

淡水海綿の芽球殻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・佐藤国康

(昭和59年9月14日受理)

Scanning Electron Microscopic Observation on Gemmule
Coats of Freshwater Sponges.

Yoshiki MASUDA and Kuniyasu SATOH

Department of Biology, Kawasaki Medical School

Kurashiki 701-01, Japan

(Received on Sep.14, 1984)

概 要

日本に生息する8属11種(含1亜種)の淡水海綿の芽球殻を走査型電子顕微鏡で観察した。ヌマカイメンを除く他種の芽球殻は芽球外膜, 気胞層, 芽球内膜の3層から構成されていた。ヌマカイメンの芽球殻には上記の3層から構成されているものと芽球内膜のみから構成されているものの, 2つの型がみられた。3層の構造をもつ芽球殻の気胞層は多くの小部屋と網目状の繊維の二者の分布の有無で3つのグループにわけられた。

気胞層が小部屋のみで構成されているグループはヌマカイメン, ミュラーカイメンモドキとジーカイメンの3種であった。二番目のグループの気胞層は小部屋と網目状の繊維から構成されており, このグループはさらに網目状の繊維が芽球内膜近くのみ分布しているものと芽球内膜近くと小部屋間の隙間にみられる2つの型にわけられた。前者に属する種はマツモトカイメン, ミマサカジカイメン, アナンデルカイメン, カワムラカイメンとヨワカイメンの5種で, 後者の種はカワカイメン, センダイカイメンとヨコトネカイメンの3種であった。三番目のグループの気胞層は網目状の繊維のみで構成されており, フンカコウカイメンの1種のみが属した。

ヨワカイメン以外の種の気胞層を構成する小部屋は球状もしくは球状に近い多面体で, 個々の小部屋は1または1以上の小孔でつながっていた。ヨワカイメンの気胞層の小部屋は背丈の低い六角柱状で, 上下の面にのみ小部屋間を連絡する小孔が存在していた。

Abstract

With the scanning electron microscope, we observed the gemmule coats of the Japanese freshwater sponges listed below. Except for one species, *Spongilla lacustris*, the gemmule coats of the other species had three distinct layers: the outer gemmular membrane, the pneumatic layer, and the inner gemmular membrane. The gemmule coats of *Spongilla lacustris* were of two types. One type consisted of the inner gemmular membrane alone. The other type was triple-layered as seen in the other species.

The pneumatic layers of the gemmule coats were classified into three large groups by

the presence or absence of alveoli and reticulate fibers.

In one group the pneumatic layers consisted of many alveoli alone as seen in 3 species, i.e., *Spongilla lacustris*, *Ephydatia japonica*, and *Trochospongilla phillottiana*. In the second group the pneumatic layers consisted of reticulate fibers alone as seen in one species, i.e., *Radiospongilla crateriformis*. In the third group the pneumatic layers consisted of many alveoli and reticulate fibers, as seen in 8 species. The third group was further classified into two groups by the distribution of the reticulate fibers. In one group, the reticulate fibers were located near the inner gemmular membrane as seen in 5 species, i.e., *Trochospongilla phillottiana mimasakensis*, *Heterorotula multidentata*, *Radiospongilla cerebellata*, *Heteromeyenia stepanowii*, and *Eunapius fragilis*. In the second group, the reticulate fibers were distributed near the inner gemmular membrane and in the interstices surrounded by alveoli as seen in 3 species, i.e., *Ephydatia fluvialis*, *Radiospongilla sendai*, and *Sanidastra yokotonensis*.

In most species, one or more pores were seen on the boundary walls of subspherical or polyhedral alveoli. In *Eunapius fragilis*, the individual alveolus was a low hexagonal prism. Several interconnecting pores of the alveolus were seen on the upper and lower wall, but not on the side walls.

緒 言

淡水海綿の芽球殻の構造については芽球形成の観察に付随し、数多くの報告がある。日本産の淡水海綿については光学顕微鏡による佐々木の8属22種に及ぶ芽球殻の詳細な観察がある^{1)~5)}。De Vos (1974) らはカワカイメンの芽球殻を透過及び走査型電子顕微鏡下で観察し、光学顕微鏡下では認め難い微細構造を報告した⁶⁾。Harrison は1979年に *Stratospongilla penneyi* (HARRISON) の芽球殻を、1981年に *Heteromeyenia tubisserma* (POTTS) の芽球開口を走査型電子顕微鏡により観察し、この観察結果は淡水海綿の分類に有効であると述べた^{7)~8)}。著者らはすでに岡山県下に産する5属11種(含1亜種)の芽球開口やジーカイメン及びミマサカジーカイメンの芽球殻の走査電子顕微鏡による観察結果を報告した^{9)~10)}。本報告では岡山県下に産する6属9種(含1亜種)に加え、滋賀県の琵琶湖の内湖に産するヌマカイメンと茨城県の横利根川に産するヨコトネカイメンの2種、合計8属11種(含1亜種)の芽球殻を走査型電子顕微鏡下で観察したので、その結果を報告する。

材料及び方法

材料は下記の8属11種(含1亜種)の淡水海綿の芽球を用いた。

- 1 *Spongilla lacustris* (LINNAEUS) ヌマカイメン
- 2 *Eunapius fragilis* (LEIDY) ヨワカイメン
- 3 *Radiospongilla cerebellata* (BOWERBANK) アナンデルカイメン
- 4 *Radiospongilla crateriformis* (POTTS) フンカコウカイメン
- 5 *Radiospongilla sendai* (SASAKI) センダイカイメン
- 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 mimasakensis* MASUDA ミマサカジーカイメン
- 12 *Sanidastra yokotonensis* VOLKMER-RIBEIRO et WATANABE ヨコトネカイメン

上記のうちヌマカイメンは滋賀県神崎郡能登川町乙女浜の琵琶湖の内湖で採集したもので、ヨコトネカイメンはお茶の水女子大学渡辺洋子博士が1980年茨城県東村中島の横利根川で発見し新属新種として報告された種¹¹⁾、材料はその一部を著者らに提供して下さったものを用いた。その他の種はすべて岡山県下の溜池及び河川から採集したものである。

芽球を形成した海綿体を8%パラフォルムアルデヒド中で長時間固定した後、リン酸緩衝液中で海綿体から芽球を取りはずした。採取した芽球は1%四酸化オスミウムで1時間再固定後エタノールで脱水し、臨界点乾燥を行なった。そして芽球殻の断面を見るためにカミソリを用い2つに切断し、金パナジウムを蒸着後、日立走査型電子顕微鏡(HHS-2R)により観察した。

観 察 結 果

ヌマカイメンを除く淡水海綿の芽球殻はすべて芽球外膜、気胞層、芽球内膜の3層から構成されている。芽球殻の厚さは約30 μm から約100 μm とその厚さは種類によって差がみられるが、*Radiospongilla* 属の3種のものは厚く(第6a, 9a, 12a図)、*Ephydatia* 属の2種のものは薄い(第2a, 8a図)。他方、ヌマカイメンでは芽球殻が他種のものと同様に芽球外膜、気胞層、芽球内膜の3層から構成されている場合と(第1図)、芽球内膜のみの1層から構成されている場合の2つの型が観察された。芽球内膜のみで構成されている芽球殻の厚さは約2 μm と薄く、3層で構成されている場合でも芽球殻の厚さは約35 μm までと他種に比べて薄い。

芽球外膜

芽球外膜の厚さは種によって異なっているが、芽球内膜に比べてかなり薄い。また、種によっては1つの芽球においても厚さが一様でない場合も観察される(第9b図)。カワムラカイメン(第7a図)、カワカイメン(第8b図)、ヨワカイメン(第11c図)の3種の芽球外膜は約1~2 μm と厚いがこの他の種ではより薄く、中でもマツモトカイメン(第5b図)とアナンデルカイメンのものは極めて薄いものである。

気 胞 層

気胞層は小部屋と網目状の繊維の両者もしくはどちらか一方のみで構成されている。多くの種では気胞層は小部屋と網目状の繊維で構成されている。ヌマカイメンの一部の芽球(第1図)、ミューラーカイメンモドキ(第2a図)、ジーカイメン(第3a図)の3種の気胞層は小部屋のみで構成され、フンカコウカイメン(第12a図)の気胞層は網目状の繊維のみで構成されている。

気胞層が小部屋と網目状の繊維の両者で構成されている種は網目状の繊維の分布によって2

つのグループにわけられる。すなわち両グループとも網目状の繊維は芽球内膜近くに分布しているがカワカイメン（第8b図，第8c図），センダイカイメン（第9c図）とヨコトネカイメン（第10b図）の3種では小部屋に囲まれた間隙にも網目状の細い繊維が分布している。一方，ミマサカジカイメン（第4b図），マツモトカイメン（第5c図），ヨワカイメン（第11c図），アナンデルカイメン（第6b図）とカワムラカイメン（第7a図）の5種の気胞層内の網目状の繊維の分布は芽球内膜近くのみである。これらの5種のうち前3種の網目状の繊維は後2種の繊維よりも径が太くなって観察される。

気胞層にみられる小部屋の形はヨワカイメンの場合を除き球形またはそれに近い多面体である。個々の部屋の壁にはまわりの相接する部屋とを連結する小孔が1または1以上の数の小孔が存在する。小部屋と小部屋の境の膜の厚さは種によって異なっているが，ヌマカイメン（第1図），ミユラーカイメンモドキ（第2b図）とジーカイメン（第3b図）の場合は厚く，アナンデルカイメン（第6c図）とカワムラカイメン（第7b図）の場合は極めて薄いものである。ヨワカイメンの気胞層の小部屋の形は他種と異なり，背丈の低い六角柱状である。小部屋の上面と下面には相接する小部屋と連結する数個の小孔が存在するが，小部屋の側面には小孔は観察されない（第11d，11e図）。

芽球内膜

全ての種の芽球内膜は密な層の重なりから構成されているが，その層数は種によって異なる。

芽球骨片

気胞層に埋まる芽球骨片は殆んどどの種において放射状もしくはそれに近い形で配列している。ヨワカイメンの芽球骨片は芽球内膜近くで芽球内膜に対して接線方向に配列する群と芽球外膜内に芽球外膜に対して接線方向に配列する2つの群がみられる（第11b，11c図）。ヌマカイメンの芽球骨片は芽球外膜内に芽球外膜に対して接線方向に配列するがその数は極めて少ない。

考 察

De Vos ら（1974）はカワカイメンの芽球殻を透過型及び走査型電子顕微鏡により観察し，芽球殻は芽球外膜，多くの小部屋から構成されている気胞層と芽球内膜の3層から構成されるというそれまでの光学顕微鏡による知見に加えて，気胞層の小部屋と小部屋を連結する小孔の存在，小部屋間の間隙内にコラーゲン様繊維とそれを包む基質の存在や芽球内膜の層板構造を報告している⁶⁾。Harrison（1980）も走査型電子顕微鏡により *Stratospongia penneyi* の芽球殻を観察し，気胞層の小部屋の壁に小孔の存在を認めている^{7)~8)}。著者らも走査型電子顕微鏡を用い，日本産の淡水海綿8属11種（含1亜種）の芽球殻を観察し，気胞層における小部屋と網目状の繊維の分布が種によって異なることを明らかにした。

著者ら（1982年）はジーカイメンとミマサカジカイメンの芽球殻の観察で両種の気胞層の小部屋の大きさは芽球内膜近くのは芽球外膜近くのものに比べ小さいと報告したが，今回の他種との比較観察の結果，ミマサカジカイメンの芽球内膜近くの構造は太い径の網目状の

繊維であることがわかった (第4b図)。このミマサカジカイメンと同じようにマツモトカイメンとヨワカイメンでは芽球内膜近くの網目状の繊維はアナンデルカイメンやカワムラカイメンなどにみられる繊維より太い。これらの種における太い繊維は何本かのコラーゲン様繊維が豊富な基質に埋まって束ねられていると考えれば、気胞層の小部屋の境界の壁が薄く小部屋も脆弱にみえるアナンデルカイメンやカワムラカイメンの気胞層のコラーゲン様繊維は基質の量が他種に比べ少ないことになる。一方、ヌマカイメン、ミユラーカイメンモドキとジカイメンの気胞層の小部屋間の間隙には走査型電子顕微鏡下では繊維構造が認められなかったが、これは繊維が豊富な基質に埋まっているためと考えられる。

気胞層の小部屋と小部屋とを連結する小孔は種によってすべての2つの小部屋間に1つとは限らず、存在しない境界面もあり、複数みられる境界面も少数みられる。アナンデルカイメンとカワムラカイメンの小部屋の壁には数多くの小孔がみられるが(第6c図, 第7b図), これは境界の壁が薄いため試料作製等によって生じた小孔も含まれるとも考えられる。ヨワカイメンの気胞層では六角柱の小部屋の上下面にのみいくつかの小孔が存在するが、側面に存在しないのは芽球殻の強度の維持のためであろうか。これらの気胞層の小部屋の壁にみられる小孔の存在は機能的にどのような意味をもつのかは現在研究中である。

佐々木 (1936年) はフンカコウカイメンの芽球殻の気胞層は多くの比較的小さな“air-cells”から構成されていると報告している²⁾。また Penney ら (1968年) は同種は小さな不規則な“air-space”から構成されていると報告している¹²⁾。著者らが観察したフンカコウカイメンは種同定の形態的な特徴である骨片や芽球口孔の形態は佐々木や Penney らの記載と同じであったが、本種の気胞層は細い網目状の繊維のみで構成されていた。この観察結果の異なりは観察した材料の採集地の違いによるのか、それとも観察方法の違いによるのかは不明である。

現在、淡水海綿の細胞、生理、発生などの研究は実験室内で芽球から発芽させた海綿を材料として用いることが多くなっている。多くの研究者は汎世界に分布生息するヌマカイメンやカワカイメンを材料としているが、同一種内でも系統によって生理学的にも違いがあることが明らかにされている。したがって今後は淡水海綿を材料とする場合、正確に種を把握することはもちろんのこと同一種内でも各系統の生理的及び形態的な特徴を正確に把握する必要が生じてくると考えられる。その点で微細構造が比較的簡便に観察できる走査型電子顕微鏡の利用は有効と考える。

謝 辞

本研究にあたりヨコトネカイメンの芽球を提供して下さったお茶の水女子大学渡辺洋子博士に厚くお礼申し上げます。

Explanation of Figures

Fig. 1 *Spongilla lacustris* (LINNAEUS)

The pneumatic layer which lies between the inner gemmular membrane and the outer gemmular membrane consists of many subspherical alveoli. Arrows indicate the pores which interconnect alveoli. Interstices surrounded by alveoli are homogenous. The inner gemmular membrane is stratified. $\times 1,300$

Fig. 2 *Ephydatia japonica* (HILGENDORF)

- a Gemmoscleres are embedded radially in the pneumatic layer, which consists of many subspherical alveoli. $\times 1,300$
- b A part of the pneumatic layer and the outer gemmular membrane. $\times 2,600$

Fig. 3 *Trochospongilla phillottina* ANNANDALE

- a The outer gemmular membrane is very thin (compare with Figs.1 and 2). $\times 1,300$
- b A part of the pneumatic layer. An individual alveolus is connected with each neighboring alveolus by one pore. $\times 5,000$

Fig. 4 *Trochospongilla phillottina mimasakensis* MASUDA

- a Reticulated fibers are seen near the inner gemmular membrane. $\times 1,300$
- b An enlarged view of Fig.4a showing alveoli, reticulate fibers, and the inner gemmular membrane. The individual alveoli, which are larger than those of *T. phillottina*, are interconnected by pores which are smaller than those of *T. phillottina*. $\times 2,600$

Fig. 5 *Ephydatia multidentata* (WELTNER)

- a Gemmoscleres are embedded radially in the pneumatic layer. $\times 520$
- b The outer gemmular membrane is very thin. $\times 1,800$
- c A profile of the pneumatic layer cut tangentially near the inner gemmular membrane. Several cross sections of gemmoscleres are seen in the reticulate fibers. Arrows indicate traces of the lower rotules of gemmoscleres. $\times 1,300$

Fig. 6 *Radiospongilla cerebellata* (BOWERBANK)

- a Gemmoscleres arising from the reticulate fibers are embedded more or less tangentially in the pneumatic layer, which consists of thin-walled alveoli. $\times 520$
- b Reticulate thin fibers wrap the lowest portion of the gemmoscleres near the inner gemmular membrane. $\times 1,300$
- c Several remaining stumps of gemmoscleres stand close together among the thin-walled alveoli. $\times 1,300$

Fig. 7 *Heteromeyenia stepanowii* (DYBOWSKY)

- a Gemmoscleres are embedded radially in the pneumatic layer, which consists of polyhedric alveoli. Reticulate fibers are seen near the inner gemmular membrane. $\times 1,300$
- b A part of the pneumatic layer and two shafts of gemmoscleres. Many minute pores in addition to the original interconnecting pore are seen on the walls of the alveoli the walls are very thin. $\times 2,600$

Fig. 8 *Ephydatia fluviatilis* (LINNAEUS)

- a Gemmoscleres are embedded radially in the pneumatic layer which consists of subspherical and reticulate fibers. Reticulate fibers are particularly abundant near the inner gemmular membrane. $\times 1,300$
- b Reticulate fibers are seen in the interstices surrounded by alveoli near the outer

gemmular membrane. $\times 1,800$

- c A part of the pneumatic layer. Reticulate fibers are seen in the interstices surrounded by alveoli. $\times 5,000$

Fig. 9 *Radiospongilla sendai* (SASAKI)

- a Several gemmoscleres are embedded more or less radially in the pneumatic coat. $\times 520$
- b The outer gemmular membrane and the pneumatic layer. The pores which connect the alveoli are not abundant. $\times 1,300$
- c A part of the pneumatic layer. Reticulate fibers are seen in the interstices surrounded by alveoli and on the gemmosclere. $\times 2,600$
- d Reticulate thin fibers are abundant near the inner gemmular membrane. $\times 5,000$

Fig. 10 *Sanidastra yokotonensis* (VOLKMER-RIBEIRO et WATANABE)

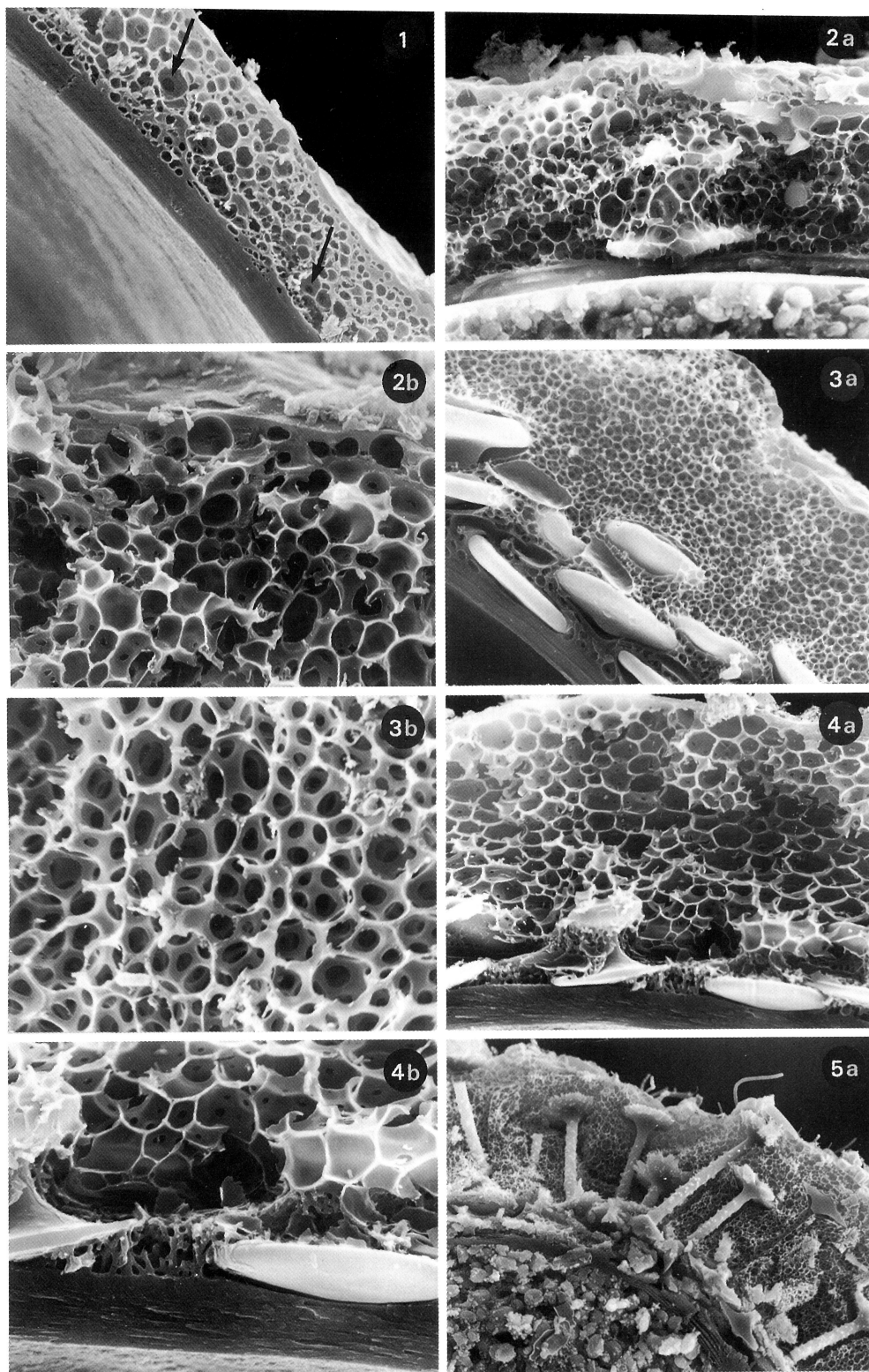
- a Gemmoscleres are embedded radially in the pneumatic layer, which consists of sub-spherical alveoli and reticulate fibers. $\times 520$
- b Reticulate fibers are seen near the inner gemmular membrane and in the interstices surrounded by alveoli. Smooth area (middle portion of figure) is a trace of a gemmosclere which was removed. $\times 2,600$

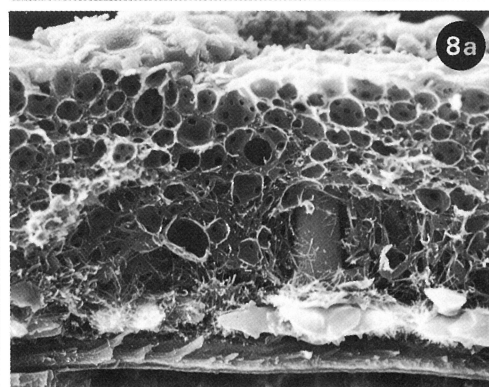
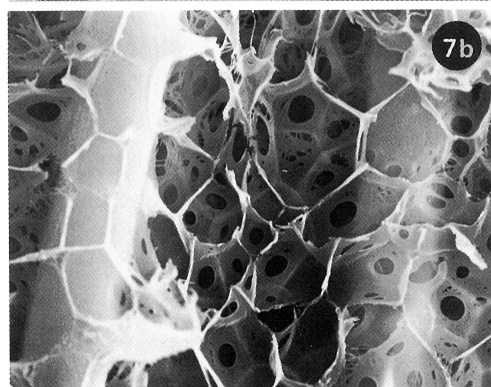
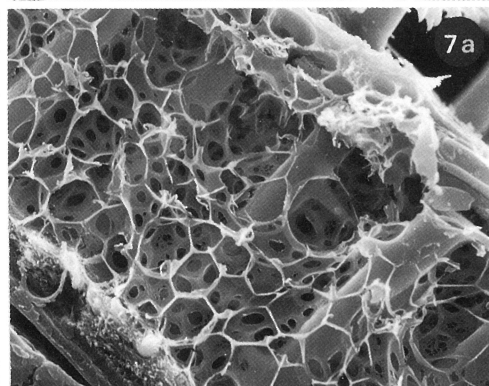
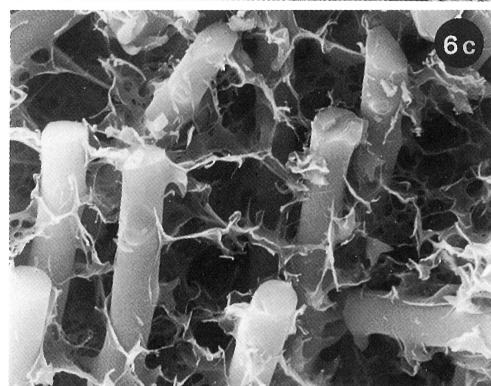
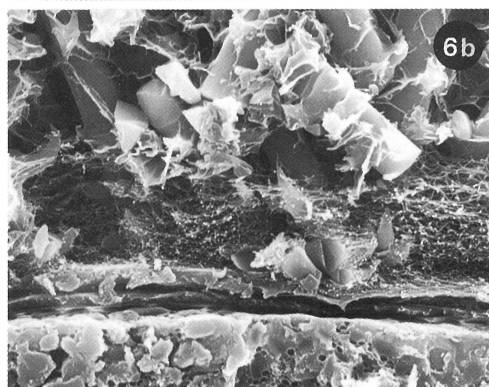
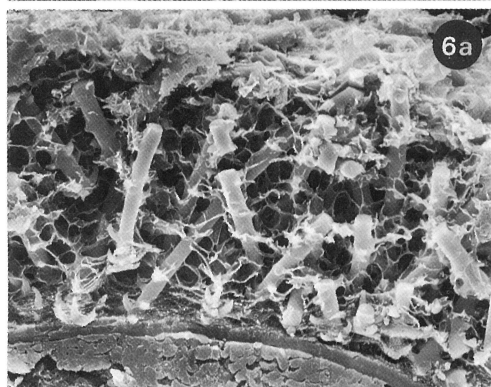
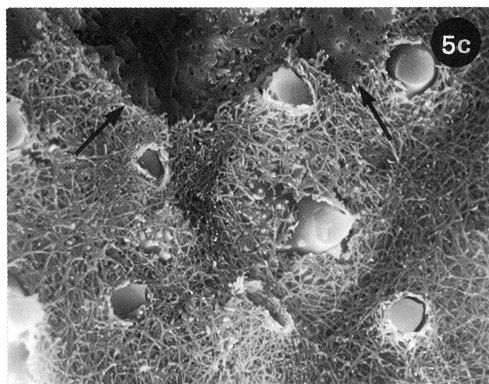
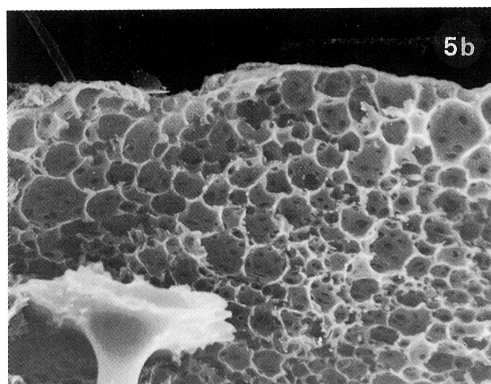
Fig. 11 *Eunapius fragilis* (LEIDY)

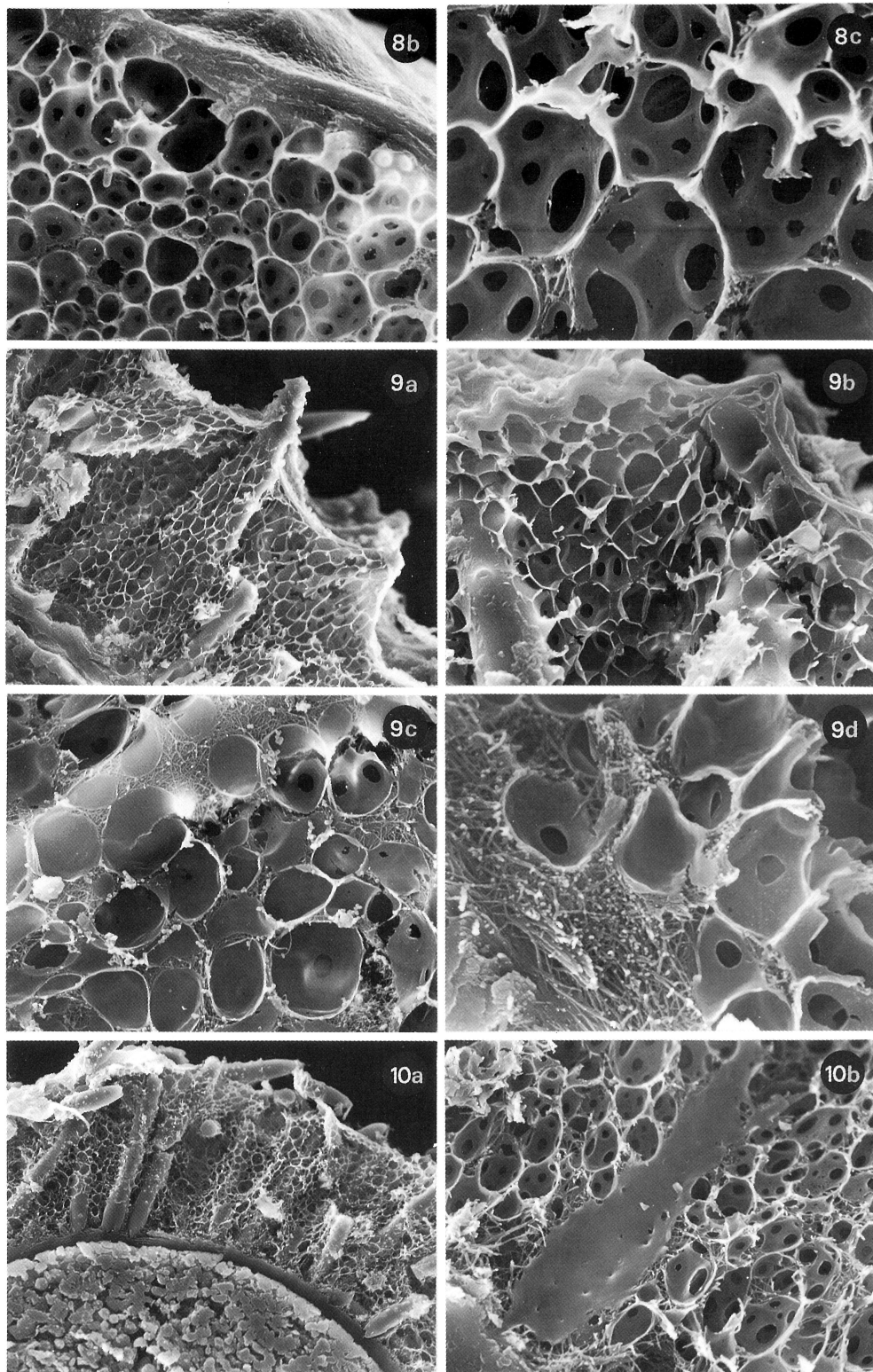
- a A profile of gemmules cut through micropyles (Arrows) vertically. Three gemmules are invested with a common pneumatic layer. $\times 130$
- b A part of the gemmules coat is cut tangentially. Gemmoscleres are embedded tangentially in two layers, i.e., the outer gemmular membrane and the lower portion of pneumatic layer. Reticulate fibers are seen in the lowest part of the pneumatic layer. $\times 260$
- c The pneumatic layer consists of alveoli arranged in several tiers. $\times 520$
- d Several pores which interconnect alveoli are seen on the upper and lower wall of individual alveoli. $\times 1,600$
- e A part of the pneumatic layer cut tangentially. Most alveoli are surrounded by a hexagonal wall. Several pores are seen on the lower wall. $\times 1,300$

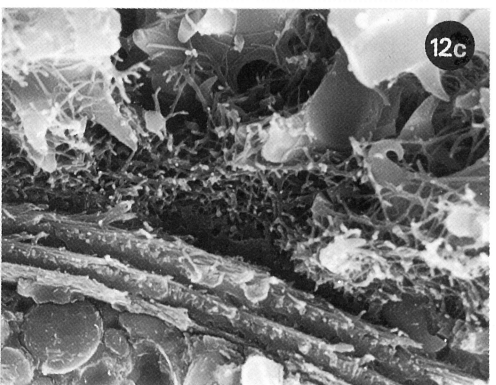
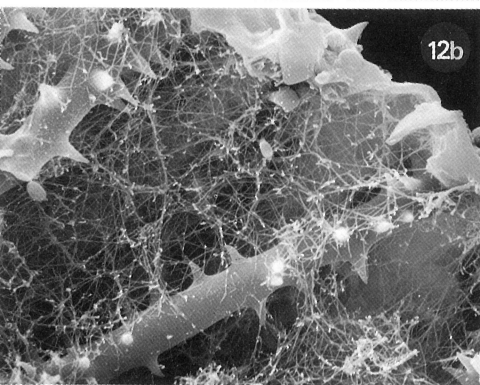
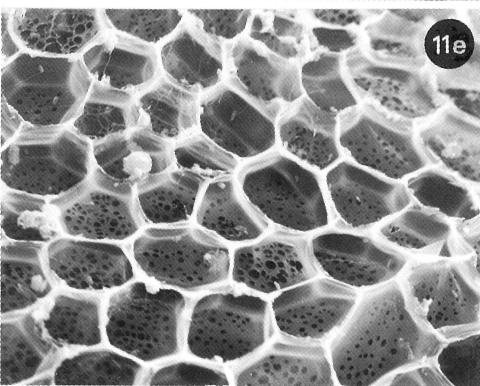
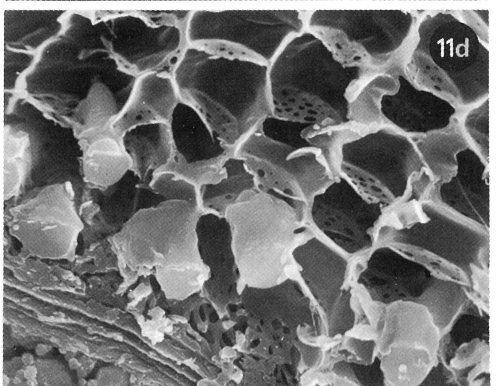
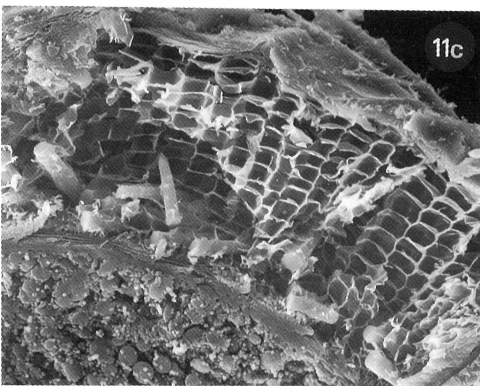
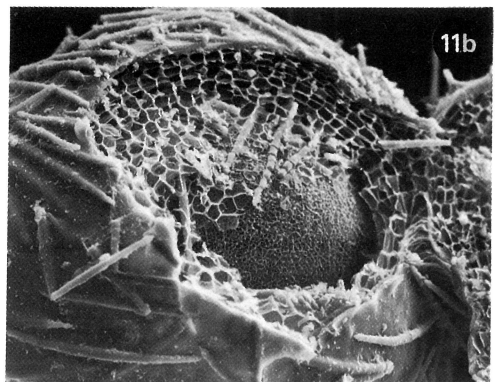
Fig. 12 *Radiospongilla crateriformis* (POTTS)

- a Gemmoscleres are embedded more or less radially in the pneumatic coat which consists of reticulate fibers alone. $\times 520$
- b The reticulate thin fibers are entwined round the gemmoscleres. $\times 1,300$
- c The reticulate fibers are entwined round the lowest portion of gemmoscleres near the inner gemmular membrane, $\times 2,600$









文 献

- 1) Sasaki, N. (1934) Report on the Fresh-water Sponges obtained from Hokkaido. Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ. Sendai, Japan, Ser. 4, **9**: 219-247.
- 2) Sasaki, N. (1936) The Fresh-water Sponges obtained in Northeast Honshu, Japan. Saito Ho-on Kai Museum Research Bulletin, **9**: 1-30.
- 3) 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.
- 4) 佐々木信男 (1972) 本州中部 (関東, 中部, 近畿各地方) 産の淡水海綿について。水産大学研究報告, **21** (3): 31-47.
- 5) 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.
- 6) De Vos, L. and F. Rozenfeld (1974) Ultrastructure de la Coque Collagène des Gemmules d'*Ephydatia fluviatilis* (Spongillides). J. Microsc., Paris, **20**: 15-20.
- 7) Harrison, F.W. (1979) The Taxonomic and Ecological Status of the Environmentally Restricted Spongillid Species of North America. V. *Ephydatia subtilis* (WELTNER) and *Stratospongilla penneyi* sp. nov., Hydrobiologia, **65**: 99-105.
- 8) Harrison F.W. (1981) Scanning Electron Microscopy of Taxonomic Diagnostic Criteria of the Freshwater Sponge, *Heteromeyenia tubisperma* (POTTS, 1881) (Porifera: Spongillidae). Hydrobiologia, **77**: 257-259.
- 9) 益田芳樹・高橋洋子・佐藤国康 (1981) 淡水海綿の芽球口孔及び骨片の走査電子顕微鏡的観察。川崎医学会誌一般教養編, (7): 65-77.
- 10) 益田芳樹・佐藤国康・松本邦夫 (1982) 淡水海綿のジーカイメン及びミマサカジーカイメンの芽球殻の走査電子顕微鏡的観察。川崎医学会誌一般教養編, (8): 75-84.
- 11) VOLKMER-RIBEIRO, C. and Y. WATANABE (1983) *Sanidastra yokotonensis*, n. gen. and n. sp. of Freshwater Sponge from Japan. Bull. Natn. Sci. Mus., Tokyo, Ser. A, **9** (4): 151-159.
- 12) Penney, J. T. and A.A. Pacek (1968) Comprehensive Revision of a Worldwide Collection of Freshwater Sponges (Porifera: Spongillidae). United States National Museum Bulletin, **272**: 1-184.