構築構造の差によって、異なった石灰化のプロセスをとりうるものであろうか。むしろ基本的には単純で共通なものがあるのでは……ということであった。

いま種々の貝類の飼育実験を通じて、肉眼的にも、電顕レベルでも、また腹足類であれ、斧足類であれ、殻体の石灰化の過程とともに Compartment Hypothesis を支持しうる観察をおこなうことが出来た。すなわち、ひとつには殻体形成場における石灰化現象の観察であり、いまひとつは個体発生における殻体形成の過程での観察である。

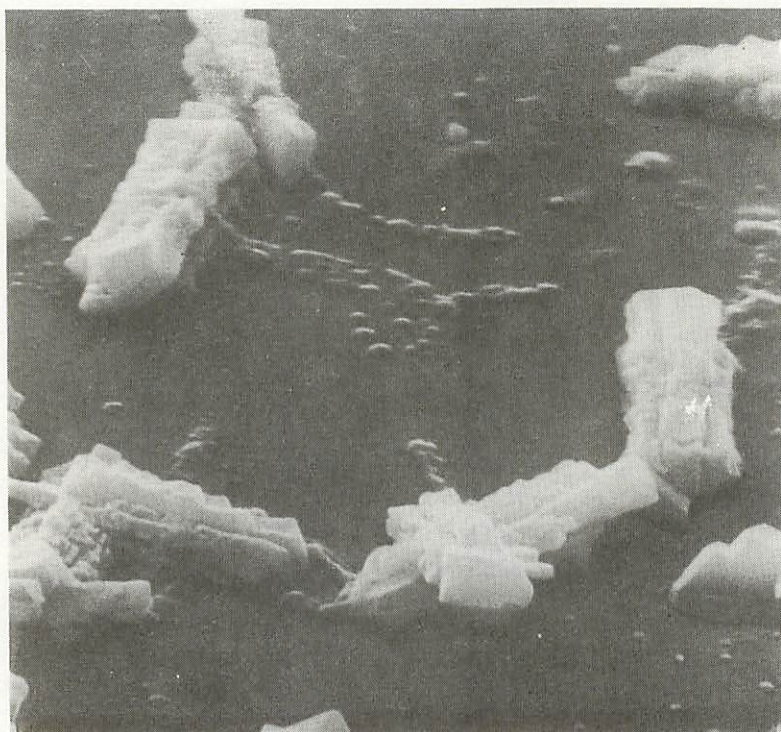
a) 殻体形成場における真珠層の形成

殻体形成場における石灰化現象の検鏡において、もっとも留意しなければならないのは検鏡資料作製過程に生ずる artifactの有無である。したがって硬組織といえど、生体組織同様に細心の注意を払い、出来るかぎり形成場の状態を生体時と同一の状態に保持するよう努めねばならない。今回はつぎの方法によりよい結果をえた。すなわち生体の海中での開口→殻体剝離と Extrapallial fluid 洗浄→汙過海水で再洗→25%グルタールアルデヒド海水固定→水洗→(有機物1部除去)→乾燥→蒸着→ただちに検鏡、である。

その観察結果の1部はすでに別報したので詳細は省略するが、Sheet Nacreであれ、Columnar Nacreであれ、石灰化(結晶成長)はコンキオリン薄膜の形成によって先行されていることは全く明

* 第48回化石研究会例会(1974年6月)にて講演

** 北海道大学教養部地学教室



写真説明

エゾボラ殻体形成にみられる結晶の晶出の初期段階：有機質顆粒の列が結晶に連結している。この顆粒にはまだ Ca^{++} の濃集がない。6,000倍

らかな事実となったと考える。いままでのCompartment Hypothesisに対する異論（少くともその1部）は資料作製上に生じたartifactに起因しているように思われる。たとえば、殻体形成場におけるコンキオリン薄膜は容易に、しかも単時間で海水中では溶脱する。また乾燥資料においても除去に断片的に剥脱しうるからである。

b) 個体発生における殻体形成過程

エゾボラの仲間は北海道沿岸においては5～6月にかけて産卵の最盛期である。しかし実験室の水槽中では水温の関係もあり3～5月にかけて産卵する。

〔例〕1974.4.1.17時 産卵開始 Egg capsule, 0.3mm 各 Capsule 約5時間で生み、殻体を回転しながら円塔上に累積。

1974.4.17.終了 Egg mass 径3cm, 高さ10cm。

5.7: Trochophore となる（球状）。

5.9: Veligerに移る。第1終殻形成開始、透明・脆弱な繊維質薄膜により原形を形成。

5.15: 第1終殻の色変化：黒紫色となり、石灰化がかなり進行したものと思われる。

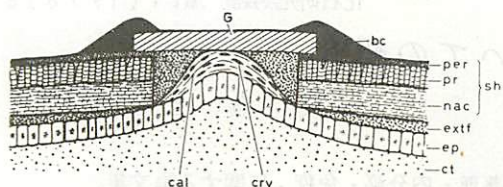
産卵後約2ヶ月半で Egg capsuleよりふ化。 pH 6.8, 室温18°C。

以上の発生過程において、Veliger時代の殻体、すなわち larval shellは初めは貝殻腺により分泌

され、後には外套膜よりの分泌で成長する。5月15日にみられる第1終殻の色調変化は変態後生じた殻体であり個体特有の彫刻、形、色などをそなえているわけである。これらの過程にみられる石灰化は、巨視的には、原殻、終殻ともに形成の初期には有機膜による原形が先行し、逐次石灰化してゆくのが観察される。また電顕下では、有機膜の"sac"あるいは"sheath"が形成され、その内部に漸次結晶が沈積する。あるものは $700\text{\AA} \sim 900\text{\AA}$ の結晶粒が散点し、ある場合は全く空洞である。しかし後期においては結晶によってほとんど充填されている。いいかえると、個体発生の初期における殻体形成は有機基質による殻体原形の形成後、その空洞をaragoniteの結晶の核化、成長がおこなわれ、原殻、第1終殻を形成してゆくと言えよう。（詳細別報予定）

II. 生体内石灰化実験

海棲貝類をもちいての石灰化実験では、従来麻醉法や機械的開口によって生体内の実験がおこなわれた。この方法で外套膜上皮細胞による石灰化実験を試みる場合、外套膜の1部破損や外套線付着部の1部剝離を余儀なくされる。そのため、生物の衰弱や海水の侵入による汚染など不都合な場合がおりやすい。一方陸生貝類でおこなわれている殻体表面からの1部除去の方法は、海棲生物



第1図: *Mytilus edulus* の殻体再生実験

cal: calcaireous; cry: 結晶粒; bc: 歯科用セメント; ep: 外套膜上皮細胞; extf: extrapallial fluid; G: ガラス; nac: 真珠層; pen: 外皮; pr: 稜柱層

の場合、その後の外界からの汚染をふせぐことがかなり困難となる。さらに石灰化実験を行う部位のコントロールが自由におこなえない。二枚貝の片殻全面剥脱、1部除去による実験も試みているが、短期の実験は別として、長期では種々のトラブルがあり、また最終資料の回析がむずかしい。したがって、つぎの方法を用いて実験を試みた。

外套線の内側を1~2 cm²高速エンジン切断機で殻体上面より切断、剥離→すばやくスライド・ガラスから整形したカバーで被覆→殻体との境界を歯科用セメントで密着する。

この方法の利点は石灰化の進捗状態を逐次外面から観察出来る。外套膜上皮細胞とガラス間の空隙の条件を自由にコントロール出来る。さらに生物が長期間の実験にたえ、海水からの種々の汚染をこうむらない。などである。

[例] *Mytilus edulus* の生体内石灰化実験

●1974.9.29.13時: 成貝の外套線より約3 mm内側 2 cm²を切断除去→ガラスで密閉、外套膜上皮細胞とガラス間は空気層となる。

●ただちに上皮細胞が屈曲浮上し貝殻切断部に付着。

●9.30.13時: ガラスと外套膜の空隙はExtrapallial fluidにより約2/3埋められる。

●10.1.9時: 上記空隙はExtrapallial fluidで完全充填、すぐ被覆ガラス内面にくもりを生ず。

●くもりは逐次暗褐色化し、Calcaireousの形成が始まったことが明らかとなる。

以上の実験は同種多数の個体を同時にこない、必要に応じ、各段階ごと殻体をはづし、検討がおこなわれた。

観察結果:

繊維質有機質膜 (Calcaireous) の形成

その膜内部に有機質顆粒の形成→数の増加→融合大化

↓
Ca⁺⁺の濃集

前記顆粒より結晶誕生: 花卉状, 針状, 球状,

米粒状 etc.

↓
顆粒, 結晶の数の増加→空隙の充填

↓
結晶融合, 内部構造の再配列→板状となり [011] へ広がる

↓
板状結晶の平行連晶, 集連晶, 疑六方双晶などによる融合大化→六角板状となる

↓
結晶縁辺部より [001] 方向へと成長

↓
厚さを増大, Prism, Block 状となる

↓
Nacreの構造を構築

以上生体内石灰化実験について事実を主体として、各個体に共通してみられる結晶晶出の過程を概論的にのべたが、ある個体においては、有機質 Calcaireous sheet のリズムミクな形成が非常に早く、結晶の晶出が充分におこなわれず、layer by layer sheet の sheet の空隙に花卉, 米粒, 球状あるいは板状の結晶が散点するにすぎないものもある。いいかえると、殻体の再生は主として有機質 sheet の早急な分泌形成によって補填されるといえる。

この実験を通じて Compartment Hypothesis に関連しては2つのことが言えよう。

1) 殻体の再生石灰化は主として有機質 (calcaireous sheet) の形成で先行され、その間に結晶が充填する。

2) 結晶核の形成は Calcaireous sheet の内部における有機質顆粒の形成により始まる。顆粒の数の増加・連結と Ca⁺⁺ の濃集により、同質多像の結晶が晶出する。

上述の2つの現象は、異なる次元のことではあるが、結晶の晶出が有機質の sheet または顆粒によって先行されることは明らかである。

以上概括的に2つの石灰化現象についてのべたが、このような実験のつみ上げから、結晶の形態、大きさ、成長過程、構築構造、有機-無機物質の相関から、生態的、生理的データをひきだしうるかもしれない。かくて殻体構造の起源を追求し、石灰化の機序を探究し、E. Stenius 教授が魚類化石でなしとげたような、生理的意味での復元をやりたいと考えている。