

アカテガニ *Sesarma haematocheir* における 胃石の走査型電子顕微鏡による観察

川崎医科大学 生物学教室

松本 邦夫 梶田 博司 益田 芳樹

(昭和52年9月29日受理)

Scanning electron microscopic observation on the gastrolith in
the brackish crab, *Sesarma haematocheir*

Kunio MATSUMOTO, Hiroshi KAJITA, Yoshiki MASUDA

Department of Biology, Kawasaki Medical School

Kurashiki 701-01, Japan

(Received on Sept, 29, 1977)

1. 胃壁の一部に胃石を形成するアカテガニについて、脱皮前の胃石の成長から脱皮後の消失にいたるまでの過程を走査型電子顕微鏡によって観察した。
2. 胃石の成長過程においては外側より、表面の顆粒層、粗く並ぶ柱状構造層、および0.2~0.3 μm の小粒子が密集する小粒層の3層が認められた。
3. それらの3層のうち、前二者は脱皮時にはすでに消失しており、それに先だって脱皮する胃小骨の硬化に寄与するものと思われる。
4. 第3層の小粒子と脱皮間期における甲殻の石灰層に認められる小粒子とが大きさ、形とも類似しているので、外骨格の甲殻の硬化には胃石の大部分を形成する小粒子が関係していると考えられる。
5. 脱皮後における胃石は胃腔内で胃歯によって表面から機械的に削り取られて利用されるようである。

Abstract

1. The brackish crab, *sesarma haematocheir*, proceeding molting, forms gastroliths in the wall of the stomach. The processes of the growth and decrease of gastrolith during the molting cycle were investigated under scanning electron microscope.
2. In the growing process of gastrolith, three different layers, granulated layer on the surface, the next layer consisting of pillar structures, and the inner layer of compacted small particles which are approximately 0.2-0.3 μm in diameter, are recognized.
3. Two former layers of them have disappeared rapidly after molting. Therefore, they may contribute to harden the gastric ossicles that molted before the outer carapace.
4. Since the small particles of the third layer are similar to those observed in the endocuticle at the intermolting stage both in shape and size, it seems that particles composing a great portion of gastrolith have lots to do with hardening

carapace of exoskeleton.

5. After molting, gastroliths seem to be mechanically scraped off to be utilized from their surface by the gastric teeth of the stomach.

甲殻類の中には脱皮後の迅速な甲殻の硬化のために、脱皮前の甲殻中のカルシウムを胃小骨の一部に蓄積して胃石を形成し、カルシウムの効果的利用を行なうものがある。これらの実験材料には多くの場合、ザニガニ類が使用されているが (Travis, 1960a, 1960b; Mc Whinnie, 1962; Suko, 1968; Rao *et al.*, 1972; Willig and Keller, 1973), 胃石自体が生物的というよりもむしろ鉱物的であるため、構造研究の方法も研磨標本として検鏡するほか、切断片のX線透過による観察 (Travis, 1963) 等が主としてなされているにすぎない。

Sesarma haematocheir については、沼野井 (1939) によって、胃石形成期の血液中のカルシウム量の変化の報告があるのみで、胃石本体の研究報告はほとんどなされていない。

本研究においてはアカテガニを材料に用いて、脱皮前の胃石の成長から脱皮後の消失までの過程を走査型電子顕微鏡によって観察した。

材料と方法

昭和50年12月18日、岡山県玉野市東野崎にて採集した合計40匹のアカテガニは歩脚3対を除去したもの20匹と、正常のもの20匹の2群に分けて、実験室内で室温、暗黒条件下で5倍稀釈海水を飼育水とし、プラスチック水槽中で個体別に飼育し、餌として小エビを3日毎に与えた。

脱皮前後の適時、解剖して胃石を取り出し、資料とした。得られた胃石は水洗し、乾燥後、そのままか、あるいは樹脂封入後、割断した。金パラジウム蒸着を施した後、日立製 HHS-2R 走査型電子顕微鏡によって、表面と断面の観察を行なった。

肉眼的観察

脱皮間期にあるカニの血液は半透明で、将来胃石が形成される噴門骨は一樣に平滑である。

脱皮前期に入ると、まず血液に変化が現われる。即ち、甲殻中の石灰質の流出によって、血液は透明度を失い、白濁してくる。そして血液中の石灰質は胃の側噴門骨の一部に沈着し始め、白色の胃石として隆起してくる。沈着は脱皮直前まで続いて、沈着層の厚さを増して最大3mmにも達する。こうした成長時期の胃石は表面が粗粒な外観を呈していて、上下にやや扁平な半球形である。

脱皮の1~2日前に、胃石は胃壁から遊離し、内側に新しく形成されている胃腔内に脱落する。この頃からカニは水槽の隅で静止していることが多く、全く食欲を示さなくなる。血液はいくらかその白濁を減じ、やや透明度を回復している。そして脱皮の終了直後に新胃腔内に2個並び入っている胃石の表面は平滑な外観に変っている。

脱皮後、血液は再び白濁し、甲殻の硬化が進行するが、胃腔内の胃石は日数の経過と共に薄くなり、徐々に平円板状になりつつ急速に小さくなっていき、通常1週間以内で消失する。

胃石が完全に消失し、全甲殻の完全硬化が終了して、再び脱皮間期に入る。

観察結果

1. 胃石形成前期

肉眼的には胃石が認められなかったが、将来胃石の沈着が起る部位の側噴門骨表面の観察を行なった。側噴門骨の表面には繊維様隆起が交錯するのが認められる(図2)。この隆起は幅2μm前後であり、そこに顆粒が付着している様相が各部で見られる(図3)。この顆粒は体液中に遊離している石灰顆粒と似た外観を呈している。

2. 胃石形成中期

胃石の沈着の厚さが約0.5mm程度の時期の観察である。表面は多くの顆粒によって覆われているが、顆粒の形状は均一でなく変化に富んでいる(図4)。各々の顆粒は全体としては種々の形態をとってはいるものの(図5, 6)、それを構成する微結晶の様相はどの顆粒においてもほぼ一定である。個々の微結晶は長軸の中心で捩れを示し、両極に伸びる構造の単位からなり、それらが一定の方向に配列し、集合して顆粒が形成されている(図7)。

胃石の断面を観察すると、表面の顆粒層の下で胃石全体は膜構造で包まれていて、その内部は表面に近い部分から内側に向かって伸びる柱状構造が並んでいる層がある(図8)。各々の柱状構造は顆粒内に見られたような整然と並んだ微結晶が認められるのではなく、繊維質を多く伴った針状結晶によって構成されている(図9)。それより内部は0.2~0.3μmの小粒子の集合による高密度の小粒子層が数層重なって続いている(図10)。

3. 胃石形成後期

脱皮直前の時期で胃石の沈着は最大限に厚くなり、2~3mm程度に達してくる。

表面の顆粒数は増加し、全面を覆うようになる。その内側は比較的粗く並んだ1~2層の柱状構造層からなっている(図11)。さらに内部は、多層の小粒子層が重なっている。

この時期のものでは胃石と骨部が離れ易い状態になっているものが多い(図12)。

4. 脱皮直後

脱皮当日および1日後までの観察である。これまでの胃石で見られた表面の顆粒層とその内側の柱状構造層は消失しており、薄膜に覆われて小粒子層が残っているだけである(図13)。そして表面の所々には陥没した孔所が存在する(図14)。

5. 脱皮2~4日後

胃石は小粒子層のみとなるが、層の間に亀裂を生じ易くなっている(図15)。亀裂部分を観察すると、骨部を円周状に取り囲む面では小粒子の個々の粒状性を見わけることができる。これに対して、それと直交する面では小粒子が融合したような外観を呈して、個々の粒子の形状は認めがたい(図16)。胃石を割断する際にも、この面は艶を有し鏡面的である。

極めて少数ではあるが、脱皮後2日経た個体の胃石(樹脂封入後割断)の表面近くにおいて、その一部に極めて整然とした針状構造が見られ、胃石の一部が純結晶化したのではないかと思

われる部分が観察された。これは胃石の外周部から内側に陥没して存在し(図17)、内部には針状構造が規則的に配列しており、円形または円錐形に成長している。この状態になっている部分は正常の小粒子層と直接に接しないで、間隙を有している(図18)。

6. 脱皮5日後

今回では脱皮後、最も長時日を経て得られた胃石で、厚さ約0.7mmである。数条の同心円状の縞がある表面には結晶群よりなる顆粒が全面一様に散在しているのが観察される(図19, 20)。顆粒以外は小粒子層の数層からなる(図21)。

以上の形態的観察だけでなく、胃石のX線分析も試みた。使用したのは胃石形成中期および後期のものであるが、胃石全体の粉碎資料は典型的な calcite type (六方晶系)のみであった(図22)。

考 察

胃小骨は周辺を単層の上皮細胞と、その外側の結合組織によって覆われており、体液中のカルシウムはこの2層を通して胃小骨表面に沈着される。側噴門骨表面に繊維様隆起が交錯しているが、これは上皮細胞の層との接触面を拡大していることであり、胃石成分の沈着を効率化し得る構造である。上皮細胞の分泌によって胃石は成長していく。それがある程度に達すると、その表面に薄膜が形成され胃石全体が覆われてくるが、この薄膜の由来はまだわかっていない。その後、薄膜の外側に多数の顆粒が形成される。顆粒は薄膜を経過する過程で微結晶に変化を生じ、また有機質らしきものも加わって柱状構造となる。この柱状構造はその基部で再度形態の変化を示す。即ち、胃石の主たる構成要素である0.2~0.3 μm の小粒子に変わるのである。このように顆粒、柱状構造、小粒子の3形態の変化を経て小粒子層が肥厚して胃石は成長を続けていく。しかし、胃石が最大に達するのは脱皮時ではなく、その1, 2日前である。

胃において胃小骨は外骨格全体の脱皮より早く先立って脱皮を終えており、脱皮直前には新しい胃腔の内部にすでに胃石は落ち込んでいる。新しい胃小骨はすでにある程度硬化しており、胃内に移動している胃石をすみやかに利用して脱皮後の甲殻に対してカルシウムを供給し得るようになっている。胃石の表面の顆粒層および柱状構造層は比較的まばらな様相を呈しているため、結果として脱皮直後には消失しているが、それはこうした新しい胃小骨の硬化に利用を容易ならしめる。また、古い胃小骨は胃石が付着した部分と胃歯の部分を残し、他の部分は消失しており、脱皮殻の中には胃歯の部分だけが残るわけでカルシウムの再利用として胃小骨自身も非常に効率が高いことになる。

脱皮後の胃石の消失を断面で観察すると、同心円状の成長線に関係なく、上下の面から消失していき、小さくなったものは数層の平円板状になってしまう。このことから、脱皮後、胃石は新胃腔内で溶解によって消化されるのではなく、胃歯によって表面から削り取られて使用されると考えられる。この脱皮後に利用されるのは胃石の主要な構成要素である直径0.2~0.3

μm の小粒子である。

並行して行なった脱皮間期と脱皮直後の甲殻および脱皮殻の形態比較の結果では、脱皮間期の甲殻の内硝子層 (endocuticle) の石灰層には、胃石と同様の小粒子が多数存在し、脱皮直後の甲殻と脱皮殻にはそれが見られない。しかも、その脱皮間期に見られる小粒子は脱灰処理を施すと認められなくなることから、胃石中の小粒子と同一のものではないかと考えられる。甲殻中に存在する形と胃石中で蓄積される形が同一であるとすれば興味深いことである。この点に関して、より詳細な観察を試みたい。

脱皮後 2 日で得られた胃石に正常の状態では見られない純結晶の様相が一部に認められたが、その成因は不明である。また、脱皮後 5 日の胃石表面に結晶化した顆粒が観察されたが、各々の顆粒は整った六方晶群であった。これが胃石内部に存在していたものとは信じがたく、胃歯によって削り取られた胃石成分が何らかの原因で表面に再結晶化してできたのではなからうか。

X線分析によると、胃石は aragonite type (斜方晶系) の石灰ではなく、calcite type である。これは Travis のザニガニ胃石における報告と一致し、甲殻類での主型のようなものである。

謝 辞

本研究にあたり、御指導していただいた川崎医科大学電子顕微鏡センター主任大倉卓治教授ならびに岡山大学理学部地球化学教室、逸見吉之助教授に深く感謝いたします。

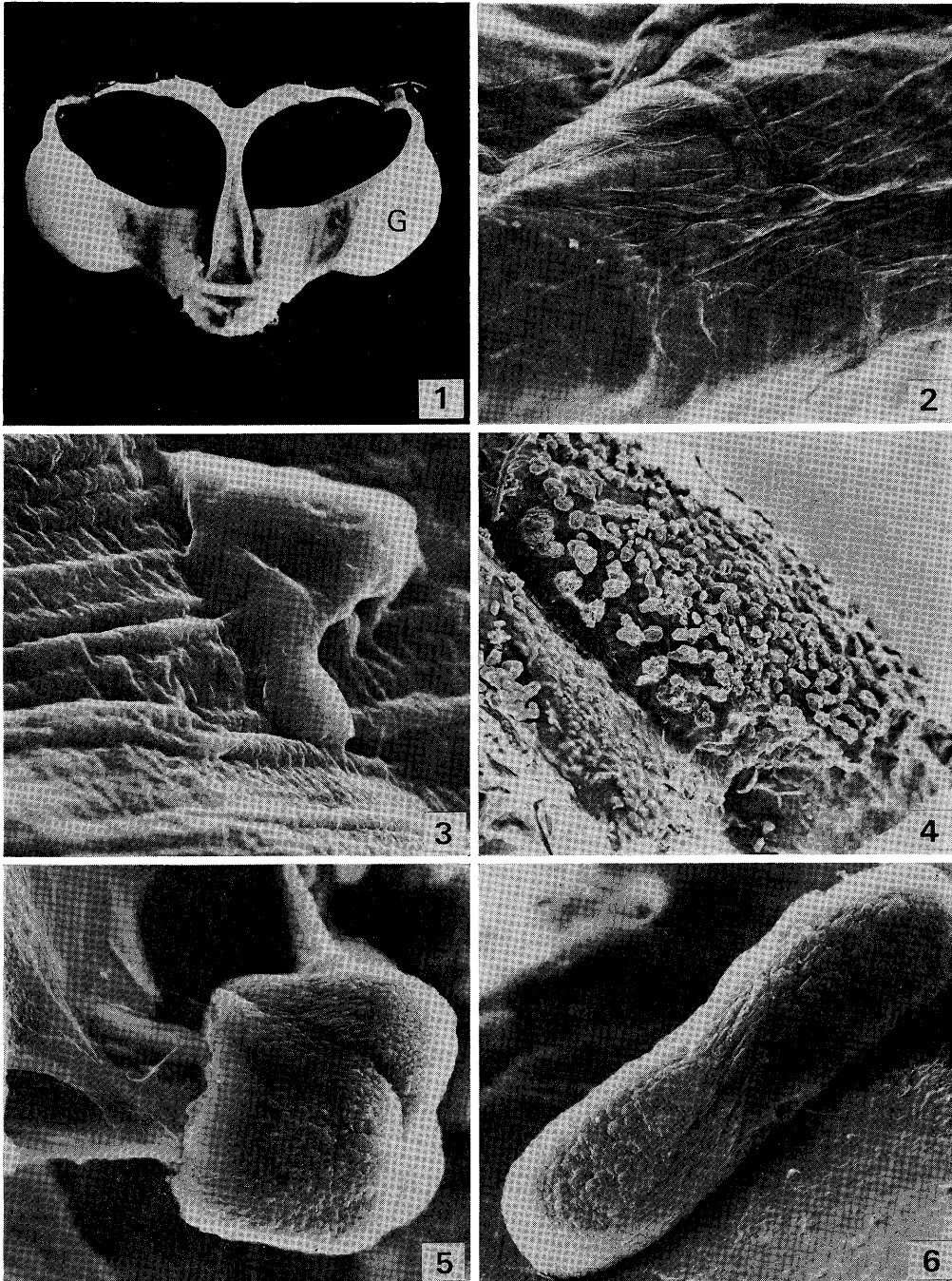
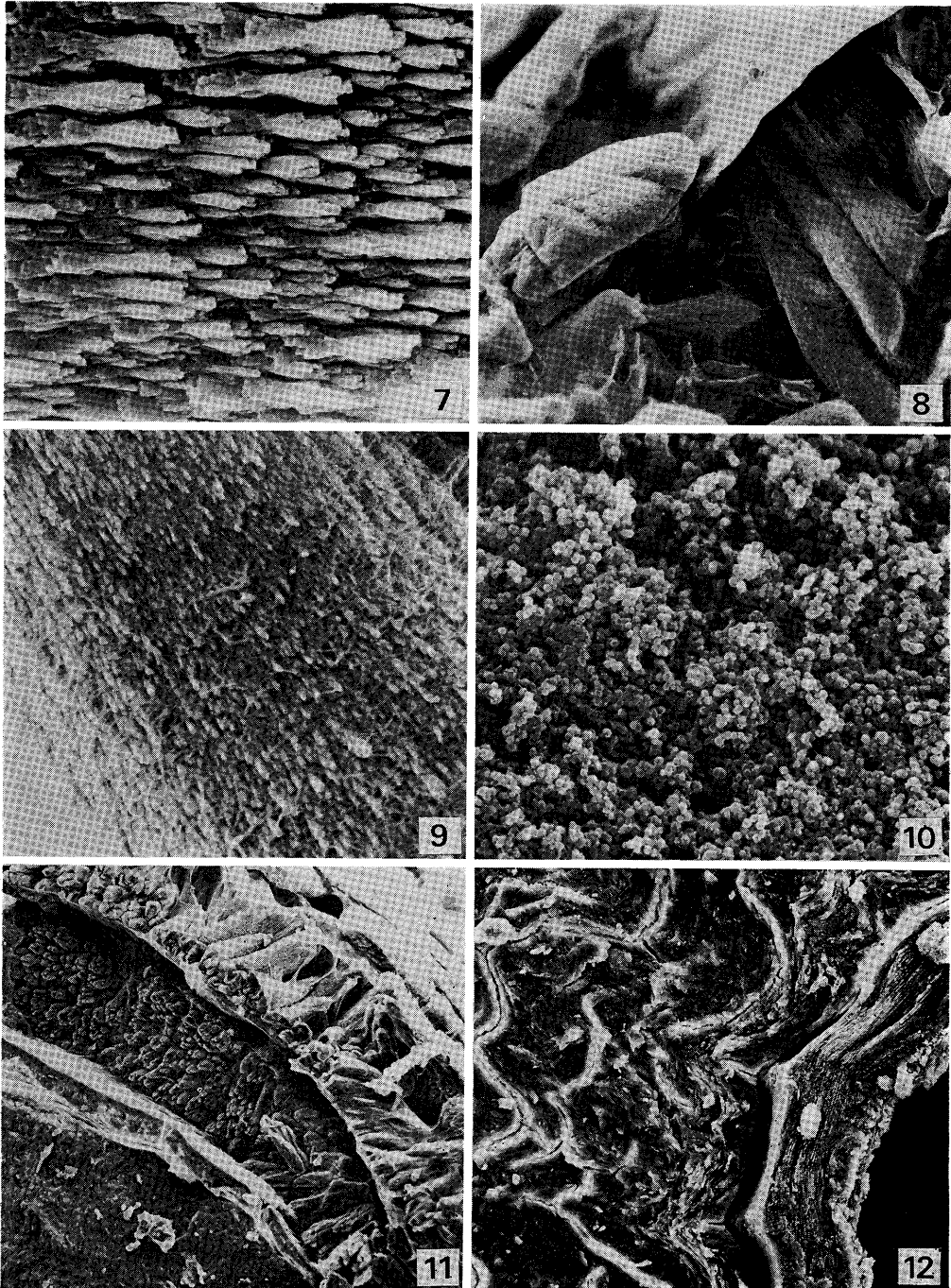
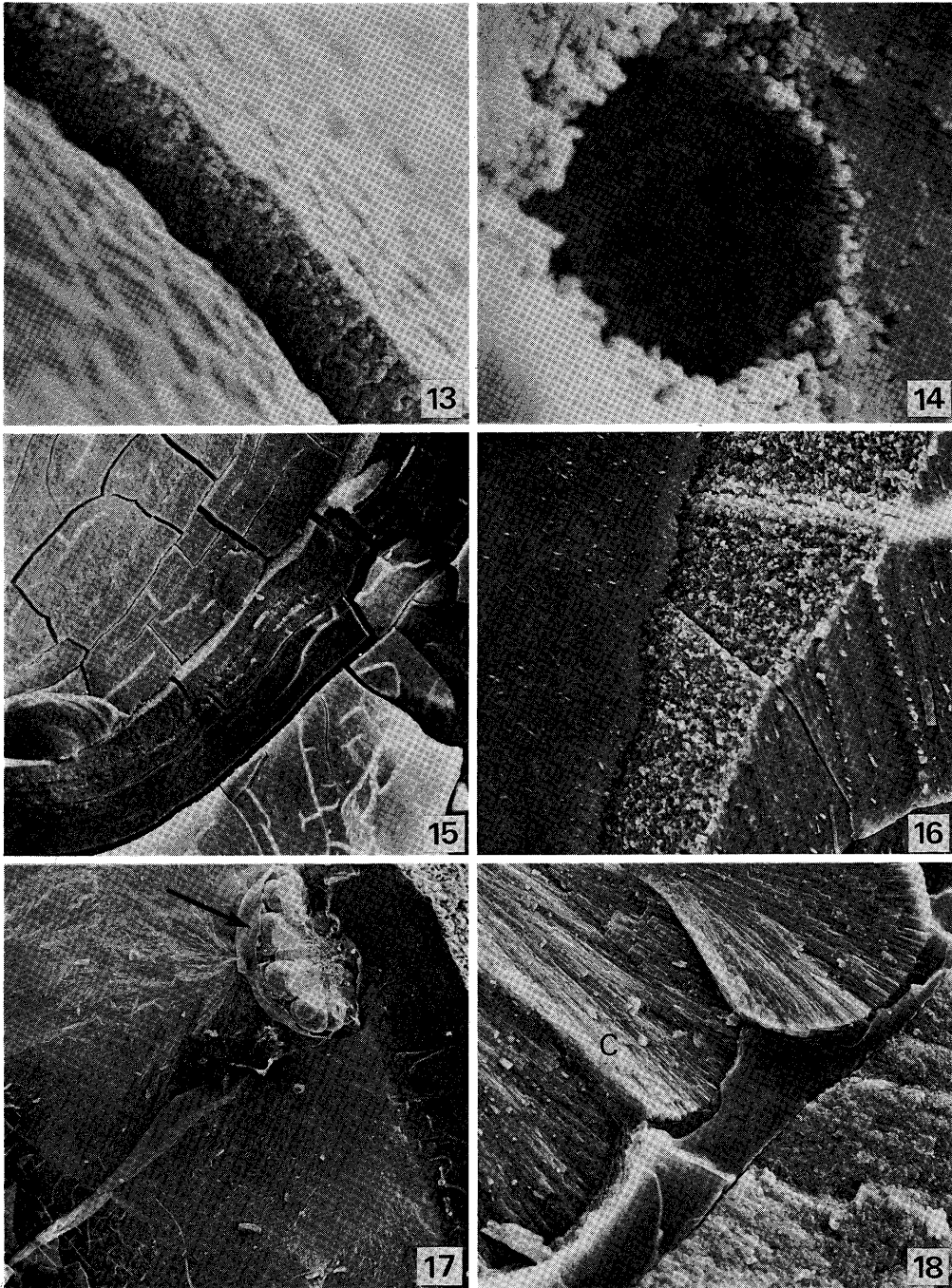


図1 背側より見た胃石形成後期の胃石(G)と胃小骨
 図2 胃石形成前期の胃小骨(側噴門骨)表面, 繊維様隆起が交錯している ×330
 図3 胃石形成前期, 胃小骨表面に付着している顆粒 ×2500
 図4 胃石形成中期の胃石表面, 全面に顆粒が存在する ×45
 図5, 6 胃石表面の顆粒 ×2400, ×2000



- 図7 顆粒表面の拡大像，構成する微結晶群が認められる ×8100
 図8 表面の顆粒層および内部の柱状構造層が見られる ×680
 図9 柱状構造の表面，繊維質を伴う ×8600
 図10 第3層を構成する小粒子 ×6800
 図11 胃石形成後期の胃石断面，顆粒層，柱状構造層，小粒子層の3層が認められる ×130
 図12 胃石と胃小骨の接着部 ×320



- 図13 脱皮直後の胃石表面，薄膜に包まれた小粒子層のみ残る ×6300
 図14 表面に見られる陥没孔 ×6600
 図15 脱皮2～4日の胃石断面，小粒子層に多数の亀裂が生じている ×170
 図16 直交する2面の小粒子層（亀裂部分） ×1400
 図17 表面に接する純結晶化部分（矢印）。樹脂封入後割断 ×60
 図18 純結晶化部分(C)と正常な小粒子層。樹脂封入後割断 ×1200

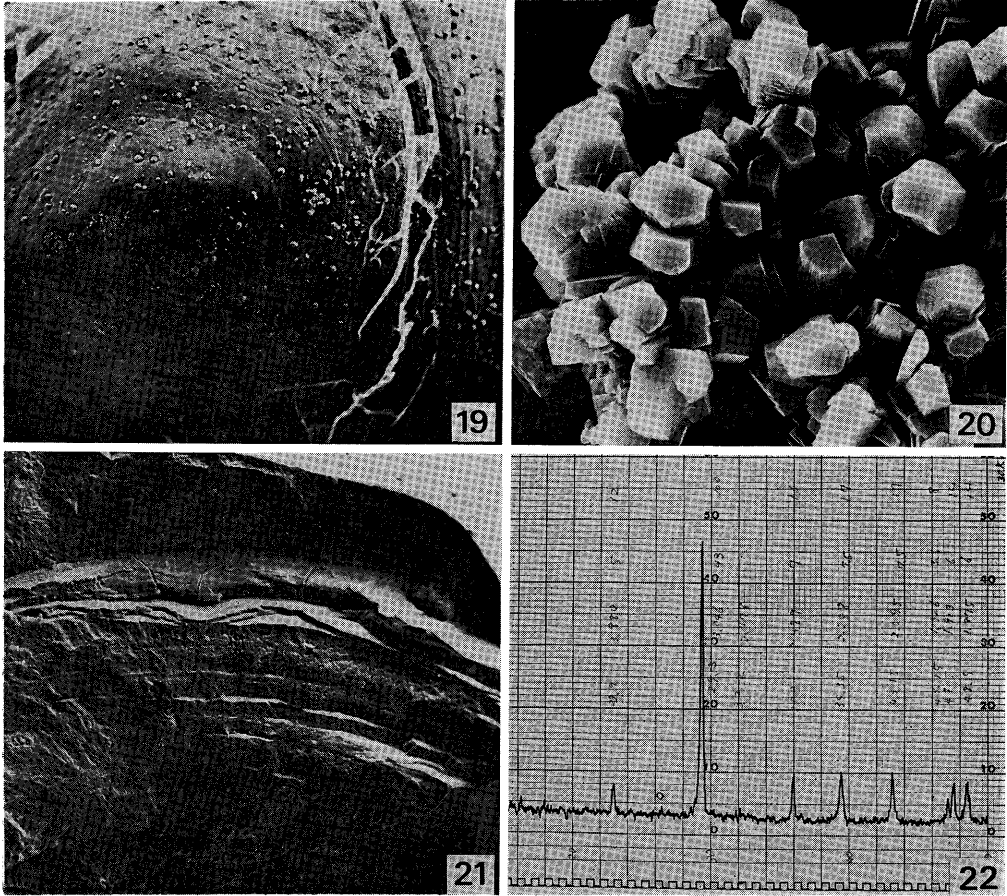


図19 脱皮5日後の胃石表面，顆粒が散在する ×60
図20 顆粒を形成する結晶群 ×2500
図21 脱皮5日後の胃石断面 ×70
図22 胃石のX線分析チャート，典型的な Calcite のパターンを示す

文 献

- 1) Travis, D. F. (1960) The deposition of skeletal structures in the crustacea. 1. The histology of the gastrolith skeletal tissue complex and the gastrolith in the crayfish, *Orconectes (Cambarus) virilis* Hagen.
Biol. Bull. **118** : 137-149.
- 2) Travis, D. F. (1960) The gastrolith of the crayfish as convenient sites for the study of mechanisms of matrix and mineral deposition in calcified structures.
Fed. Proc. **19** : 160.
- 3) McWhinnie, M. A. (1960) Gastrolith growth and calcium shifts in the freshwater crayfish, *Orconectes virilis*.
Comp. Biochem. Physiol. **7** : 1-14.
- 4) Suko, T. (1968) Histological study on the gastrolith formation in *Procambarus clarkii* (Girard).
Sci. Rep. Saitama Univ. Ser. B **5** : 139-147.
- 5) Rao, K. R., C. J. Mohrherr, D. Reinschmidt and M. Fingerman (1972) Proecdysial staging and associated events in the molt cycle of the crayfish, *Faxonella clypeata*.
Am. Zool. **12** : 238.
- 6) Willig, A. and R. Keller (1973) Molting hormone content, cuticle growth and gastrolith growth in the molt cycle of the crayfish *Orconectes limosus*.
J. Comp. Physiol. **86** : 377-388.
- 7) Numanoi, H. (1939) Behavior of blood calcium in the formation of gastrolith in some decapod crustaceans.
Jap. J. Zool. **8** : 357-363.
- 8) Travis, D. F. and U. Friberg (1963) The deposition of skeletal structures in the crustacea. IV. Microradiographic studies of the gastrolith of the crayfish *Orconectes virilis* Hagen.
J. Ultrastruct. Res. **8** : 48-65.