

# 淡水海綿の芽球口孔及び骨片の走査電子顕微鏡的観察

川崎医科大学 生物学教室

益田芳樹・高橋洋子・佐藤国康

(昭和56年9月14日受理)

Scanning Electron Microscopic Observation on Micropyles  
and Spicules of the Fresh-water Sponges

Yoshiki MASUDA, Yoko TAKAHASHI and Kuniyasu SATOH

Department of Biology, Kawasaki Medical School

Kurashiki 701-01, Japan

(Received on Sep. 14, 1981)

岡山県内に生息する淡水海綿の芽球口孔及び骨片を走査電子顕微鏡で観察した。走査電子顕微鏡用の芽球口孔の試料作製法は従来の光線顕微鏡用より短時間で簡便である。走査電子顕微鏡下では表面の立体観察や微細構造の観察も可能であり良い結果を得られる。

岡山県美作町で採れた ジーカイメン の観察結果から 同種は ジーカイメン *Trochospongilla phillottiana* ANNANDALE やその多くの亜種とも区別できるので 採集地名にちなんで *Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakensis* ssp. nov. と命名した。

With Scanning electron microscopy (SEM), we observed micropyles and spicules of fresh-water sponges in Okayama Prefecture, which are listed followed list.

The method preparing specimens for SEM observation on micropyles is easier and faster than that for light microscopic observation. Besides, we can observe surface structure and ultrastructure of micropyles with SEM.

A new subspecies of *Trochospongilla phillottiana* was named after Mimasaka-cho where it had been collected, *Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakensis* ssp. nov.

*Eunapius fragilis* (LEIDY)

*Radiospongilla cerebellata* (BOWERBANK)

*Radiospongilla crateriformis* (POTTS)

*Radiospongilla sendai* (SASAKI)

*Ephydatia mülleri* (LIEBERKHÜN)

*Ephydatia japonica* (HILGENDORF)

*Ephydatia fluviatilis* (LINNEAUS)

*Heterorotula multidentata* (WELTNER)

*Heteromeyenia stepanowii* (DYBOWSKY)

*Trochospongilla phillottiana* ANNANDALE

*Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakensis* ssp. nov.

## 緒 言

淡水海綿は主に骨片及び芽球口孔の形態を指標として分類される<sup>1)</sup>。佐々木は日本、千島、樺太、朝鮮、台湾に産する9属29種の芽球口孔の構造を調べ報告している。佐々木は芽球の連続薄切切片を作製し光線顕微鏡で観察している<sup>2)~6)</sup>。この試料作製法は硬い芽球骨片の存在のため薄切は困難で試料作製にも時間を要する。

著者らは走査電子顕微鏡を用い骨片及び芽球口孔の構造を観察したので結果を報告する。

## 材料及び方法

次の岡山県内に産する6属10種と1亜種を材料とした<sup>7)~9)</sup>。

- 1 *Eunapius fragilis* (LEIDY) ヨワカイメン
- 2 *Radiospongilla cerebellatta* (BOWERBANK) アナンデルカイメン
- 3 *Radiospongilla crateriformis* (POTTS) フンカコウカイメン
- 4 *Radiospongilla sendai* (SASAKI) センダイカイメン
- 5 *Ephydatia mülleri* (LIEBERKHÜHN) ミュラーカイメン
- 6 *Ephydatia japonica* (HILGENDORF) ミュラーカイメンモドキ
- 7 *Ephydatia fluviatilis* (LINNEAUS) カワカイメン
- 8 *Heterorotula multidentata* (WELTNER) マツモトカイメン
- 9 *Heteromeyenia stepanowii* (DYBOWSKY) カワムラカイメン
- 10 *Trochospongilla phillottiana* ANNANDALE ジーカイメン
- 11 *Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakensis* ssp. nov.

淡水海綿の浮遊芽球は岡山県では10月頃から池の水面にみられる。浮遊芽球がみられる頃は海綿体内の芽球形成も完了したと考え1980年10月から翌年1月にかけて池や河川の浮遊芽球及び芽球を含む海綿体を採集した。

芽球口孔観察には8%パラフォルムアルデヒド(pH 7.3)で固定した芽球を用いた。1%四酸化オスミウムで1時間再固定しエタノールで脱水し臨界点乾燥を行なった。その後、芽球はそのまま又は芽球口孔の断面をみるために一部の芽球を芽球口孔の通る面でカミソリを使い2つに切断し、金パナジウムで蒸着後日立走査型電子顕微鏡(HHS-2R)で観察した。

骨片観察には芽球を含む海綿体あるいは浮遊芽球を濃硝酸につけ肉質を十分に溶かした後、十分に水洗し骨片をとりだした。骨片は金パナジウムで蒸着後走査電子顕微鏡で観察した。

## 観 察 結 果

芽球口孔 (Micropyle)

### 1 ヨワカイメン *Eunapius fragilis* (LEIDY)<sup>2)</sup>

芽球は通常2個から数個が共通の気胞被(pneumatic layer)で包まれる(第1図a)。芽球口孔は各芽球に1つずつで口孔管(Foraminal tubule)は円筒状で太くて短かく、直立ある

いはやや曲がり、その先端部は周囲の外部キチン膜 (Outer chitinous layer, Outer gemmular membrane) からわずかに突出する (第1図b, c)。

2 アナデルカイメン *Radiospongilla cerebellata* (BOWERBANK)<sup>3)</sup>

芽球口孔は通常各芽球に1つである。口孔管は長い円筒状で周囲の外部キチン膜より長く突出し屈曲する。口孔管の先端部は管壁も薄くなって閉じられる。先端近くの外周には網状構造をした付属物 (girdle of reticular structure) がみられる (第2図a, b, c)。

3 フンカコウカイメン *Radiospongilla crateriformis* (POTTS)<sup>3)</sup>

芽球口孔は通常各芽球に1つである。口孔管は長い円筒状でその周囲の外部キチン膜から少し突出する (第3図b)。突出する先端部は表面の周囲にいくつかの小さな窪みをもつ (第3図a)。

4 センダイカイメン *Radiospongilla sendai* (SASAKI)<sup>3)</sup>

芽球口孔は通常各芽球に1つである。口孔管は短かくその先端は閉じられ、たる状を呈する (第4図a, b)。

5 ミュラーカイメン *Ephydatia mülleri* (LIEBERKHÜHN)<sup>2)3)</sup>

6 ミュラーカイメンモドキ *Ephydatia japonica* (HILGENDORF)

両種の違いは骨格骨片の微棘の多少だけである。芽球口孔の構造はミュラーカイメンモドキ<sup>2)3)</sup>について述べる。芽球口孔は各芽球に1つである。口孔管をもたない。口孔 (Foramen) はその円周に外に広がる膜状の襟 (peripheral collar) をもち、全体として皿状である (第5図a, b)。

7 カワカイメン *Ephydatia fluviatilis* (LINNEAUS)<sup>2)3)</sup>

芽球口孔は通常各芽球に1つである。口孔管をもたない。口孔はその円周に外に広がる膜状の幅狭い襟をもつ (第6図a, b)。

8 マツモトカイメン *Heterorotula multidentata* (WELTNER)

本種は1979年岡山県和気町の吉井川に日本では初めて採集された。世界ではオーストラリアにのみ生息が確認されている<sup>10)~12)</sup>。芽球口孔は通常各芽球に1つで口孔管はない。口孔の周囲に膜状に広がる襟をもつ (第8図a, b)。

9 カワムラカイメン *Heteromeyenia stepanowii* (DYBOWSKY)<sup>2)3)</sup>

芽球口孔は通常各芽球に1つである。口孔管は長い円筒状で周囲の外部キチン膜より突出し直立する (第7図b)。口孔管の先端は薄壁となり閉じる。先端近くの外周には放射状に伸びる数本の膜状の突起 (cirrus appendages, crownlike rim, lobelike projection) をもつ (第7図a)。

10 ジーカイメン *Trochospongilla phillottiana* ANNANDALE<sup>4)5)</sup>

本種の分布は西日本に限られ岡山県でも瀬戸内地方に限定される<sup>9)</sup>。芽球は他種に比べ小さい。芽球の表面は凹凸のしわ状で多数の小さな穴をもつ (第9図a)。芽球口孔は通常各芽球に1つであるが表面からは認めにくい (第9図b)。切断面でみると芽球口孔の周囲は気胞被

がうすくなっている。口孔管は短かく円筒状で、管内の構造は気胞被の中部気胞層 (middle pneumatic layer, gemmular layer) と似て多くの小さな部屋 (air space, air cell) をもつ (第9図c)。

11 *Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakensis* ssp. nov. (新亜種)

本亜種は1980年岡山県美作町北坂の古池で採集された。芽球はジーカイメン *Trochospongilla phillottiana* ANNANDALE に比べ大きくその表面も滑らかである (第10図a)。芽球口孔は通常各芽球に1つである。口孔管はない。口孔の周囲に外へ膜状に広がる襟をもち全体として皿状である (第10図b, c)。

骨片 (Spicule)

岡山県産の淡水海綿はすべて海綿体を支持する骨格骨片 (Skeleton-spicule, Megasclere) をもっている。また、全種類が芽球を形成するので芽球骨片 (Gemmule-spicule, Gemmosclere) をもつ。アナンデルカイメンとカワムラカイメンの2種では更に遊離小骨片 (Flesh-spicule, Microsclere) をもっている (第13図b, 第17図c)。

走査電子顕微鏡下では骨片の立体観察も可能であり、高分解能のため骨片表面の微棘の有無や形はこまかく観察できる。しかし後述した1つの例 (ジーカイメン) を除いて、走査電子顕微鏡による骨片の観察は光線顕微鏡観察よりもはるかに優る結果は得られなかった (第11~18図, 第20図)。

瀬戸内地方産のジーカイメン *Trochospongilla phillottiana* ANNANDALE の骨格骨片は両針体 (Amphioxea) と棍棒体 (Amphistrongyla) の両方をもっている (第11図j)。芽球骨片は両盤体で上盤は下盤よりやや小さい (第19図b)。上盤・下盤とも周縁は上方にそり返り更に内側へ深くまわりこむ (第19図a)。

美作産のジーカイメン *Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakensis* ssp. nov. の骨格骨片は両針体 (第11図k) と棍棒体の両方をもつ。棍棒体よりも両針体が多くみられる。芽球骨片は両盤体で、上盤は下盤より小さい (第19図d)。上下両盤の周縁は上方内側へ浅くまわりこむ (第19図c)。

**Table 1.** Measurements of spicules from *Trochospongilla phillottiana* ANNANDALE and *Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakensis* ssp. nov.

	<i>T. phillottiana</i> ANNANDALE	<i>T. phillottiana</i> subsp. <i>mimasakensis</i>
Skeleton-spicule Length	161 $\mu$ m~219 $\mu$ m(192 $\mu$ m)	137 $\mu$ m~267 $\mu$ m(217 $\mu$ m)
Gemmule-spicule Diameter of upper rotule	15.3 $\mu$ m~18.4 $\mu$ m(16.7 $\mu$ m)	8.2 $\mu$ m~12.2 $\mu$ m(10.3 $\mu$ m)
Diameter of lower rotule	19.4 $\mu$ m~21.4 $\mu$ m(20.4 $\mu$ m)	14.5 $\mu$ m~18.4 $\mu$ m(16.6 $\mu$ m)

( ): average

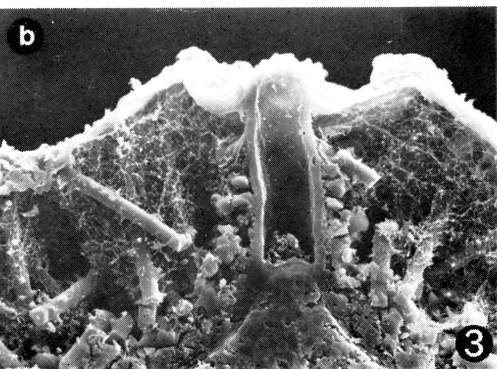
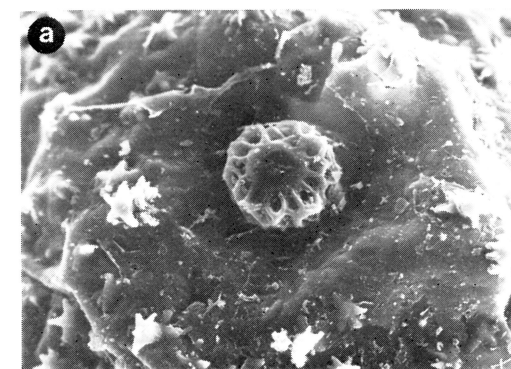
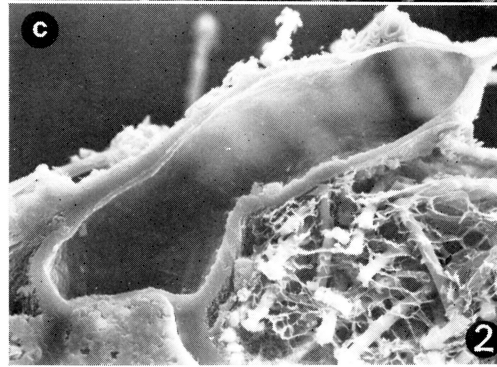
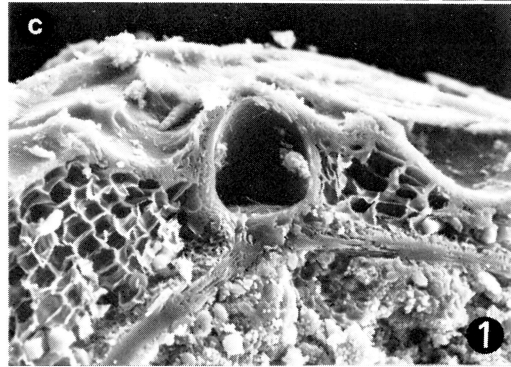
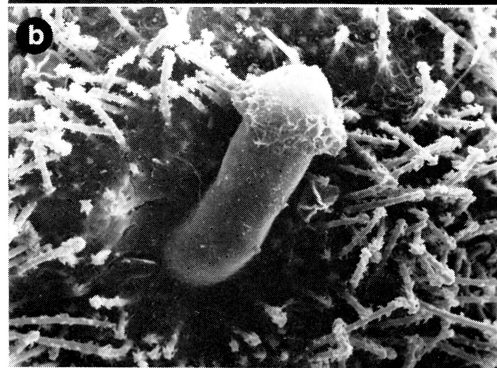
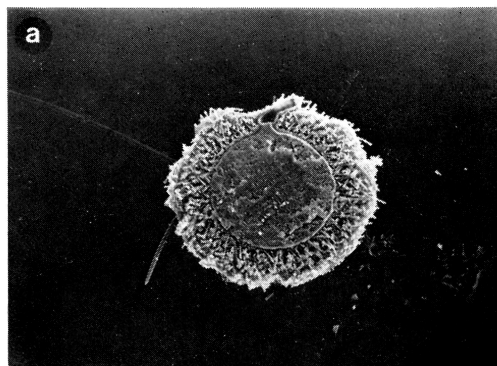
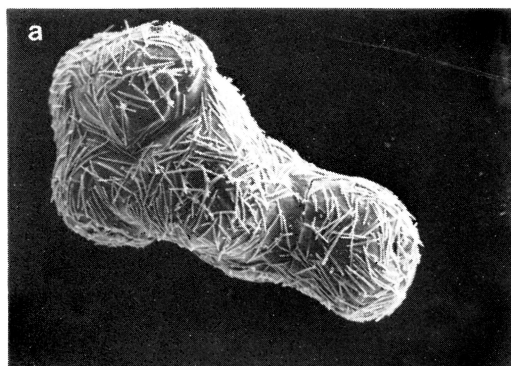


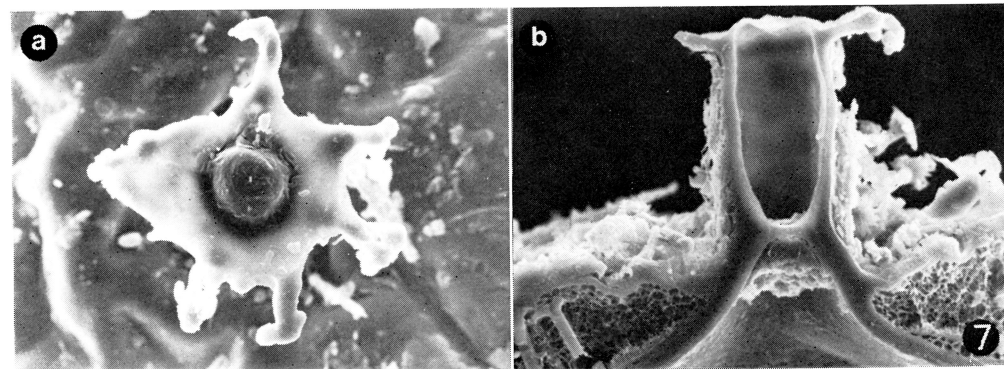
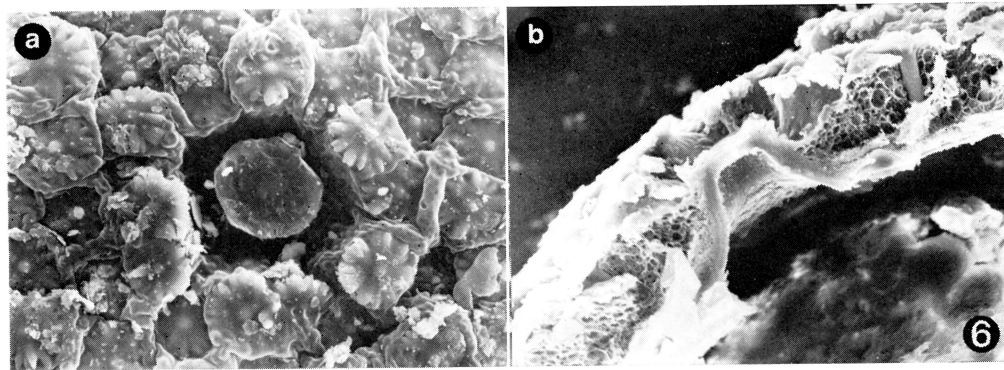
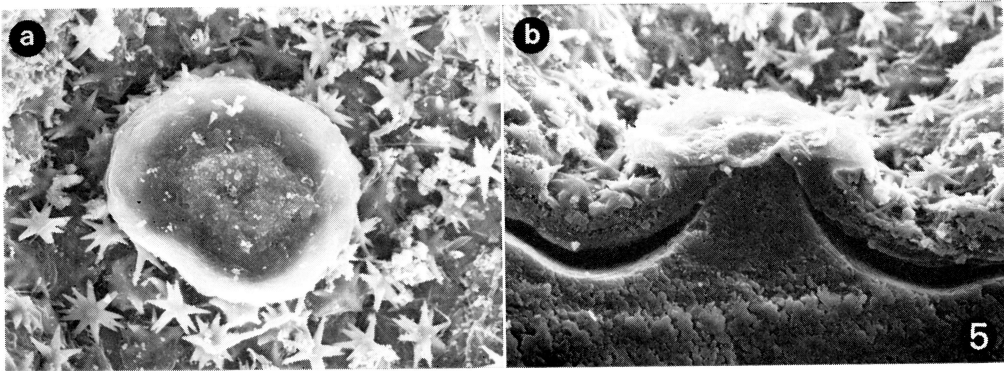
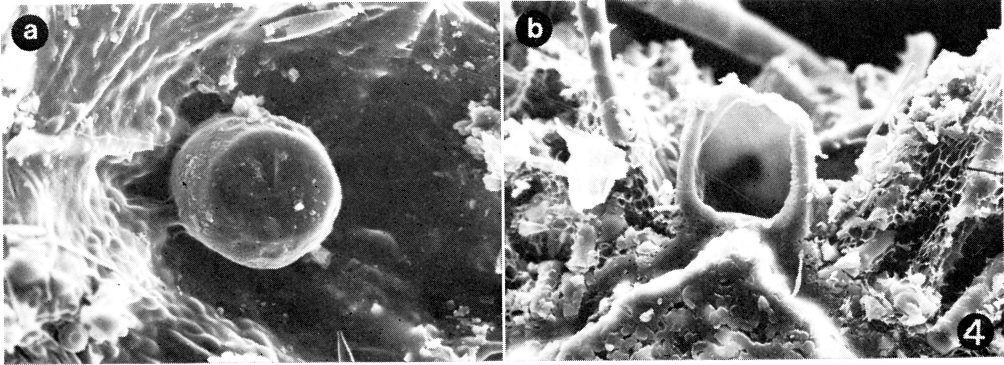
上述した2地方の骨片の間に差を認めた(第1表)。*Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakanensis* ssp. nov. の骨格骨片は *T. phillottiana* ANNANDALE よりやや長いものが多い。芽球骨片は両種共、上盤の径が下盤よりも小さいが、その小さい割合は *T. phillottiana* subsp. *mimasakanensis* ssp. nov. の方が *T. phillottiana* ANNANDALE の割合より明らかに小さい。

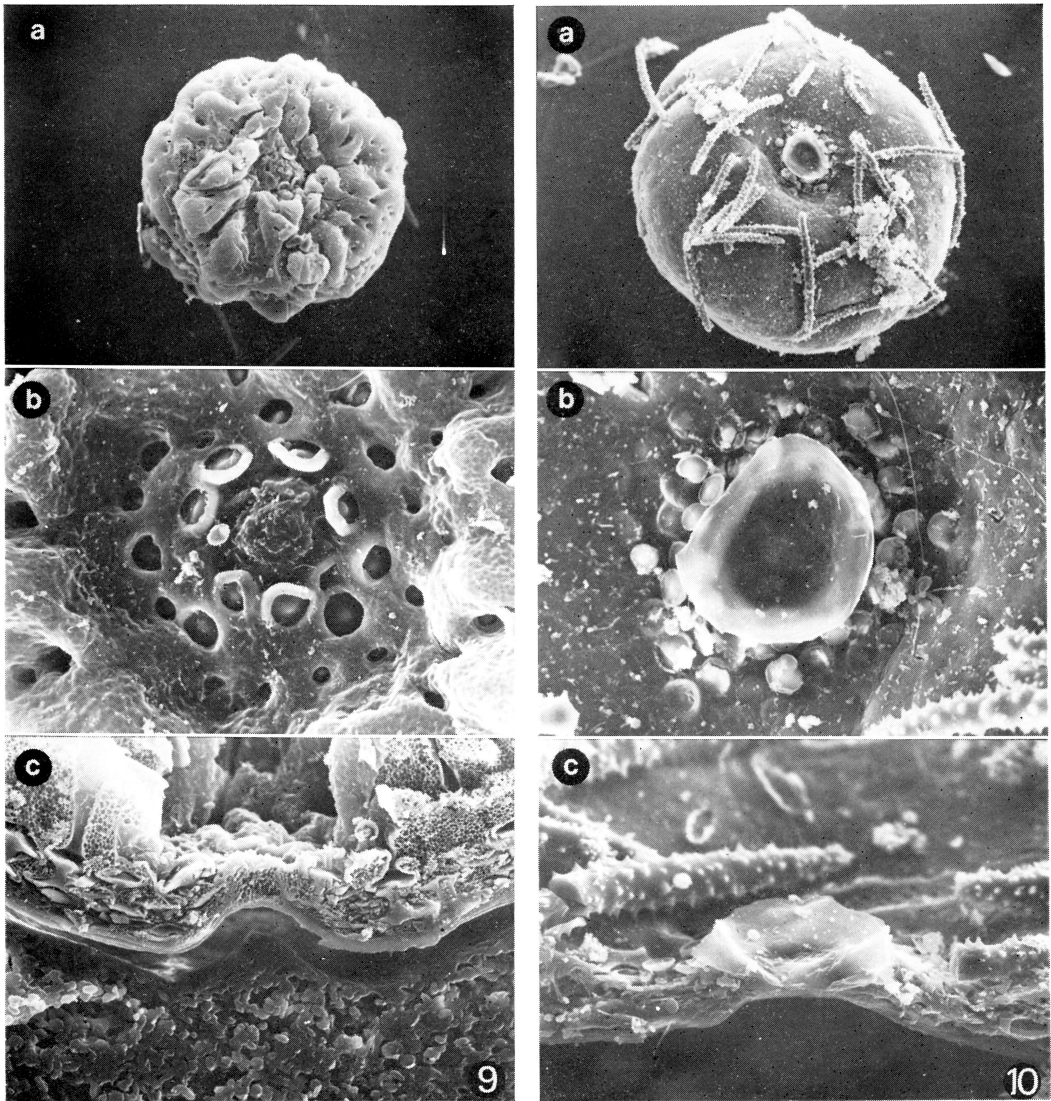
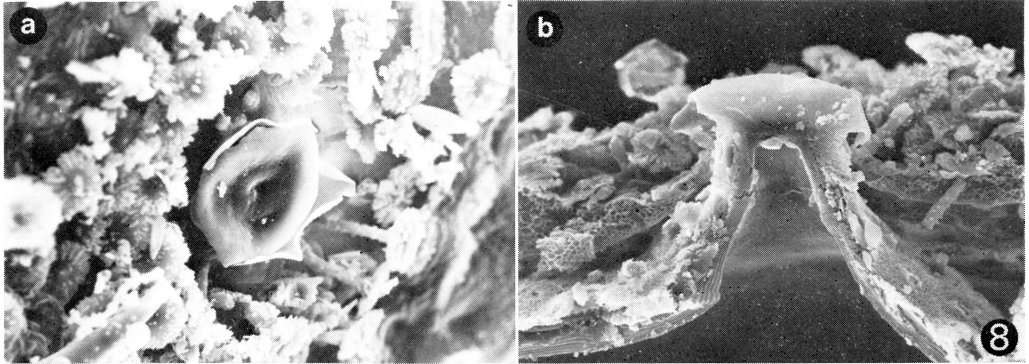
## 考 察

淡水海綿の芽球口孔の観察は従来、連続薄切切片法により光線顕微鏡下でなされてきた。しかし硬い芽球骨片のため薄切は困難で、試料作製にも時間を要する。これに比べ、今回用いた走査電子顕微鏡用の試料作製は時間も短かく簡便である。また走査電子顕微鏡下では表面の立体観察や微細構造の観察も可能である。

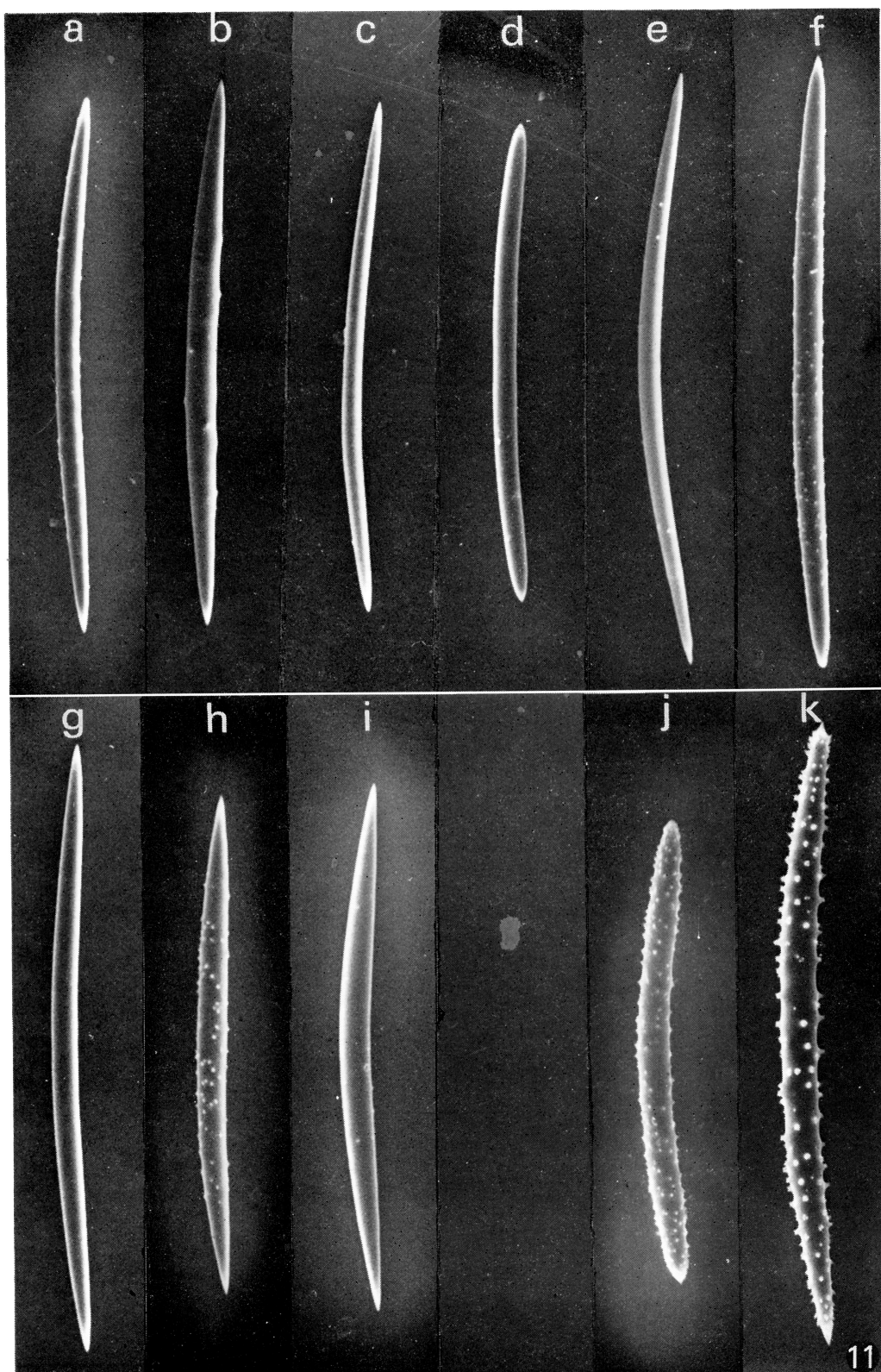
今回の観察で美作産のジーカイメンの芽球口孔はその周縁に襟状構造をもつが瀬戸内地方産のジーカイメンではこの襟を欠き芽球口孔は認めにくいことがわかった。美作産のジーカイメンは生息分布域、芽球の表面構造、芽球口孔、芽球骨片に関して瀬戸内地方産のジーカイメンとは区別しうる特徴をもっている。これらの特徴は ANNANDALE<sup>13)</sup> や GEE<sup>14)~19)</sup> の記載にみられるいずれの亜種とも区別しうる。したがって美作産のジーカイメンを独立亜種とし採集地にちなみ *Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakanensis* ssp. nov. として報告する。

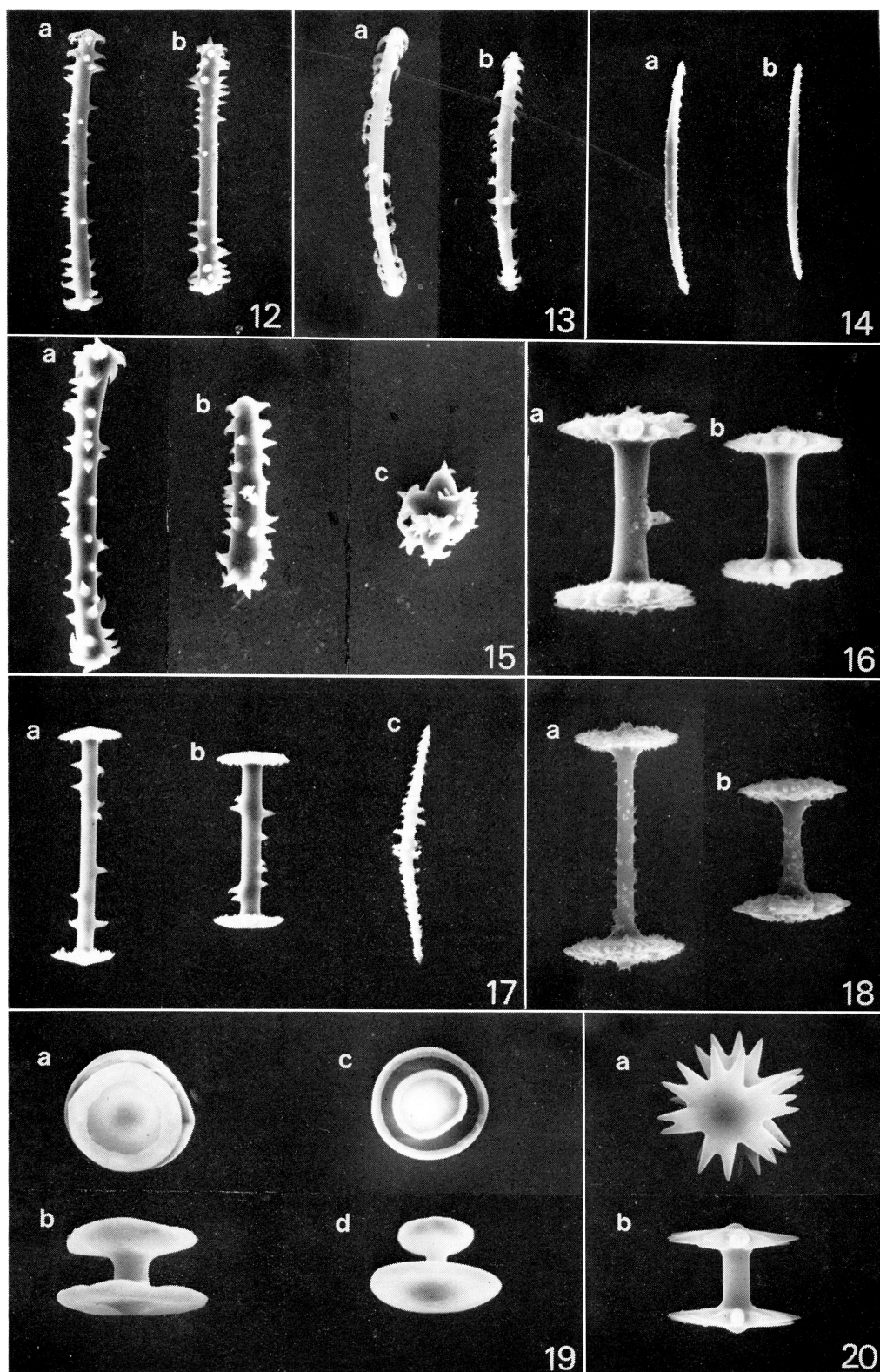












## Explanation of Figures

- Fig. 1** *Eunapius fragilis* (LEIDY)  
 a Gemmules.  $\times 60$   
 b Apical view of foraminal tubule.  $\times 490$   
 c A profile of micropyle cut vertically.  $\times 490$
- Fig. 2** *Radiospongilla cerebellata* (BOWERBANK)  
 a A profile of gemmule cut at the position of micropyle.  $\times 49$   
 b Apical view of foraminal tubule.  $\times 250$   
 c A profile of micropyle cut vertically.  $\times 330$
- Fig. 3** *Radiospongilla crateriformis* (POTTS)  
 a Apical view of foraminal tubule.  $\times 490$   
 b A profile of micropyle cut vertically.  $\times 490$
- Fig. 4** *Radiospongilla sendai* (SASAKI)  
 a Apical view of foraminal tubule.  $\times 490$   
 b A profile of micropyle cut vertically.  $\times 490$
- Fig. 5** *Ephydatia japonica* (HILGENDORF)  
 a Apical view of micropyle.  $\times 490$   
 b A profile of micropyle cut vertically.  $\times 490$
- Fig. 6** *Ephydatia fluviatilis* (LINNEAUS)  
 a Apical view of micropyle.  $\times 490$   
 b A profile of micropyle cut vertically.  $\times 490$
- Fig. 7** *Heteromeyenia stepanowii* (DYBOWSKY)  
 a Apical view of foraminal tubule.  $\times 490$   
 b A profile of micropyle cut vertically.  $\times 390$
- Fig. 8** *Heterorotula multidentata* (WELTNER)  
 a Apical view of micropyle.  $\times 490$   
 b A profile of micropyle cut vertically.  $\times 490$
- Fig. 9** *Trochospongilla phillottiana* ANNANDALE  
 a Gemmule.  $\times 125$   
 b Apical view of micropyle.  $\times 490$   
 c A profile of micropyle cut vertically.  $\times 490$
- Fig. 10** *Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakensis* ssp. nov.  
 a Gemmule.  $\times 125$   
 b Apical view of micropyle.  $\times 490$   
 c A profile of micropyle cut vertically.  $\times 490$
- Fig. 11** Skeleton-spicule  
 a *Radiospongilla crateriformis* (POTTS)  $\times 345$   
 b *Radiospongilla sendai* (SASAKI)  $\times 345$   
 c *Radiospongilla cerebellata* (BOWERBANK)  $\times 345$   
 d *Eunapius fragilis* (LEIDY)  $\times 345$   
 e *Heteromeyenia stepanowii* (DYBOWSKY)  $\times 345$   
 f *Heterorotula multidentata* (WELTNER)  $\times 345$   
 g *Ephydatia fluviatilis* (LINNEAUS)  $\times 345$   
 h *Ephydatia mülleri* (LIEBERKHÜHN)  $\times 345$

- i *Ephydatia japonica* (HILGENDORF)  $\times 345$   
 j *Trochospongilla phillottiana* ANNANDALE  $\times 520$   
 k *Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakensis* ssp. nov.  $\times 520$
- Fig. 12** *Radiospongilla crateriformis* (POTTS)  
 a, b gemmule-spicule  $\times 600$
- Fig. 13** *Radiospongilla cerebellata* (BOWERBANK)  
 a gemmule-spicule  $\times 600$   
 b flesh-spicule  $\times 600$
- Fig. 14** *Eunapius fragilis* (LEIDY)  
 a, b gemmule-spicule  $\times 600$
- Fig. 15** *Radiospongilla sendai* (SASAKI)  
 a, b gemmule-spicule  $\times 600$   
 c abnormal gemmule-spicule  $\times 600$
- Fig. 16** *Ephydatia fluviatilis* (LINNEAUS)  
 a, b gemmule-spicule  $\times 1,000$
- Fig. 17** *Heteromeyenia stepanowii* (DYBOWSKY)  
 a long gemmule-spicule  $\times 600$   
 b short gemmule-spicule  $\times 600$   
 c flesh-spicule  $\times 600$
- Fig. 18** *Heterorotula multidentata* (WELTNER)  
 a long gemmule-spicule  $\times 1,000$   
 b short gemmule-spicule  $\times 1,000$
- Fig. 19** *Trochospongilla phillottiana* ANNANDALE  
 a apical view of the gemmule-spicule  $\times 1,300$   
 b side view of the gemmule-spicule  $\times 1,300$   
*Trochospongilla phillottiana* subsp. *mimasakensis* ssp. nov.  
 c apical view of the gemmule-spicule  $\times 1,300$   
 d side view of the gemmule-spicule  $\times 1,300$
- Fig. 20** *Ephydatia japonica* (HILGENDORF)  
 a apical view of the gemmule-spicule  $\times 1,300$   
 b side view of the gemmule-spicule  $\times 1,300$

## 文 献

- 1) 佐々木信男 (1973) 淡水海綿. 川村日本淡水生物学. 北隆館: 193-199.
- 2) Sasaki, N. (1934) Report on the Fresh-water Sponges obtained from Hokkaido. Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ. Sendai, Japan, Ser. 4, 9: 219-247.
- 3) Sasaki, N. (1934) The fresh-water Sponges obtained in Northeast Honshu, Japan. Saito Ho-on kai Museum Research Bulletin, 9: 1-30.
- 4) 佐々木信男 (1967) 台湾に産する淡水海綿. 水産大学研究報告 16 (1): 29-50.
- 5) 佐々木信男 (1969) 四国九州産の淡水海綿について. 水産大学研究報告 17 (3): 161-178.
- 6) 佐々木信男 (1980) 淡水海綿の芽球口孔の形態学的研究. 武蔵野女子大学紀要 (15): 1-12.
- 7) 益田芳樹・高橋洋子・佐藤国康・松本邦夫 (1979) 岡山県南部の池に産する淡水海綿について. 川崎医学会誌一般教養編 (5): 45-54.
- 8) 益田芳樹・佐藤国康・梶田博司 (1979) 吉井川で採れた淡水海綿 *Heterorotula* sp. について. 川崎



- 医学会誌一般教養編 (5) : 113-116.
- 9) 益田芳樹・高橋洋子・佐藤国康・松本邦夫 (1980) 岡山県中北部の池に産する淡水海綿について. 川崎医学会誌一般教養編 (6) : 75-83.
- 10) Gee, N. G. (1932) Another Collection of Freshwater Sponges from Philippine Islands. Philippine Journ. Sci. **49** (4) : 505-541.
- 11) Weltner, W. (1895) Spongillidenstudien. III. Katalog und Verbreitung der bekannten Süßwasserschwämme. Arch. f. Naturg. **61** (1) : 114-144.
- 12) Penney, J. T. and A. A. Racek (1968) Comprehensive Revision of a Worldwide Collection of Freshwater Sponges (Porifera: Spongillidae). United States National Museum Bulletin **272** : 1-184.
- 13) Annandale, N. (1907) Notes on the Freshwater Fauna of India. 9. Description of new Freshwater Sponges from Calcutta with a Record of two known Species from Himarayas, and a List of the Indian form. Jour. & Proc. Asiatic Soc. Bengal **3** : 15-16.
- 14) Gee, N. G. (1926) Freshwater Sponges. China Jour. Sci. Arts **4** (4) : 180-184.
- 15) Gee, N. G. (1930) Notes on the Freshwater Sponges. *Trochospongilla phillottiana* and its varieties. Rec. Indian Mus. **32** : 491-495.
- 16) Gee, N. G. (1930) Notes on Oriental Freshwater sponges. III. The Chinese Freshwater Sponges. Lingnan Sci. Journ. **9** (4) : 369-375.
- 17) Gee, N. G. (1930) Notes on the Freshwater Sponges from Dutch East Indies. II. Descriptions. Treubia **12** (1) : 67-114.
- 18) Gee, N. G. (1931) Freshwater Sponges from Australia and New Zealand. Rec. Australian Mus. **18** : 25-62.
- 19) Gee, N. G. (1932) The Genus *Trochospongilla* of Freshwater Sponges. Peking Nat. Hist. Bull. **6** (2) : 1-32.