

# 澎湖海域經濟貝類研究——I 大蛤 *Tapes platyptycha*

## PILSBRY 生殖腺季節變化與組織學觀察

翁其明·胡興華

Studied on Economic Shellfishes in Penghu Island—I

Seasonal changes and histological observations of net-clam

(*Tapes Platyptycha* PILSBRY)

Chi-Min Ueng and Sing-Hwa Hu

Gonad examination and histological observation of net clam (*Tapes platyptycha* PILSBRY) was carried out from January, 1981 to January, 1982. About 30 samples were collected monthly in the area Pei-Sha, Penghu.

Microscopic examination of gonad smears of sperm suspension indicated the most active season were in February, June and July. High frequency of mature ovas with diameter of 95–110 $\mu$  appeared in March to April June and July. Sex ratio (male to female) of 1:1 was found both in season and in length groups. Annual variation of condition index extended two peaks in March and July.

Six gonad developing stages which were follicular stage, early growth stage, later growth stage, mature stage, spawning stage, and regression stage were identified from histological observation. Main spawning seasons were April, June and July, but low frequency reproductive activities were found through out year.

### 前 言

大蛤 (*Tapes platyptycha*) 俗稱大殼仔、薄殼或淺網蛤<sup>(1)(2)</sup>，*Tapes* 屬台灣產一屬少種，皆為澎湖主要食用之經濟二枚貝。目前皆靠天然採捕售至海鮮店，售價為每斤 150 元左右，近年來由於過漁現象及人為污染（例如毒魚），致產量急驟遞減。本調查旨在深入探討其周年的生殖生理及組織學上之變化，以期尋出正確繁殖季節，做為未來人工繁殖或資源保護之生物學基礎。

大蛤棲息地是在距高潮線以下至水深 20 公尺以內區域，底質以沙礫及碎珊瑚礁為主，濾食性殼屬中型，殼頂顯著向前傾，前背緣稍凹入，後背緣較潤，其後端角張如鎌刀狀，殼表有輪肋紋，紋細稍不規則，隨棲息底質之色澤而有不同之茶褐色，暗黑色或乳白色等外觀，表面散佈四條深黑色之放射線，上有斑點或呈網狀交叉之細紋，內面黃白色，腹緣平滑主齒發達而側齒不明顯，殼薄殼幅小，成長快約一年可達上市體型 40 mm。其分佈由本州相模灣以南、四國、九州、琉球至澎湖都有，唯溫帶種之體型（殼長平均 28 mm）較澎湖產之亞熱帶種（50 mm）小很多。

過去對二枚貝之生殖生理所做的研究並不多，<sup>(3-11)</sup>大都僅為零星的結果。一般所採用之生殖巢顏色或面積之判別，肥滿度調查，雌雄判別之可能率或浮游稚貝出現推定等方法，有時會產生統計上

或人為主觀的誤差，其所推定亦是蓋括性的生殖季節。本報告基於組織學上之觀察，再比較肥滿度所得之結果，以尋出較精確之周年產卵期。

### 材料與方法

自 1981 年 1 月訖 1982 年 1 月，在澎湖縣白沙鄉赤坎、岐頭一帶 ( Fig.1 ) 按月每次採集 30mm 以上成員 20 ~ 30 個，携回實驗室靜置二小時，以游標尺測定其殼長、殼寬、殼幅、總重、軟體部重，生殖腺面積比等資料，然後在生殖腺末端近直腸之前庭部以解剖刀取生殖腺體液作抹片，在光學顯微鏡下觀察並計錄其性別、卵徑大小與精蟲活力。肥滿度之測定分兩種方法 (i) 重量百分比：軟體部重 ÷ 總重 ( mg ) × 100 % ， (ii) 容積百分比：軟體部重 ( mg ) / 殼長 × 殼寬 × 殼幅 ( mm ) × 100 % 。

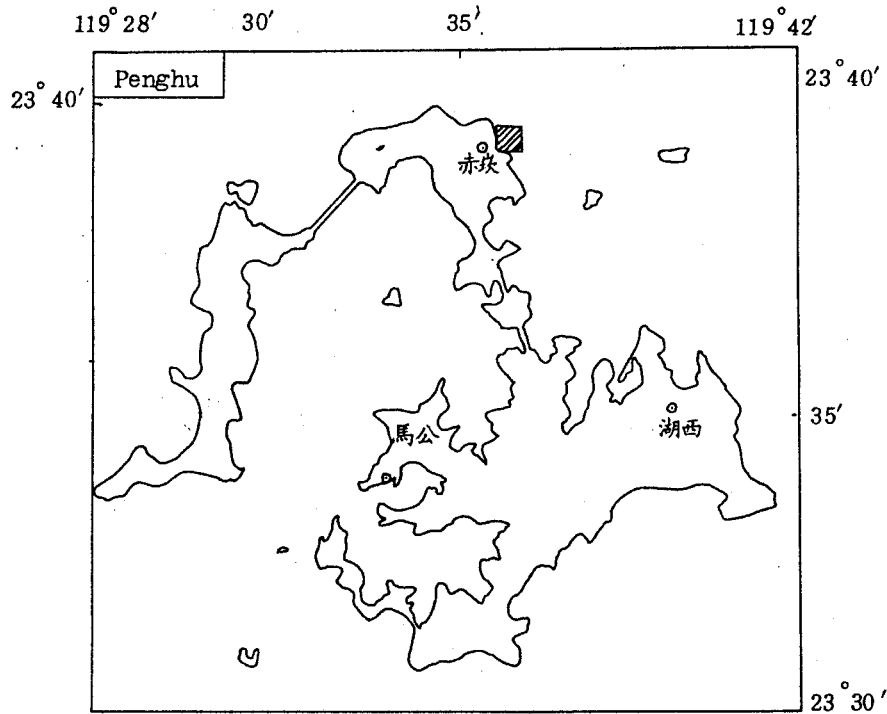


圖 1 調查地點

Fig.1 Map showing site of the population studied

生殖腺之組織學觀察，每回由供試貝類中逢機取出 10 個個體之軟體部 ( 雌雄各佔一半 ) ，截取其內臟中央部長軸上生殖巢之橫斷面，作成 1 cm 寬之組織塊。以 Bouin 氏固定液固定 24 小時，經 Paraffin 包埋，雌貝 8 ~ 12 m $\mu$ ，雄貝 5 ~ 8 m $\mu$  切片，再以 Delafield's Hematoxylin - Eosiny 及 Azan's 染色法染色。生殖腺成熟度之區分，主要是依據生殖原細胞 ( Primordial germ cells ) 到成熟配子之一連串發展過程及各個生殖細胞階段在生殖巢中所佔之比率而分，參照立石。<sup>9)</sup> 所發表之區分法區分濾胞期，成長前期、成長後期、成熟期、放出期、休止期等六期，其特徵分別敘述如下：

濾胞期 ( Follicular stage ) ，生殖濾胞腔內通常呈空虛，不含生殖細胞，偶有上次未排出所殘

留之配子，此情況雄性較為顯著，亦有部份雄性之生殖內腔成網狀者。

成長前期 (Early growth stage)，雌雄之生殖細胞均達分化生育時期。卵巢其濾胞壁上卵原細胞數顯著增多，已成為初級卵母細胞者一部份附著於濾胞壁另一端向腔中央伸出，其細胞核亦會伴隨向心移動。濾胞腔內充滿發育不同之卵母細胞，各細胞不論核質或細胞質均顯著增大，核周圍的細胞質中可顯著看到為Hematoxylin 濃染成環狀或半月狀之外套物質 (pallial substance)。精巢之腔壁增厚，精原細胞所佔之比率增高，內腔之中央虛空或有殘存之精蟲團。

成長後期 (Later growth stage)，卵母細胞積有卵黃物質向中央部伸長，柄部仍然附著於濾胞壁，整個細胞呈西洋梨或無花果狀，胞長徑  $130 \sim 160 \mu$  (包括柄長)。濾胞周壁之卵原細胞數量上顯著減少，與前期相同濾胞腔仍為幼弱之卵母細胞佔據，在洋梨型卵母細胞增多時接近成熟期。精巢與卵巢相同前後期之區分甚為困難，精母細胞之第二次分裂部份完成，亦可見到精細胞但量仍少，此一連續之發育階段為精母細胞優勢時期，各細精管增大間隙變小。

成熟期 (Matural stage)，濾胞內腔呈可受精狀態，為生殖細胞之肥滿時期，雌性卵母細胞由濾胞壁分離近似球狀，中央部顯見大型細胞核及核小體，濾胞壁上尚有少數未成熟之卵原細胞或卵母細胞。雄性繼續由細精管壁向中央進行精子形成 (Spermiogenesis)，此時期內腔多數充滿成熟之精子精母細胞數減少。

放出期 (Spending stage)，為生殖細胞集中排放之時期，濾胞內腔不再充滿生殖細胞且有空腔出現，卵母細胞減少到最低，內腔產生間隙。雌性之內腔中央部可見集合呈渦旋狀之精蟲團。但並非雌雄均可同時令全部濾胞放精，放卵，而係部份進行，同時一般可看出少數幼小生殖細胞之發育。

休止期 (Regression stage)，大部份生殖細胞皆已排出，生殖巢內腔再度轉成空虛狀，濾胞壁周圍之結締組織增厚，部份生殖腔甚至因擠壓而崩壞或萎縮呈細長狀。仍有極少數殘存有成熟之生殖細胞，然而這些殘存之細胞很快會在崩壞過程中多數因浸潤作用自行分解 (Autolysis) 而為游走之巨噬細胞所蠶食，由此情況推斷大部份均會行分解吸收，此時之生殖巢由大量之體液所填充而成灰透明色澤之水狀始。

白沙鄉岐頭海域每日表水溫及鹽度 (Fig. 2) 以明瞭主要環境之變化。

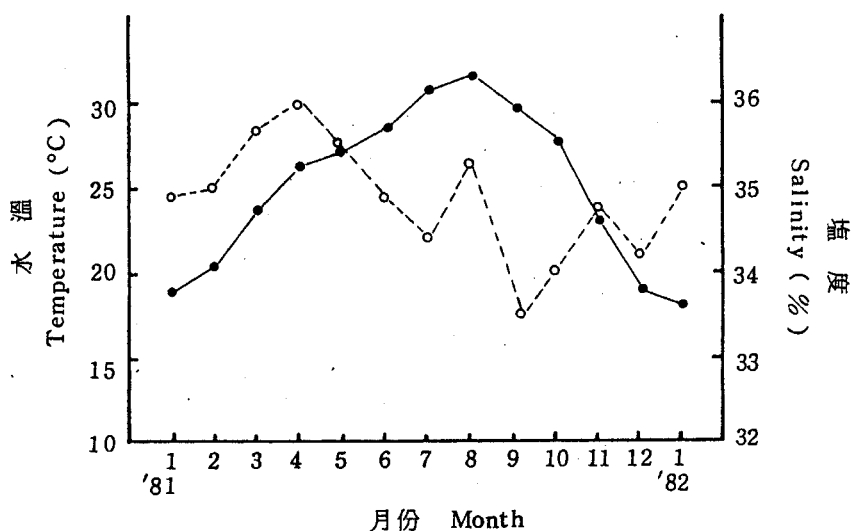


圖2 表層水溫及鹽度之年間變化 (點：水溫，圈鹽度)

Fig. 2 Change of surface water temperature (dot) and salinity (circle) at Pei-Sha

結 論

所有採集之 371 個個體中經抹片觀察，除 5 個無法判別性別，得雄貝 186，雌貝 180。

雌貝生殖巢外觀呈乳白狀，粒狀，其發育過程由圍心腔部腹面之中胚葉帶延著消化道分背腹二向呈樹枝狀之水平發展，達到約略涵蓋消化道之程度再作垂直之增厚混合。生檢現象卵的變化 ( Fig.3 )，最明顯乃在卵長徑之大小，配合核徑之增大越接近成熟卵柄越短，大於 130  $\mu\text{m}$  者為尚附著在濾胞壁上之發育卵，介於 95 ~ 110  $\mu\text{m}$  為帶卵膜之成熟卵。周年卵之觀測值之變化，卵長徑變域為 85 ~ 160  $\mu\text{m}$  平均 111.6  $\mu\text{m}$ ，出現成熟卵的比率以 4、5、7 及 8 月為高；卵短徑之變域為 50 ~ 110  $\mu\text{m}$  平均 85  $\mu\text{m}$ ，小於 75  $\mu\text{m}$  唯發育中之卵母細胞成熟卵之短徑 7、8 月要較 4 月為小；胞核徑之變化不大，變域為 40 ~ 60  $\mu\text{m}$  平均 44.9  $\mu\text{m}$ ，但隨著成熟階段之演進，其核質之透明度會由淺漸深，細胞質則漸趨透明。

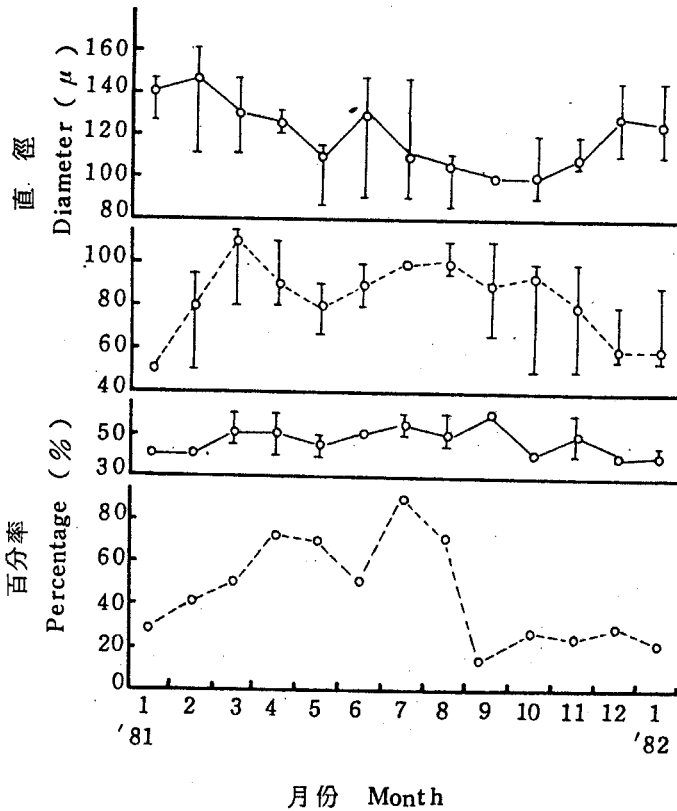


圖 3 卵徑之年間變化

Fig.3 Annual variation of eggs by microscopic examination of gonad smears

A: long axis ; B: width ; C: nucleus ; D: percentage of mature eggs ; Bar : range

雄性生殖巢外觀呈灰白色絛索狀或雲片狀，發育之過程與雌貝相同。其體液在取出抹片後加入 0.2 cc 海水觀察精蟲活動力區分為不動、顫動、游動三級，周年觀察所得之變化很小，以 2、6 及 7 三個月發現游動力十分活躍之精子群比率高，10、11 月為 0，未見具活動力之精蟲 ( table 1)。

表 1 精子活動力之年間變化  
Table 1 Sperm activity form microscopic examination of smears

日 期 Date	檢 查 數 NO. of examination	不 動 數 目 NO. of nonactive	顫 動 數 thrill	活 動 數 NO. of active	指 數 NO. of index*
1981年 1月 Jan. '81	12	5	1	6	0.54
2月 Feb.	6	0	2	4	0.83
3月 Mar.	17	7	4	6	0.47
4月 Apr.	18	5	9	4	0.47
5月 May.	7	0	7	0	0.50
6月 Jun.	15	0	3	12	0.90
7月 Jul.	25	4	6	15	0.72
8月 Aug.	18	3	10	5	0.56
9月 Sep.	12	4	4	4	0.50
10月 Oct.	9	9	0	0	0.00
11月 Nov.	21	20	0	1	0.05
12月 Dec.	13	2	6	5	0.62
1982年 1月 Jan. '82	13	4	2	7	0.62

\* Index expressed by  $(\text{No. of nonactive} \times 0 + \text{No. of thrill} \times \frac{1}{2} + \text{No. of active} \times 1) / \text{total No.}$

生殖腺面積比 (Ratio of Gonad to Metasoma) 是生殖腺佔足後軟體部面積之百分比，由 7 至 11 月所測得資料，結果得知 8、9 月生殖腺開始顯著退化 ( $\bar{X} = 0.2065 \pm 0.1397$ )，10、11 月比率又逐漸升高 ( $\bar{X} = 0.3529 \pm 0.1051$ )，但據外觀所顯現其生殖腺十分疏鬆成樹枝狀，只是涵蓋面積增大而已，由此可推定本期為再發生之階段。

性比與季節及殼長之關係，經卡方分布分離比適合度測驗，獨立性測驗  $X^2_{i} = 6.338 < X^2_{n=4, p=0.5} = 9.488$  (不顯著)，純度測驗  $X^2_{\pi} = 9.187 < X^2_{n=4, p=0.5} = 9.488$  (不顯著)，除性比與季節組 11 月，殼長組 70—80 mm 有顯著差別外，其餘均不顯著。雌雄性別 1:1 不受季節殼長變異之影響 (table 2 & 3)。

肥滿度調查，周年肥滿度指數變化 Fig. 4 顯示，重量百分比月平均最高為 7 月之 32，最低為 10 月之 18，且分別在 3 及 7 月出現一個高峯，大於年平均 23.279% 者有 1、2、3、7、8、11 等六個月標準機差 3.372%。容積百分比月平均最高為 3 月之 15，最低為 10 月之 11.5，分別在 3、8 及 11 月出現不十分顯著的高峯，年平均 13.377%，標準機差 3.752%。二者相比較均在 3 及 7 月產生高峯而且均在 1~3 月及 7~8 月達到肥滿時期；再予比較組織觀察得知，處於成熟期之大始其肥滿度重量百分比法均大於 25%，容積百分比則不穩定差距較大。著重於殼長變異之觀點可發現殼長之增加，肥滿度有漸偏低之趨勢。

組織學觀察生殖巢之周年變化，雄性精巢從 12 月起至次年 8 月不斷的進行一連串由精原細胞形成精子之活動，並作不同頻度之排出 (table 4)，9 月至 11 月雖然亦有各階段之雄性生殖細胞，

但多數精巢呈現萎縮崩壞或內腔中央具殘存精子塊的狀況。由於各月精巢之演變並無族群上之一致性，亦即在個體的生殖巢內及試樣個體之間，混雜著發育程度不同之生殖單位，觀察記錄上僅能以多數現象代表之。

表 2 殼長與性比之關係

Table 2 Test of sex ratios (1:1) in length group

殼 長 shell length (mm)	雄 male		雌 female		卡 方 顯 著 測 驗 test of	
	數目	比率	數目	比率	X <sub>c</sub> <sup>2</sup>	
	NO.	%	NO.	%		
30 - 40	18	60.0	12	40.0	0.833	N.S. 不顯著
40 - 50	37	52.1	34	47.9	0.056	N.S. "
50 - 60	78	56.5	60	43.5	2.094	N.S. "
60 - 70	40	47.0	45	53.0	0.188	N.S. "
70 - 80	12	29.3	29	70.7	7.049	S. 顯著
total	186	50.8	180	49.2	0.068	N.S. 不顯著

表 3 性比與季節之關係

Table 3 Test of sex ratios (1:1) in seasonal group

日 期 Date	雄 male		雌 female		卡 方 顯 著 測 驗 test of	
	數 目	比 率	數 目	比 率	X <sub>c</sub> <sup>2</sup>	
	No.	%	No.	%		
1981年 1月 Jan. '81	12	60.0	8	40.0	0.45	N.S. 不顯著
2月 Feb.	6	30.0	14	70.0	2.45	N.S. "
3月 Mar.	17	56.7	13	43.3	0.30	N.S. "
4月 Apr.	18	60.0	12	40.0	0.83	N.S. "
5月 May.	7	35.0	13	65.0	1.25	N.S. "
6月 Jun.	15	50.0	15	50.0	0.03	N.S. "
7月 Jul.	25	44.6	31	55.4	0.88	N.S. "
8月 Aug.	18	60.0	12	40.0	0.83	N.S. "
9月 Sep.	12	40.0	18	60.0	0.83	N.S. "
10月 Oct.	9	45.0	11	55.0	4.80	S. 顯著
11月 Nov.	21	70.0	9	30.0	0.30	N.S. 不顯著
12月 Dec.	13	44.3	17	55.7	1.25	N.S. "
1982年 1月 Jan. '82	13	65.0	7	35.0	0.07	N.S. "
total	186	50.8	180	49.2		

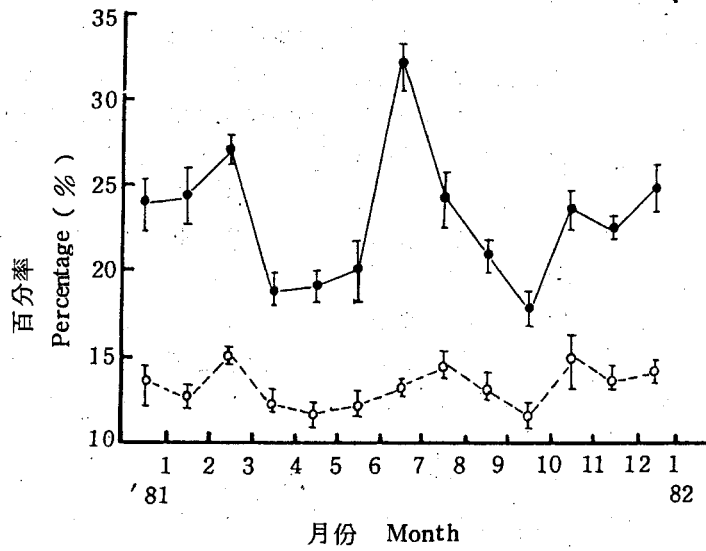


圖 4 肥滿度之年間變化

Fig.4 Condition index of *T. platyptycha* from January 1981 to January 1982

Solid line: (meat weight/total weight x 100 %)

Break line: (meat weight/volume x 100 %)

Bar: range.

表 4 生殖巢分期之組織觀察

Table 4 Histological observation of gonad stages 1981-1982

日期 Date	精巢 spermary						卵巢 ovary					
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	1.	2.	3.	4.	5.	6.
1981年 1月 Jan. '81	1	1	2	1			3	2				
2月 Feb.		1	3	1			4	1				
3月 Mar.			1	4			2	2	1			
4月 Apr.				2	3		2	3				
5月 May.		1	3		1		1	1	3			
6月 Jun.				5			1	4				
7月 Jul.				2	3		1	4				
8月 Aug.				4	1		1	4				
9月 Sep.				1	1	3	1	1	2	1		
10月 Oct.	4			1			3	1	1			
11月 Nov.	2	1		1	1		2	1	1	1		
12月 Dec.	1	1	2	1			2	2	1			
1982年 1月 Jan. 82	3	1	1				2	2	1			

1 月雄性生殖單位之細精管 (Seminiferous tubules) 內腔以及腔與腔之間仍存有部份之間隙，這些間隙常因固定過程中被溶解而呈透明或存在一些膠原纖維。精細胞之形成已逐漸旺盛，有些較為早熟的個體亦有少數精子形成，這段期間以精細胞變化最為顯著，組織學上為減數分裂期 (meiosis stage)，相當於成長後期到成熟期初期。精細胞初呈條型輻射狀聚集逐漸向精巢中央發展，此時胞核大核徑為  $1.3 \sim 1.5 \mu m$ ，細胞質少，染色上因染色劑銻合陽離子與 DNA 中之磷酸根支官能基鍵結而呈 Hematoxylin 濃染。部份精巢尚殘留前期未排出而聚集成團之精子而阻礙發育，且因精原細胞與初期精母細胞較佔優勢，乍看之下精細管壁頗厚似進入休止期，此種精巢發育十分緩慢停滯在生長前期，總括大部份雄貝不具生殖活力。

2 月份泰半之個體趨向成熟初期，精巢肥大彼此之間隙縮小，間質結締組織之膠原纖維在細精管壁上皮之支持細胞周圍而十分不明顯，精巢內為聚集成柵狀之精細胞所佔據，多數腔中心部有少許之精子形成，頭部向中心聚集不易區分，尾部不規則朝外發散呈束狀相互纏繞嗜酸弱染，這些即是由柵狀部游離出之成熟精子群。

3 月份精巢中心可觀察到大量游離精子之形成，在靠近肝臟及生殖輸管之精巢更為明顯發達，甚至外套腔壁上亦有溢出之游離精子。內臟囊內之結締組織退至表層肌原纖維下方，細精管末梢充分在體腔內延展並肥大，約佔內腔橫斷面空間之 60% 以上。精巢內精原細胞及初級精母細胞仍維持一定數目，但精細胞數却顯著減少，代之為染色較淺之精子，初形成之精子仍依照原來精細胞發展之方向，內圍精細胞外圍精子群尾部狀如毛刷作柵狀排列，游離之精子則在精巢中央聚集成渦卷狀或雲狀，遇到適合之環境條件與生理壓力則經生殖門將精子群排至外套腔。

從 3 月下旬開始，群族中多數個體都有排精之現象，到了 4 月則更為明顯，約佔採集個體 80% 強，精巢中心渦卷狀之精子群消失致使中心成空腔，部份末端之精巢因排出作用壓散精細胞而與殘餘之精子混雜佔據內腔，精巢仍維持原狀並無浸潤作用產生，部份有過熱之症狀中央渦狀精子群呈混濁之 Hematoxylin 濃染，導致新生的初級精母細胞及精細胞產生擠壓，往往加重貝類生理負擔或阻礙發育。

5 月延續排出期，生殖細胞之分佈並未進入休止期，由精原細胞至精細胞形成之一連串發育仍十分旺盛，尤其以精原細胞行有絲分裂之複製最為明顯，精細胞再度填充內腔與 3 月上旬之狀況相似，唯細精管壁却顯著增厚，精原細胞增加 2 - 2.5 倍，其生理機制未能了解可能與採樣個體偏大有關，抑或是為應付未來之大量排放亦未可知。所觀察到之組織十分紊亂，生長前期到排出期之各階段精巢交互存在，唯一共通點為細胞發育旺盛。

6 至 8 月精原細胞及精母細胞量次第減少，絕大多數之精巢達到最肥滿之狀況，並開始作高頻度之排精，尤以 6 月下旬至 7 月最為旺盛。初排空之精巢內腔空虛，常見游離之精細胞腔壁多為支持細胞，此時很少觀察到初級精母細胞進行減數分裂之各期，這是與 4 月份排出期組織上最大之區別，意味生殖活動之降低。靠近腎門的上鰓室 (suprabranchial chamber) 滯留許多游離精子群，證明已經過排出期。位於體腔上皮 (coelomic epithelium) 附近之精巢壁異常增厚，呈嗜伊紅性弱染含多量嗜鉍酸性顆粒，局部呈 P.A.S 陽性反應，細胞較大間質初級精母細胞佔優勢，腔與腔之間不具明顯界限幾乎不含間隙，基胎層 (basal lamina) 所包圍之區域平均佔整個精巢的 40%，腔中心為初期之精細胞，此現象存在原始生殖巢或細精管末梢，參照生殖腺面積比可知精巢並未退却，至 8 月上旬仍有排出行為但侷限於較大之體型。中下旬絕大多數的細精管開始萎縮，成不規則之長條狀，處於成熟期的個體低於 10%。

9 月初期精巢進入不顯著之休止期，並退却至圍心腔及螺旋狀小腸壁周圍，少數個體精巢為網狀或在退却過程中崩壞，此期間少巨噬細胞的出現。9 月下旬踰進瀟胞期，可清晰觀察到幼弱之生殖細胞及殘存在腔中之精蟲塊，細精管呈鬆緩袋狀，體腔內由發達之間質結締組織所替代，P.A.S 反應呈



陽性，外觀為水狀蛤。10月至11月細胞活動恢復旺盛，許多精巢中未被完全分解吸收之殘存精蟲塊導致生長前期之延長，經自解的精蟲塊呈絲狀，濃染，附近有多核之大型細胞。再生的細精管群開始在內臟腔橫斷面呈環狀，略為發育之生殖細胞核較大，各原細胞屢見分裂相，後期精母細胞發達漸向中央伸展轉變成獨立之精細胞。

12月細精管末梢發達，涵蓋大部份之內臟腔達斧足後方，外觀仍呈枝狀分岐，介於生長前期至後期之間，結締組織漸萎縮並凹陷以容納新生的精巢。精巢內腔處於營養生長 (nutritional development) 狀態，精細胞呈條狀或小點狀 (cluster) 組織間質頗厚，下旬精細胞完全取代精母細胞優勢，但仍不為獨立發展，觀察之各個精巢的發育階段差異很大。至1月多數精巢仍停留在生長後期，細胞活動較為緩慢，肝臟之肝醣反應很高，間質減少。(plate I & II)

雌性生殖巢主要在濾胞的演變，由間質組織所構成之卵巢於12月下旬已延伸至體腔肌纖維之近緣，填塞體腔空間之緻密層，膠原纖維隔間退化，以Azan's染色顯染為青色，存在於朱色肌纖維下方及腸壁。濾胞間隙變小呈不規則狀緊緻排列，壁薄約10~15  $\mu\text{m}$ ，由成纖維細胞 (fibroblasts) 所構成，上有未分化細胞 (indifferent cell) 橢圓形，核不明顯，量很少，直徑2~3.7  $\mu\text{m}$ ；卵原細胞圓形排列在濾胞壁旁，胞核大核仁顯著，直徑9~11  $\mu\text{m}$ ；濾胞細胞扁平小型細胞核，呈卵型或細長，染色質稀少，直徑4~6  $\mu\text{m}$ ，一部份形成濾胞上皮，另一部份直接附著於卵母細胞以支持及營養生殖細胞，初級卵母細胞卵黃核明顯直徑變異大，末期之初級卵母細胞突出，濾胞壁充分生長以胚芽小泡 (germinal vesicle) 及胚芽小斑 (germinal spot) 最為顯著。整個細胞呈洋梨狀，胞徑90~130  $\mu\text{m}$ ，核徑40~50  $\mu\text{m}$ ，本月所觀察到之濾胞多數仍為發育中之初級卵母細胞，亦有極少量之成熟卵母細胞游離至腔中心，充分發育之卵母細胞呈紫色Hematoxylin-Eosin濃染，核仁分為嗜鹼性含RNA之染色核仁 (Karyosome) 及嗜酸性含PAS陽性顆粒之眞核仁 (Plasmosome)，細胞質呈粉紅色，以Sudan III染色可見多數之油球及卵黃顆粒，生殖細胞間之空隙仍大，為生殖巢生長前期至後期之間。至1月生長仍緩慢，但生殖細胞活動漸趨旺盛，濾胞之間由於發育擠壓現象很明顯，間質結締組織急劇減少，濾胞腔內配子數增多，卵原細胞量及卵母細胞比例相當，大部份個體進入生長後期。

2月卵原細胞及初級卵母細胞數減少，部份濾胞腔內充滿游離之次級卵母細胞，約佔內腔面積之70%，一個濾胞腔含20~30個卵母細胞，增加數約為上月的1.5~2倍。受測個體中已做低頻率的排出，在生殖門及上總室中發現排出之游離卵，濾胞腔在Azan's染色下以次級卵母細胞較為明顯，細胞質橙黃色，基底膜青色，胞核紅色。卵巢處於成熟前期。3月的卵巢組織介於成熟期部份為排出期，排卵的頻率不高，多屬部份濾胞排空，卵細胞發育不因排卵而休止，濾胞壁很薄卵原細胞幾成單層排列，細胞膜界限不明圓形，核仁藍色嗜酸濃染，濾胞佔據內臟腔之65%新生成之濾胞仍多。

3月下旬至4月尤其在4月中旬，整個族群的個體達到充分成熟，並開始作高頻率排出，多次濾胞呈空腔狀，腔與腔之間界限不易區分但少有崩壞者，少數接近消化道的濾胞有變形細胞生成，其餘腔中殘存的成熟卵，不經浸潤作用而在未來繼續低頻之排卵中跟隨排出或存留成為過熟卵，其特徵為卵胞內肝醣及游離脂肪酸之異常增加。排空後之濾胞迅速過過休止期及濾胞期至5月再度進入生長前期，這種發育只為濾胞的再肥滿組織上並無顯著變化。6月的濾胞中含有優勢之卵原細胞與幼弱之初級卵母細胞數量上較一月生長期增加0.7~1.5倍，這些卵母細胞為染色仁期 (chromatin-nucleolus stage) 或無卵黃期 (Yolkless stage) 主要在細胞質及核仁的生長過程。

7月至8月受測個體之間差異很大，同一個體中有的濾胞仍停滯在成長後期至成熟期，有的則完全排空，成熟卵聚集在腔中及生殖小管，卵直徑90  $\mu\text{m}$  管徑650~1000  $\mu\text{m}$ ，卵具卵黃膜及卵胞膜 (chorion) 二層保護膜，體腔呈偏鹼性。至8月上中旬處於排出期的個體所佔百分比顯著升高約佔73%，部份內腔仍保持成熟狀態之種貝則有過熟之現象。8月下旬開始漸次進入休止期，濾胞壁向

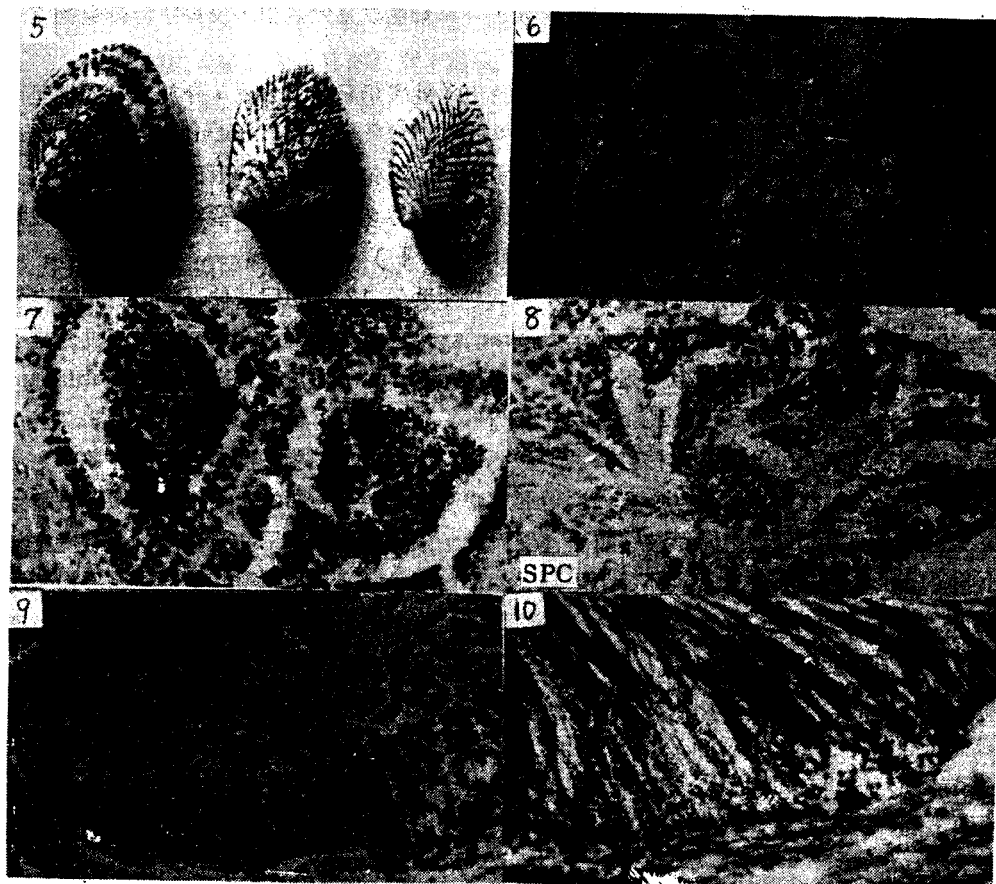


圖 5 大蛤之外觀

Fig. 5 Out-view of net-clams *Tapes platyptycha*

圖 6 不具卵巢活力之雌雄同體生殖巢

Fig. 6 Hermaphroditic gonad with nonactivate ovary

X 400

圖 7 濾胞期 I ; 殘存在腔中央之精子團

Fig. 7 Follicular stage I ; with will developed spermatogonia

X 400

圖 8 濾胞期 II ; 精原細胞開始發育

Fig. 8 Follicular stage II ; mass of sperms residual in center of lumen

X 400

圖 9 成長前期 I ; 精母細胞成索狀

Fig. 9 Early growth stage I ; with the clusters of spermatocyte

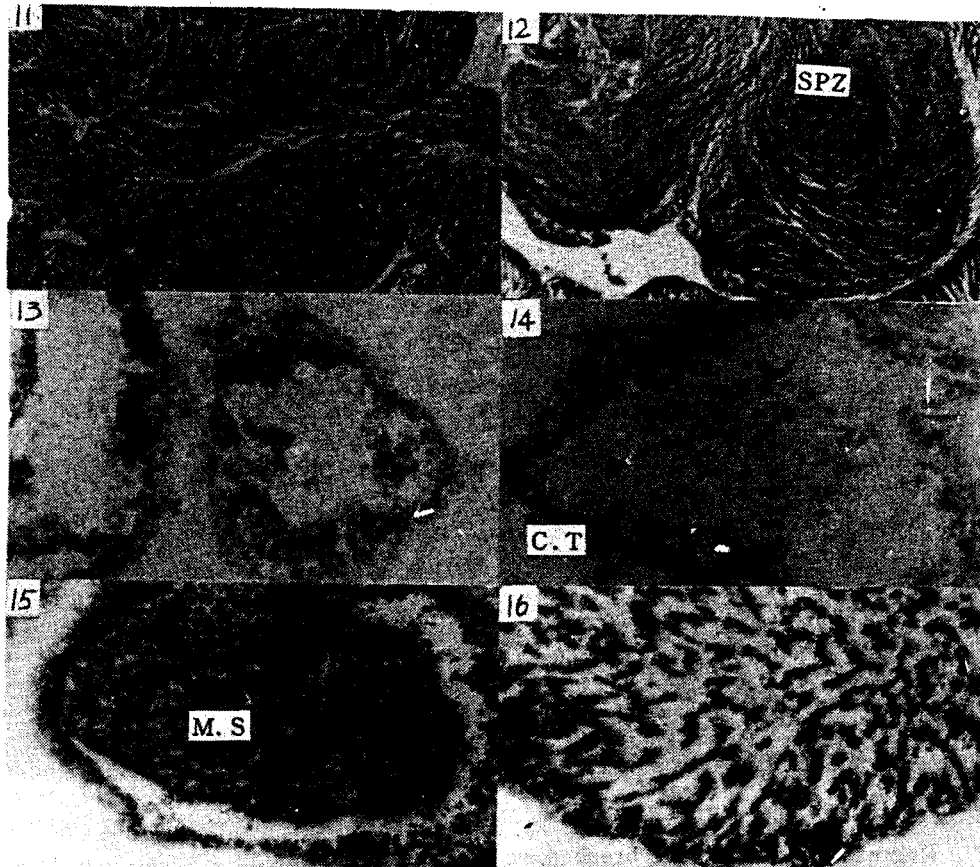
X 400

圖 10 成長後期 II ; 精細胞之變態期，精巢成柵狀

Fig. 10 Later growth stage II ; spermiogenesis of spermatozoas oriented with their tails toward the center of bands

X 400

SPC. Spermatoocyte ; SPG. Spermatogonium



- 圖 11 成熟期 I ; 精巢為各期之精細胞所充滿  
 Fig. 11 Mature stage I ; the spermary filled up by each stages of sperms X 400
- 圖 12 成熟期 II ; 腔中央為渦卷狀之精子群  
 Fig. 12 Mature stage II ; lumen center cohered with purl-like mature sperms X 400
- 圖 13 排出期 I ; 高度排出後之空腔狀態  
 Fig. 13 Spawning stage I ; empty lumen after high-degrees of spented X 400
- 圖 14 休止期 ; 退化之精巢其周圍結締組織增厚  
 Fig. 14 Regression stage ; degenerative spermary surrounded by multiication of connective tissue X 400
- 圖 15 休止期 ; 未排出之精子團，佔據腔中央阻擾並延緩生殖巢之再發育  
 Fig. 15 Regression stage ; un-spented mass of sperms occupied the lumen that interfer and delay the redevelopment of gonads X 400
- 圖 16 殘存精子之自解，精巢成網狀  
 Fig. 16 Autolysis of residual sperms, which caused net-like spermary X 400
- SPZ, Spermatozoas; G.T. Connective tissue ; M.S. Massoof sperms

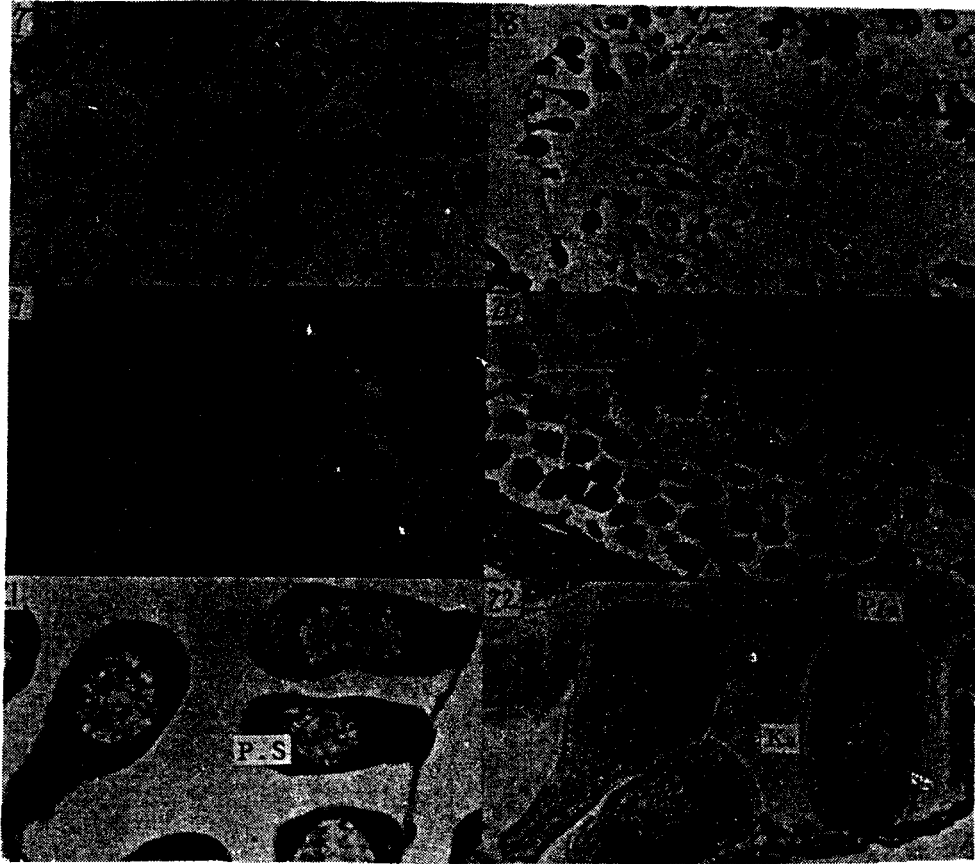


圖 17 休止期；卵巢之崩壞

Fig. 17 Regression stage ; the break-down of ovary and ovas

X 100

圖 18 成長前期 I；卵母細胞之成長，卵柄明顯

Fig. 18 Early growth stage ; majoring in growth of oocytes with elongated peduncles

X 40

圖 19 成長前期 II；成長完全之卵母細胞游離出濾胞腔壁

Fig. 19 Early growth stage ; fully growthed oocytes seperated and laied beside the follical wall

X 100

圖 20 成長後期，卵母細胞漸向腔中央延伸

Fig. 20 Later growth stage ; oocytes gradually development to the lumen

X 100

圖 21 細胞前端核質之聚集，稱為外套物質

Fig. 21 An accumulation of mitochondria at proximal and of the cells so-called pallial substance

X 400

圖 22 細胞通常呈球形，中央為胚芽小泡，染色絲分佈更廣胞核一極出現一群粒質

Fig. 22 The cells is usually spherical with a centrally located germinal vesicle and more widely chromosomes spaced, a group of granules appears at one pole of the nucleus

X 400

G.V. Germinal vesicle ; P.S. Pallial substance ; Ka. Karyosome ; Pla. Plasmosome

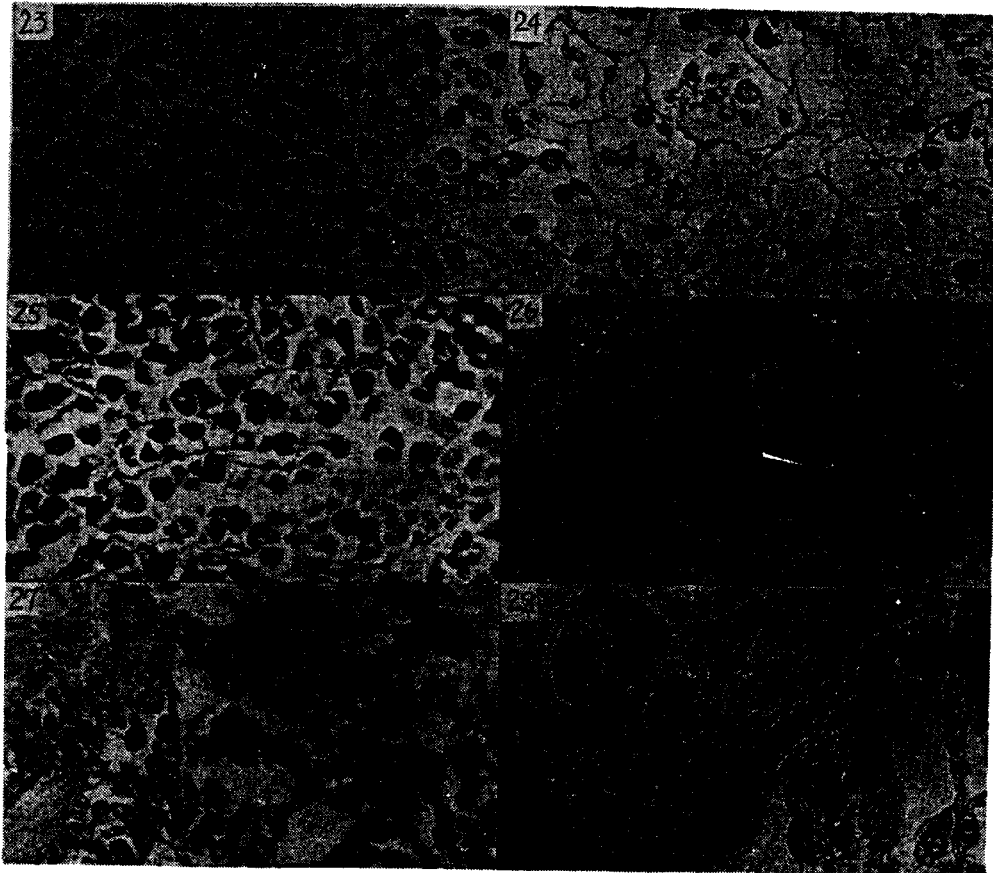


圖 23 成熟期；卵母細胞佔滿濾胞腔，預備排出

Fig. 23 Mature stage ; mature eggs gather around and occupied in center of lumen, ready to release

X 100

圖 24 排出期；排出後之空腔及殘留之卵

Fig. 24 Spawning stage ; empty lumen and residual ovas

X 100

圖 25 過熟之卵巢

Fig. 25 Over-reppen follicle

X 100

圖 26 卵巢中巨噬細胞之出現

Fig. 26 Appearance of phagocyte in ovary

X 100

圖 27 休止期；殘留卵細胞之自解

Fig. 27 Regression stage ; autolysis of residual ovas

X 100

圖 28 濾胞期；卵原細胞之增殖，數量及大小上同時增加

Fig. 28 Follicular stage ; the multiplication of ovogonia change in number as well as in size

X 400

Ph. Phagocyte ; Oog-Oogonium ; G.E. Germinal epithelium

中腔凹陷或崩壞腔內仍殘存少數未排出之游離卵及脫落未成熟之卵母細胞，可見染色不完全之細胞碎片，多核之巨噬細胞由消化道上皮類似間胚層結締組織中生成，形狀不定，游走並吞噬殘存之生殖細胞，完成細胞之物質代謝與還原。生殖巢間質結締組織分裂，增殖產生游離幼細胞填充空腔，並形成肝醣貯存組織。生殖細胞之活動遲緩，只存有少數之卵原細胞及各個階段之卵母細胞，濾胞之發育仍具部份進行。

10月濾胞壁增厚，壁上之卵原細胞及濾胞細胞分裂旺盛，細胞數量增多進入時距很短之濾胞期，依組織相可區分為排卵後空虛濾胞之繼續發達者及由結締組織中原生殖細胞層之新形成者，後者在偏小的個體中佔優勢濾胞較小。10月至12月上旬，濾胞開始發達，壁上充滿幼弱之初級卵母細胞與卵原細胞之比率為0.6~0.8，發育中之卵母細胞基柄附在壁上，每個濾胞腔中約有8~12個，多者可達20個，其細胞質向外突出，微小管(microvilli)以吸收外界營養物質。12月至1月主要在卵母細胞之變化，採集之標本內許多個體十分羸弱，尤其是雌貝，和上年同期比較演進至成熟初期的比率高出10%。

雌貝於周年中皆可發現成熟之種貝，各個生殖濾胞的變化頗不一致，演進期亦較雄貝為長且明顯，除9月至10月上旬外，各月均有低頻之排卵行為，3至4月為春卵期，配子較大受精率亦高；6至7月中旬為第2次高潮，配子較小但數量增多，排放也較完全，此春夏兩季應為適合繁殖之季節。

最小成熟體型之觀察發現32mm之雄貝已具有精巢，但並不發達，橫斷面所佔之比率很小，腔壁特厚充滿未分化細胞及精原細胞；精母細胞及精細胞比率小，亦發現群集之成熟精子，未知是否有生殖行為。38mm之雌貝具有生殖原細胞之基始卵胞，位於圍心腔及消化道附近之間質結締組織內，包容著個別之卵原細胞而非一般濾狀。超過70mm之種貝表面呈黃褐色，在成熟期生殖腺佔內臟腔之比率低於38%，而且多變形之生殖配子，是否具生殖能力應作更深入之探討。(plate III & IV)

## 討 論

影響二枚貝周年生殖期變化之因子歸納可分為外界環境因子及內在生理因子二者，前者如溫度、比重、食物之供給，干出時間比率，月陰週期、海流、機械性刺激、族群密度與結構等；<sup>(11 16)</sup> 後者包括性成熟過程中脂肪及肝醣分佈之變化，荷爾蒙機制、神經分泌物、組織呼吸及代謝<sup>(17 19)</sup>，這些因子應是交相互應的。在短期間中生殖活動對刺激因素，在同種族群而言皆同樣有敏感之反應；但就長時間之觀點，影響因素多且繁複，貝類棲息地域的氣候及地理環境誘導、支配生殖巢成熟及生殖行為，同時影響餌料生物之消長，種內或種間族群之消長、最適性、忍耐性等之周年變化與生殖季節有關。各種因素中溫度對生殖過程之影響往往最被重視，早在1920年Orton提出臨界溫度特性之論點<sup>(15)</sup>，牡蠣生殖腺成熟與溫度變化關係密切，並且經溫度處理可導致2次性成熟的發生，<sup>(12)</sup> 管野亦曾討論表層海水累積水溫對紅貝產卵誘發的關係，並藉此預測其成熟期。<sup>(20)</sup> *Tapes* 屬中淺蜆(*Tapes japonica*)之周年生殖季節調查較為完備，歸納可知朝鮮、北海道以北之寒帶海域每年只一個產卵期，在春末至夏季3個月，但產卵期較長；關東以南九州以北之溫帶海域，皆有兩次明顯之產卵期，多在春、秋兩季，春季產卵期短約莫5或6月一個月；秋季較長，大抵在9至11月，兩個季節之間為生殖腺再發育期，澎湖位於亞熱帶年水溫變化不劇烈(Fig. 2)，生殖巢周年之變化不如溫、寒帶貝類之明顯，但一般具有相同之結論，即周年皆有低頻之排放，如*Tapes philippinarum*<sup>(21)</sup>，*Tapes varigata*<sup>(3)</sup>，*Crassostrea gias*<sup>(22)</sup>，*Mytilus smaragdinus*<sup>(4)</sup>等，大蛤主要的生殖季節為4月之春卵期及6至7月之夏卵期其餘各月均有排出現象，屬於部份排放(Portions spawning)，生殖季節高潮從春末及仲夏頗為延長，致於秋季成熟期比率最低，是因為夏季水溫高，貝類代謝速率增加，為避免增加生理負擔而導致高頻率生殖行為所產生之結果，澎湖俚語云「大殼仔最肥為花生開花之時。」換算時間約在4月上旬至6月，相較之下不無吻合。海瓜子(*Tapes vavi-*

gata) 之棲息地與大蛤相同，其主要生殖季節據調查為 4 至 9 月及 11 至 1 月<sup>(3)</sup>，此差異應該是種間對環境反應差別。在大蛤繁殖試驗中不同年齡級排放時間亦不相同，生態上之關聯應深入探討。大蛤幼生之生長最適溫度為 24 ~ 28 °C，春卵期符合生態上之適應，夏卵期之配子數增多與其較高之繁殖率及溫度偏高有關。

肥滿度與生殖巢的周年變化呈正相關，<sup>(23)</sup> 主要是因肝醣貯存組織與生殖巢發育過程之季節性消長相關。此次調查所得之比較除 8 月份外肥滿度與組織學判斷之周年變化相類似。影響肥滿度的因素有餌料量、攝餌活動及成熟生殖之消耗，<sup>(24)</sup> 但營養豐富的棲息所及高水溫都會消滅生殖消耗對肥滿度產生之影響，澎湖海域營養鹽偏低<sup>(25)</sup> 肥滿度變化較為顯著，同時在 3 月及 7 月後可發現明顯之遞減，8 月因高水溫的關係仍大於平均，與同海域之 *Cigigas* 及 *Tapes*, *Varigata* 相同，皆在秋季達到最低值，其受生殖之消耗之影響甚於環境，爾後受水溫漸低的影響，肥滿度回升並不顯著，所以在收穫上應以 7 月以前為適宜，從大蛤之肥滿度曲線與溫帶或寒帶之二枚貝比較，前者較不規則且變幅不大，由此可知大蛤周年都有生殖行為，其肥滿度最主要是受生殖消耗之影響。因為二枚貝之生殖腺重，軟體部重及總重均具同質性 (isometry)，而貝殼大小與生殖腺指數經分析却為不相關 (indipendence) 故肥滿度之重量百分比比較容積百分比更適合作為周年生殖期判斷之參考，此種情況存在 *Tapes japonica* *Ostrea lurida* 及 *chlamys varia*<sup>(5 29 36)</sup>。

雌雄性比關乎族群的生殖行為及性成熟過程中之差異性，此次採集個體中雄貝 186 個，雌貝 180 個，經測驗除季節組在 11 月、殼長組 70 ~ 80 mm 有顯著差異外，可得雌雄性比 1 : 1，不受殼長與季節之影響，亦即雌雄在族群中的生殖行為相當，同時根據組織觀察，雌、雄的生殖巢發育在各月間差異不顯著，具同步現象。至於性比及年齡級雖無顯著差異，但較高齡則以雌貝居多，如 60 ~ 70 mm，殼長組雌性佔 53 %；70 ~ 80 mm 組則高達 70 %，而且據組織學觀察，高年齡之雄貝生殖巢多不發達，雌雄異體的二枚貝多數有此現象，<sup>(26 27)</sup> 這差異並不存在於低年級群中，一般認為是雄貝壽命較短的原故。此次調查中，亦曾觀察到一個雌雄同體，不具雌性功能之種貝，殼長為 58 mm，此與牡蠣之 *Crassostrea* 相同，屬於偶發性性轉變，其發生頻率與年齡及環境有關，一般低於 1 % 且多發生在中年級群。<sup>(29)</sup>

生殖巢組織學之研究，在二枚貝學術領域中仍舊無一體系，其中以牡蠣，貽貝及黑蝶貝較為完備，大蛤之性成熟過程屬於二枚貝中之卵生型之典型，但其各期之生殖細胞均偏大，如成熟卵卵徑為 95 ~ 110  $\mu\text{m}$ ，而 *C. virginica* 為 55 - 75  $\mu\text{m}$ ，<sup>(29)</sup> *T. varigata* 為 50 - 60  $\mu\text{m}$ ，<sup>(3)</sup> 生殖巢的發育與生殖行為屬部份排放及非一致性 (Asynchronous)，高溫水域之貝類都有這種情況，而且春季較秋季為明顯。<sup>(36)</sup>

對於二枚貝生殖腺之源起，目前還未能確定，一般認為是位於圍心腔之神經性部或者是間質結締組織。與魚類相似，其只具有相當於高等脊椎動物生殖腺之皮層的原生部 (Primordium)，此期之生殖原始細胞尚未分化無法辨別性別，分化後之細胞與支持細胞共同構成生殖上皮 (germinal epithelium)，在雄性生殖單位為細精管含精原細胞，雌性為濾胞含卵原細胞，這些原細胞經過多次自我複製後停止，相當於濾胞期，如 *Ostrea lurida* ) 約複製 6 - 9 次<sup>(29)</sup>，此後開始一連串的生長活動，所需之營養直接自組織中吸收，而魚類則需靠微血管供給，二枚貝之卵黃蓄積過程，亦較魚類簡單。<sup>(30 33)</sup> 這種組織生理上之差異，顯示二枚貝之生殖生理受環境直接影響之關係更密切。此次調查發現許多個體在生殖季節生殖巢有過熱之現象，這也是造成死亡率較高原因之一。<sup>(34 35)</sup> 排放後之大蛤，在池中蓄養多數之個體在下一個生殖季節生殖腺不發達，僅約 7.5 % 可達再熟，此應與池水交換率及養殖密度餌料有關，其生態條件應繼續加以研究。

終年之生殖行為頗浪費貝類能量並造成高死亡率，澎湖牡蠣無法大型化的原因，推測為此因素及冬季環境惡劣等所造成，養殖大蛤等二枚貝時如何以遺傳或內分泌之技術及環境控制的方法來抑制其

生殖以增進生長，尤其是澎湖產珠之黑蝶貝其珍珠品質之確保，值得學者深入研究。本研究主要是奠定大蛤生殖生物學基礎，並寄望種苗生產及養殖能有進一步的成果。

### 謝 辭

本調查蒙顏枝麟、林金榮、徐嘉猷、周森林、劉富光等先生及分所同仁之協助及提供意見，謹此由衷感謝。

### REFERENCE

1. 賴景陽 ( 1979 ). 澎湖大倉島之貝類，省立博物館科學年刊 22，157-166.
2. WU W. L. ( 1980 ). The important edible bivalves in Taiwan. Bull. Malacol. R.O.C., 7, 101-114.
3. 周森林 ( 1981 ). 澎湖海瓜子 *Tapes varigata* SOWERBY 生殖期及其棲所之研究，碩士論文，臺灣大學動物研究所
4. 陳紫 ( 1978 ). 綠貽貝 *Mytilus smaragdinus* 的生物學研究，碩士論文，臺灣大學海洋研究所
5. 桃山和夫、岩本哲二 ( 1979 ). 山口大海灣におけるアサリの産卵期について 山口縣内海水産試験場報告。7，19-34.
6. Wilson B.R. and E.P. Hodgkin ( 1967 ). A comparative account of reproductive cycles of five species of marine mussels ( Bivalvia : *Mytilidae* ) in the vicinity of Fremantle, Western Australia. Aust. J. Mar. Freshwat. Res., 18, 175 - 203.
7. Ko Yoshio ( 1957 ). Some histological notes on the gonads of *Tapes Japonica* DESHAYES. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 23, ( 7, 8 ) 394-399.
8. Ko Yoshio ( 1959 ). Gonads development of *Tapes japonica* in sea. Bull. Fac. Fish. Nagasaki Uni., 8, 23-30.
9. Shinkichi Tateishi and Ichiro Adachi ( 1957 ). Histological observation of gonad of the Pearl-oyster *Pinctada martensii* DUKER. Bull. Fac. Fish. Nagasaki Uni., 5, 75-79.
10. Mori K. and K. Osanai ( 1977 ). Seasonal gonad changes in scallops under culture in Toni Bay, Iwate Prefecture. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 43 ( 1 ), 1 - 8.
11. Coe, W.R. ( 1932 ). Development of gonads and the sequence of sexual phases in California oyster *Ostrea lurida*. Bull. Scripps Inst. Oceanogr. Tech. Ser. 3, 119-441.
12. Loosanoff, V.L. and H.C. Davis ( 1952 ). Temperature requirements for maturation of northern oysters. Bio. Bull. 103 ( 1 ), 80-96.
13. Hayashi, I. ( 1980 ). The reproductive biology of the oyster, *Haliotis tuberculata*. J. Mar. Bio. Ass. U.K. 60 : 415-430.
14. Noshio, T. Y. and K.K. Chew ( 1972 ). The setting and growth of the manila clam *Venerupis japonica* DESHAYES in Hood canal, Washington. Proc. Nat. Shellfish Ass. 62, 50-58.
15. Galtsoff, P. S. ( 1961 ). Physiology of reproduction in molluscs. American Zoologist 1 ( 2 ), 273-289.
16. Coe, W.R. ( 1936 ). Environment and sex in the oviparous oyster *Ostrea virginica*.



- Bio. Bull.* 71 ( 2 ), 353-359.
17. Mori, K., T. Muramatsu and Y. Nakamura ( 1969 ). Effect of steroid on oyster - II Sex reversal from male to female in *Crassostrea gigas* by estradiol-17  $\beta$ . *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 35 ( 11 ), 1072-1076.
  18. Katsuyoshi Mori ( 1968 ). Effect of steroid in oyster-I. Activation of respiration in gonad by estradiol -17  $\beta$ . *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 34 ( 10 ), 915-919
  19. Rubet, Pierre ( 1957 ). Cycle sexuel de *Mytilus edulis* L. et de *Mytilus galloprovi- aljs* LMK. dans le bassin d'Arcachon ( Gironde ). *Ann. Bio.* 33 ( 3 ), 19-29. ( Cited from V. Fertter, et al. 1964 )
  20. 菅野博記, 赤星静雄, 佐佐木鐵郎, 中尾繁, 田村正 ( 1965 ). あかがいの増殖に関する研究 青森縣陸奥灣水産増殖研究所業務報告書。10, 75-148.
  21. Yap W.G., A.F. Lavina, C.E. Orano, M.Y. Tabbu, C.D. Reyes, H. Pelaez, A. Locsin, and T.D. Castro. ( 1977 ). Population biology of the Japanese little-net clam *Tapes philippinarum* in Kaneohe Bay, Oahu, Hawaiian Islands. *Pacific Sci.* 31 ( 3 ), 223 - 244.
  22. HU S.H. and Sheu H.H. ( 1982 ). Studied on increasing population of cultured oyster *Crassostrea gigas* in Penghu-I growth of oyster in Long-line culture. *Ann. Col. Rep. Penghu Fish. Lab. Taiwan Fish. Res. Ins.* 2, 17 - 26.
  23. 蒼茂英次郎、松本文夫 ( 1957 ), アサリの生態研究 特に環境要素について 水産學集成 (東京大學出版會) 241-312.
  24. Kooringa P. ( 1952 ). Recent advance in oyster biology. *Qua. Rec. Bio.* 27, 266-308 ; 339-365.
  25. Shiue Y.E., Tasi W.S. and HU S.H. ( 1981 ). Chemical nutrients and water properties in coastal water of Penghu. *Bull. Taiwan Fish. Res. Ins.* 33 : 305 - 316.
  26. Fretter V. and A. Graham ( 1964 ) Reproduction. In "physiology of mollusca " academic press, New York. 1 127-164.
  27. Hiroshi yoshida ( 1964 ). " Seeding of shell-fish. " 9-32 ; 157-163.
  28. Giese A.C. ( 1959 ). Comparative physiology. Annual reproductive cycles of marine invertebrates. *Ann. Rev. Physiol.* 21, 547 - 576.
  29. Galtsoff P.S. ( 1964 ). The American oyster *Crassostrea virginica*. *Fish. Bull.* 64, 297 - 354.
  30. Hoffmann R. and P. Wondrak ( 1980 ). Seasonal anatomical variations in the testes of European pike *Esox lucius* L. *J. Fish. Biol.* 16, 475-482.
  31. Yamamoto K., Masaaki Omori and Kohei Yamauchi ( 1974 ) Oogenesis of the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 40 ( 1 ), 9-15
  32. Yoshikawa Hiromasa, and Mikio Oguri ( 1979 ). Gonadal sex differentiation in the medaka, *Oryzias latipes*, with special regard to the gradient on the differentiation of testes. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 45 ( 9 ), 1115-1121.
  33. Mikio Oguri ( 1975 ). On the testicular structures found in the ovaries of the " cobalt " rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 41 ( 9 ), 915-921.
  34. 森勝義、玉手英夫、今井丈夫、市川收 ( 1965 ). 松島灣におけるカキの大量斃死に関する研究 V

- 性成熟及び産卵に伴うカキの脂質及び糖代謝の變化、東北水研研究報告。25, 65-88.
35. Mori Katsuyoshi and K. Osanai ( 1977 ). Abnormal gonad development observed in one-year-old scallops cultivated in Yamada Bay. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 43( 1 ), 9 - 17.
36. Shafee M. S. ( 1980 ). Quantitative studied on the reproduction of black scallop, *Chlamys varia* ( L. ) from Lanveoc area. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 42 , 171-186.
37. 植木東彦 ( 1958 ). アコヤガイ *Pinctada martensii* DUNKER - I 周年變化及び卵抜き作業中の變化についての組織學的觀察。國立珍珠研究所 4 , 287-306.
38. Fujioka Shiro and Shinkichi Tateishi ( 1960 ). Histological observation on pearl-sac formation of the pearl-oyster, *Pinctada martensii* DUNKER - I specially, on the relation between gonad maturity and pearl-sad formation. *Bull. Fao. Fish. Nagasaki Uni.* 9 , 87-100.