HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | ヤツメ卵子の衝撃に対する抵抗性及びその機構 |
| Author(s) | 岡田, 雋 |
| Citation | 北海道大學農學部邦文紀要, 2(3), 112-117 |
| Issue Date | 1955-10-31 |
| Doc URL | http://hdl.handle.net/2115/11600 |
| Type | bulletin (article) |
| File Information | 2(3)_p112-117.pdf |

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

# ヤツメ卵子の衝撃に対する抵抗性及びその機構

岡　田　　雋*

# The resistance of the developing eggs to the shock and its interpretation in the river-lamprey, *Lampetra japonica japonica* (MARTENS)

By

Shun S. OKADA

(Institute of Zoology, Faculty of Agriculture, Hokkaido University)

## I. 緒　　言

魚卵就中鮭鱒類卵子の発生過程に於ける機械的刺戟に対する抵抗性については，この問題が人工孵化事業上重要な意義を有するため，古くから研究されて発眼期に著しく抵抗性が増大するという点でほぼ一致した結論に達している。然しその機構については言及したものが少なく，ROLLEFSEN (1932) が鱈卵で胚盤 (Blastoderm) の卵黄被覆に重要な意義を認めたのが最初であるが，著者は昨年鮭卵で実験観察の結果確かに胚孔 (Blastapore) の閉鎖と共に第一次の抵抗性増大が現われることを認めこれを報告した(1954)。

鱈及び鮭の卵子は何れも端黄卵(Telolecithal egg)で盤割 (Discoidal cleavage) をするが，ヤツメの卵子は端黄卵ではあるけれども全割 (Total cleavage) を行う種類で，斯る卵子に於て如何なる時期に衝撃に対する抵抗性が現われるか，鱈や鮭の場合と比較対照することは抵抗性増大の機構を探る一助として興味ある問題と考え本実験を行つた。

本文に先だち，北大農学部犬飼哲夫教授，同低温科学研究所青木廉教授の御指導に対し，又実験材料の入手に多大の便宜を与えられた千歳町北海道鮭鱒孵化場千歳支場付属採卵場広重兼太郎，江別市札幌郡漁業協同組合佐々木正雄の両氏に対し深謝の意を表する。

## II. 実　験　材　料

実験に用いた卵子はカハヤツメ *Lampetra japonica japonica* (MARTENS) の受精卵で，受精用親魚は千歳川及び石狩川で捕獲したものである。前者は1954年5月 12, 17 日及び6月7日，北海道鮭鱒孵化場千歳支場西越採卵場付近の千歳川で鈎で引掛けて捕獲，これ等は何れも二次性徴が顕著に発現しており容易に放精放卵するものであつた。後者は6月5日江別市付近の石狩川で業者がヤツメ筌で捕獲したものの中から入手，同地では漁期間中二次性徴の発現したものは殆ど捕獲されず従つて生殖巣は未熟であつた。

両地産共活魚として実験室に持ち帰り，千歳川産は直ちに乾導法により人工受精を行い実験に供したが，石狩川産は野外の流水中で飼育中次第に二次性徴発現し7月初旬人工受精に供することが出来た。

卵子の大さは直径1mm 弱，卵膜は透明であるが，内部の卵体は不透明で淡灰色乃至淡緑色を呈する。沈性卵で始め弱い粘着力を示すが 1, 2 日で殆ど粘着性を喪失する。

## III. 実　験　方　法

受精卵は水道水を満した底面 20×25 cm 深さ 4 cm の琺瑯引 Vat の底面に一重の程度に収容し，毎日一回水を換えて孵化時まで飼育する。この Stock の中から逐次図版 I, Fig. 1～10 に示す 10 種の発生段階のものを採つて実験に供した。

実験方法はゴム帽付ピペットに供試卵を吸揚げ，30 cm の高さから径 12 cm のシャーレの底面数カ所に自重で落下する如く静かに滴下し，落下衝撃を与えた。1滴中の卵数は 50 粒内外である。滴下完了後水を加えてシャーレを満し遮光して静置，毎日1回換水し孵化まで飼育した。なお落下距離 0 cm でその他は全く同様の操作を経た Control を用意した。

* 北海道大学農学部動物学教室

飼育期間中，随時発生死卵を記録して除去し，孵化終了と共に孵出数と合計して供試卵数を求め，死卵率を算出した。死卵は褐色を呈するので肉眼で容易に判別出来る。

又供試卵と同じ発生段階の卵子を BOUIN 液で固定し，10 μ の切片を作成し，Borax-carmine で染色して組織構造の観察に供した。

## IV. 実 験 結 果

実験結果は第1表及び第1図に示す通りである。第1実験は千歳川産受精卵で，6月7日実験開始，孵化日数9～12日（水温 17±2°C），第2実験は石狩川産受精卵で，7月5日実験開始，孵化日数 8～11 日（水温 19±1°C）であつた。

第 1 表 (Table 1.)

〔第1実験〕 (Experiment 1.)

| ①発生段階 | | St. 1. | St. 2. | St. 3. | St. 4. | St. 5. | St. 6. | St. 7. | St. 8. | St. 9. | St. 10. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ②発生日数 | | 5時間 | 12時間 | 20時間 | 1日 7時間 | 2日 20時間 | 3日 18時間 | 4日 18時間 | 5日 20時間 | 6日 20時間 | 7日 18時間 |
| ③実験区 | ⑤卵 数 | 348 | 298 | 286 | 336 | 287 | 287 | 278 | 262 | 255 | 274 |
| | ⑥死卵数 | 205 | 250 | 266 | 295 | 226 | 54 | 46 | 39 | 22 | 30 |
| | ⑦死卵率 | 59.0% | 84.0 | 93.0 | 87.8 | 79.0 | 18.8 | 16.5 | 14.8 | 8.6 | 11.0 |
| ④対照区 | ⑤卵 数 | 350 | 302 | 321 | 267 | 204 | 246 | 223 | 208 | 168 | 183 |
| | ⑥死卵数 | 14 | 67 | 123 | 23 | 4 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 |
| | ⑦死卵率 | 4.0% | 22.2 | 38.3 | 8.6 | 1.0 | 0.4 | 0.4 | 0.5 | 1.8 | 1.6 |

〔第2実験〕 (Experiment 2.)

| ①発生段階 | | St. 1. | St. 2. | St. 3. | St. 4. | St. 5. | St. 6. | St. 7. | St. 8. | St. 9. | St. 10. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ②発生日数 | | 3時間 | 11時間 | 22時間 | 1日 5時間 | 2日 14時間 | 3日 3時間 | 3日 22時間 | 5日 4時間 | 6日 0時間 | 7日 22時間 |
| ③実験区 | ⑤卵 数 | 859 | 783 | 667 | 594 | 650 | 547 | 597 | 638 | 624 | 575 |
| | ⑥死卵数 | 277 | 718 | 581 | 452 | 455 | 174 | 107 | 187 | 128 | 68 |
| | ⑦死卵率 | 32.2% | 91.7 | 87.1 | 76.1 | 70.0 | 31.8 | 17.9 | 29.3 | 20.5 | 11.8 |
| ④対照区 | ⑤卵 数 | 882 | 839 | 711 | 609 | 654 | 645 | 598 | 690 | 634 | 622 |
| | ⑥死卵数 | 26 | 77 | 35 | 17 | 14 | 7 | 11 | 20 | 13 | 30 |
| | ⑦死卵率 | 2.9% | 9.2 | 4.9 | 2.8 | 2.1 | 1.1 | 1.8 | 2.9 | 2.0 | 4.8 |

① Embryonal stages employed for the experiment. ② Days after fertilization. ③ Experimental. ④ Control. ⑤ Number of eggs employed for the experiment. ⑥ Number of dead eggs. ⑦ Percentage of dead eggs.

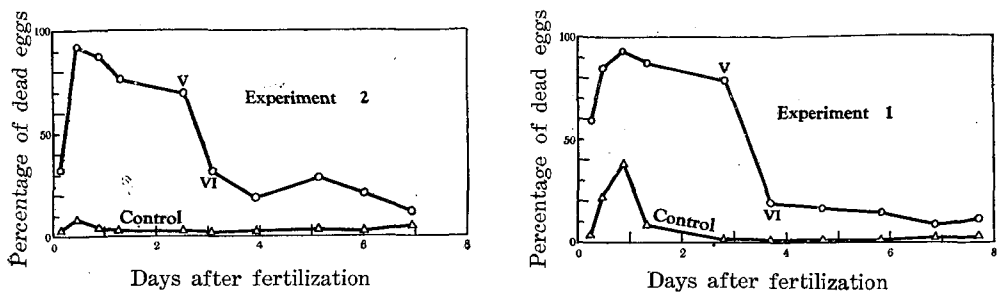



**Fig. 1.** The results of experiments.

Experiment 1. Eggs were reared in water of temperature 17±2°C and hatched out between 9 and 12 days after fertilization. Experiment 2. The temperature of water being 19±1°C, eggs hatched out between 8 and 11 days after fertilization. ○ Experimental, △ Control.

第一実験に用いた卵子の発生段階は図版 I. Fig. 1～10 に示す 10 種で

Stage 1. 受精後5時間経過。未分割卵

Stage 2. 受精後 12 時間経過。8細胞卵（8細胞卵は受精後 10 時間頃より現われる）

Stage 3. 受精後 20 時間経過。桑実期 (Morula stage) 卵

Stage 4. 受精後1日7時間経過。胞胚期 (Blastula stage) 卵（植物極の一部を除いて割球の存在が殆ど識別出来ない。胞胚期は24時間以上続く）

Stage 5. 受精後2日20時間経過。原腸胚期 (Gastrula stage) の初期卵（動物極が半透明となり植物極に陥入が見られる。55 時間頃より現われる）

Stage 6. 受精後3日 18 時間経過。原腸胚期卵。（陥入の程度著しく明瞭な原腸胚）

Stage 7. 受精後4日18時間経過。神経胚期 (Neurula stage) 卵（神経板明瞭に認められる）

Stage 8. 受精後5日 20 時間経過。同上卵（神経管形成され頭部明瞭となる）

Stage 9. 受精後6日 20 時間経過。同上卵（頭部が卵嚢から遊離，この後間もなく時々頭部を運動させる）

Stage 10. 受精後7日18時間経過。同上卵（孵化約1日前）

なお孵化直前には卵黄嚢は可成り縮少し，体は細長くなつて卵膜内で一巻半ばかり屈曲している。孵化は頭部から脱出し暫らく尾端を卵膜内に止めている。孵化時の大さ 4 mm 内外。

第2実験では水温がやや高かつたため発生速度も速いが，外観上前実験とほぼ同一発生段階にあるものを実験に供した。

実験の結果に依れば，第1図に見る如く Stage 2, 3, 4, 5 に於て，30cm 落下衝撃によつて斃死するものが非常に多い。Stage 1. はこれ等に比べ却つて死卵発生が少く衝撃に対する抵抗性がやや強いことを示している。次に Stage 6. に至つて顕著な死卵発生の低下が現われこの時期に抵抗性の増大が現われることを示し，Stage 10. まで殆どこの状態で経過する。Stage 5. は原腸胚初期で原腸の陥入が僅かに始つた段階であつて，Stage 6. はこれが著しく進行して完全な原腸胚を示す時期である。

各発生段階の切片観察によると，Stage 4. (胞胚期) に至るまでは細胞に組織的分化が全然認められない。Stage 5. (原腸陥入初期) に於ては (図版 I. Fig. 11 a) 胞胚腔 (Blastocoel) を覆う動物極の細胞に或る程度組織的分化が見られる (同 Fig. 11 b) が，植物極では未だ殆ど組織化が起つていない (同 Fig. 11 c)。

然るに Stage 6. (原腸胚期) になると (同Fig 12 a) 原腸は深く陥入，原外胚葉は卵の全表面を被覆し，原内胚葉も相当に発達しており，特に原外胚葉は動物極に於ては完全に組織化し (同 Fig. 12 b)，植物極に於ても或る程度組織化している (同 Fig. 12 c)。その後の Stage に於ては卵表面は更に高度に組織化した外胚葉で完全に被覆されることはいうまでもない。

以上述べた如く，Stage 5. から Stage 6. にかけて衝撃に対する顕著な抵抗性が出現するが，これは組織化した外胚葉が卵黄細胞を完全に被覆する時期に相当し，ROLLEFSEN の鱈，著者の鮭に於ける観察と一致する。然し Embryonal stage から見れば鱈，鮭に比し極めて早い時期で，原外胚葉と原内胚葉とが漸く分化したばかりの時期であることは，Stage 6. の縦断切片 (同 Fig. 12 a) 及び横断切片 (同 Fig. 12 d) で明かである。然し鮭では既に胚体が明瞭に形成され神経管，脊索，中胚葉等が顕著に発達している時期で，鱈の場合も ROLLEFSEN の図より見て鮭とほぼ同様であることは間違いない。

これによつて衝撃に対する抵抗性の増大は胚そのものの発生段階に関連するよりも，Embryonal tissue が卵黄を被覆することに関係する方が大であると考えられるのであつて，この実験結果は ROLLEFSEN の説に有利な根拠を提供するものといえる。

## V. 細胞表層の破裂と卵子の斃死

以上の推論の根底となる，卵黄を被覆する表層細胞質 (Cortical cytoplasm) 或は卵黄膜 (Vitelline membrane) の損傷が衝撃によつて事実起るものであるか又それは観察し得るものであるかについては ROLLEFSEN も深く言及していない。

卵子に落下衝撃を与えた後，解剖顕微鏡で観察すると，卵膜 (Chorion) には異常を認めないが卵体の表面が種々の程度（点々状，斑状，塊状）に破裂して，卵黄の喰み出しているものが多数認められる。この卵体表面の破裂が衝撃によることは明かであるが，これが斃死の原因であるかどうかを確めるため次の実験を行つた。

即ち 30 cm 落下衝撃を与えた後，解剖顕微鏡下で卵体表面に全く異常の認められない「完全卵」と，少しでも破裂の認められる「破裂卵」とを選別し，これ

等を孵化時まで分別飼育した。若し完全卵の中に斃死卵が生じなければ衝撃による斃死は卵黄膜の破裂に原因があると考えられるし，又完全卵中に多数の斃死卵が現れる場合は斃死の原因はその他（例えば胚そのものの斃死）にも存在すると考えられる。この実験は第1実験実施の際に同時に行つた。

第 2 表 (Table 2.)

| ①発生段階 | | St. 1. | St. 2. | St. 3. | St. 4. | St. 5. | St. 6. | St. 7. | St. 8. | St. 9. | St. 10. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ②完全卵 | ④卵数 | 113 | 69 | 0 | 0 | 0 | 73 | 29 | 57 | 85 | 188 |
| | ⑤死卵数 | 9 | 29 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| | ⑥死卵率 | % 8.0 | 42.0 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 2.1 |
| ③破裂卵 | ④卵数 | 235 | 229 | 286 | 336 | 287 | 214 | 249 | 205 | 170 | 86 |
| | ⑤死卵数 | 196 | 221 | 266 | 295 | 226 | 54 | 46 | 39 | 22 | 26 |
| | ⑥死卵率 | % 83.4 | 96.5 | 93.0 | 87.8 | 79.0 | 25.5 | 18.5 | 19.0 | 13.0 | 30.2 |

① Embryonal stages employed for the experiment.
② Eggs which were not ruptured at all in the falling experiment.
③ Eggs which were ruptured more or less in the falling experiment.
④ Total number of eggs. ⑤ Number of dead eggs. ⑥ Percentage of dead eggs.

実験結果は第2表の通りである。Stage 2, 3, 4, 5 に於ては，落下衝撃を与えた後破裂卵の発生が極めて多く，特に小破裂卵と完全卵とを誤りなく鑑別することは実際上非常に困難で，破裂卵を完全卵と誤認する危険が少くない。故に Stage 3, 4, 5 では少しでも疑いのあるものは凡て破裂卵に入れたので完全卵は皆無であつた。Stage 6～10. では両者の鑑別は比較的容易で，破裂卵を完全卵中に混入せしめる危険は殆どなかつた。従つて Stage 5. 以前についてはなお研究の余地が残されているが，Stage 6. 以後に於ては Stage 10. の2％の斃死を除き死卵発生は皆無であつて，少くとも Stage 6. 以後衝撃によつて斃死した卵子は細胞表層の破裂に原因するということが出来る。

実験に供するため普通に飼育中の Stock 卵に於ても，Stage 2, 3, 4, 5 の時期には破裂卵が極めて多く現われ，実験のため正常卵を選び出すに困難を感ずる程で，又この時期に夥しく死卵が発生する。実験に際してはこの Stock 中から極力異常のない正常卵を選び出して使用したのであるが，実験1の Control にもこの傾向が現われた。依つて実験2では供試卵の選択を厳重にし実験時の取扱いに特に注意を払つた結果，この時期の死卵発生を或る程度抑制することが出来た。この時期に於ける細胞表層の原形質膜は機械的刺戟に対して極めて抵抗性が小さいが，組織化した外胚葉が卵子を被覆する Stage 6. 以後になると破裂卵の現われることは非常に少い。

然し破裂の程度が軽微であると異常なく孵化するもので，喰み出した卵黄を囲卵腔に放棄したまま発生の進行してゆくのが見られる。又破裂の程度がやや大きなものでは発生が進行して孵化に至るものがあるけれども，斯るものでは胚体の歪小畸型が多く孵化期日が可成り遅延する。現在斃死を来す破裂程度の限界については明言出来ないが，斃死するものでは先ず囲卵腔液が溷濁して来て，漸て卵体が崩壊或はほぼ原形を保つたまま褐色に変つて死卵となる。

次に衝撃に依つてどの部分が最も破裂するか，即ちどの部分が衝撃に対して最も弱いかについては，衝撃が過大であれば比較的強い部分も破裂すると考えられるので現在明確にいうことは出来ないが，Stage 5. 以前に於ては特定の場所に限定されず至る所に破裂が認められ，Stage 6. 以後に於ては原口付近の腹面即ち外胚葉の組織的分化が最も遅れる部分に多く認められた。

## VI. 結論及び摘要

カハヤツメ *Lampetra japonica japonica* (MARTENS) 卵の発生過程に於ける衝撃に対する抵抗性を実験し次の結果を得た。

(1) 原腸胚初期に至るまでは衝撃に対して抵抗性極めて小でこれに依る死卵の発生が多い。但し未分割卵は却つてやや抵抗性の大なる傾向がある。

(2) 原腸胚期になると著しく抵抗性が増大し爾後引続きほぼこの状態を持続し孵化期に至る。

(3) 原腸胚初期には，胞胚腔 (Blastocoel) の上面

を覆う外胚葉に若干組織的分化が認められるだけであるが，原腸胚になると卵体の表面は組織的分化をした外胚葉で完全に被覆される。

(4) ROLLEFSEN (1932) は鱈卵の衝撃に対する抵抗性の研究に於て，原口 (Blastopore) の閉鎖する時期に著しく抵抗性の増大することを発見し，これは卵黄を包む薄い原形質層即ち卵黄膜 (Vitelline membrane) が胚盤の皮膜によつて被覆されるためであると推論した。著者は鮭卵に於ても確かに同時期に第1次の抵抗性の増大が現われることを認め，次で血管域 (Vascular area) 皮膜が更に卵黄を被覆する（宛も発眼期に当る）時期に第2次の著しい抵抗性増大が現われることを報告した。

(5) ヤツメの場合も組織的分化をした外胚葉が卵黄細胞を完全に内部に包み込んだ時期に抵抗性の増大が現われることは既述の通りで，この点に於ては鱈，鮭の場合とよく一致している。然し胚の発育段階から見ると，ヤツメの場合は極めて早い時期であつて原外胚葉と原内胚葉とが漸く分化したばかりの時期であるが，鱈，鮭の場合は遙かに後期に当り，胚体は明瞭に形成され神経管，脊索，中胚葉等が頗著に発達している。

(6) 衝撃に対する抵抗性が胚の発育段階に関係することも勿論全然否定は出来ないが，上述の事実から胚盤の組織が卵黄を被覆することの方に大きな意味があると考えられる。

(7) 落下衝撃を与えたヤツメ卵子を観察すると，卵膜 (Chorion) には異常は認められないが卵体の表面が種々の程度に破裂して卵黄が喰み出しているもの多数を認める。今斯様な「破裂卵」と卵体に全然異常の認められない「完全卵」とを分別飼育して見ると，破裂卵には死卵が多数現われるが，完全卵には殆ど現われない。若し衝撃が胚そのものを直接斃死せしめるのであれば，完全卵中にも死卵の発生があつて然るべきである。この事実も抵抗性の増大が胚盤組織の卵黄被覆に関係することの方が大きいことを証明するものと考えられる。

(8) 但し分割開始以後原腸胚初期に至る間の卵子は衝撃に極めて弱く，普通に飼育中の卵子にも破裂卵が多数現れ且この時期に最も多く死卵が発生する。落下衝撃を与えたものでは殆んど凡てが破裂卵となり完全卵が得られなかつたためなお若干研究の余地が残されている。

(9) 破裂卵はその程度が軽微であれば喰み出した卵黄を囲卵腔に放棄したまま普通に発生して孵化する。破裂の程度がやや大きなものでは，孵化はしても歪小畸型なものが多く孵化日数が可成り遅延する。斃死を来す破裂程度の限界は明言出来ないが，先ず囲卵腔液が溷濁して来て，漸て卵体が崩壊或はほぼ原形のまま褐色に変つて死卵となる。

## 参考文献


1) 江口 弘: 八ツ目鰻と人工孵化，魚と卵，昭和25年5月号，北海道水産孵化場発行 (1950).

5) 犬飼哲夫: 動物発生学(脊椎動物) 7版，岩波書店発行 (1949).

3) 岡田 雋: 鮭卵の落下衝撃に対する抵抗性及びその機構(第1報)，北大・農・邦紀，Vol. 2, No. 2, (1954).

4) ———: 同上(第2報)，北大・農・邦紀，Vol. 3, No. 1, (1955).

5) ROLLEFSEN, G.: The susceptibility of cod eggs to external influences. Jour. Conseil intern. p. l'éxplor. mer. Vol. 7, No. 3, (1932).

6) 佐藤信一: 北海道に於けるヤツメに関する考察，北大・水・研彙，Vol. 1, No. 2, (1951).

7) 山本時男: 魚類の発生々理，養賢堂発行 (1943).



### Résumé

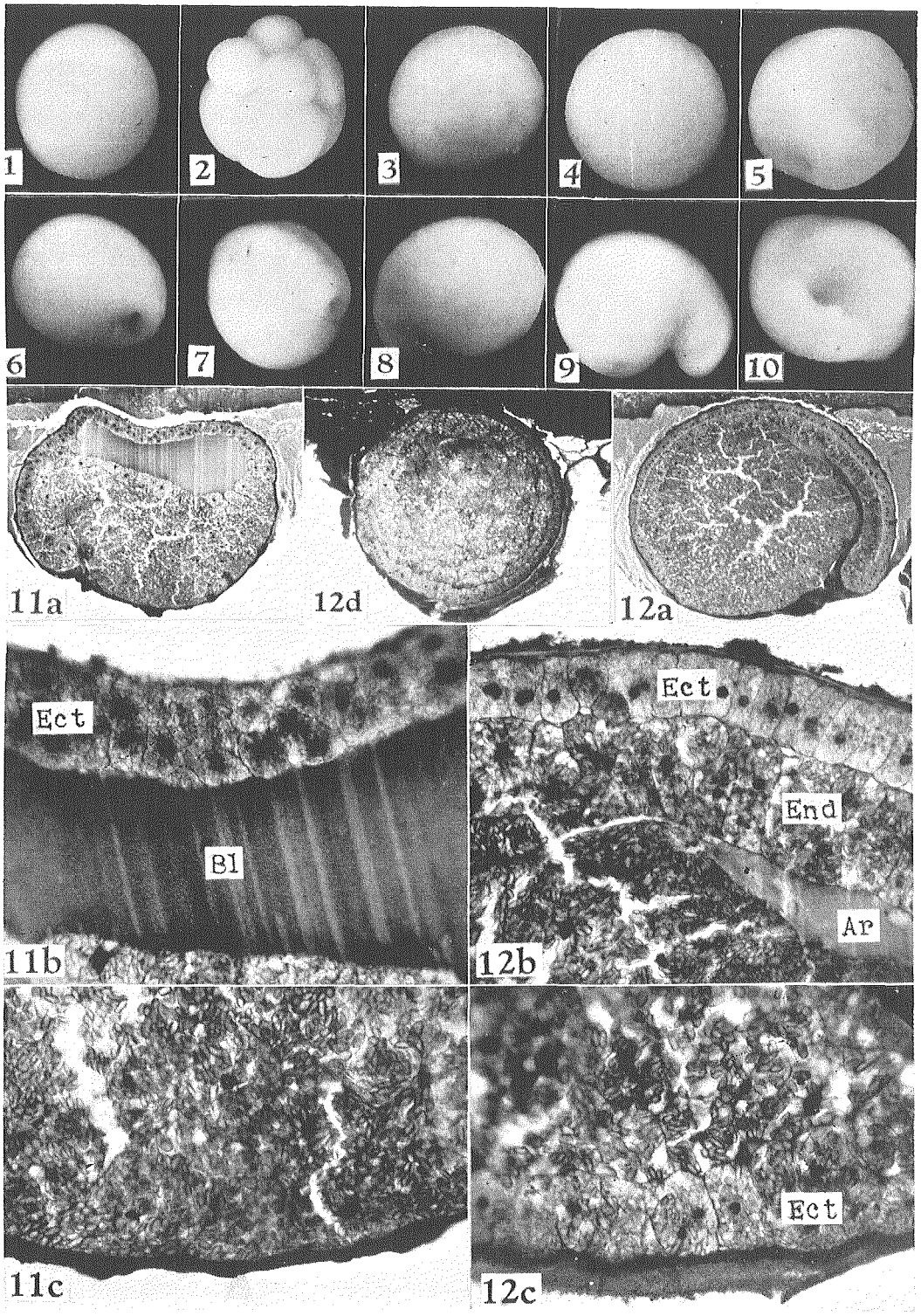
ROLLEFSEN (1932) has mentioned in the study on the resistance of developing cod eggs to the shock that the remarkable increase of resistance appears at the time in which the blastopore is closed up and the yolk of eggs is covered entirely by an ectodermal tissue. The writer (1954) also recognized in eggs of dog-salmon the appearance of the resistance at the same stage.

Though the egg of lampreys belongs to telolecithal pattern, it performs total cleavage. The present experiment was done to know in which stage of development the resistance appears in such eggs.

The stages showed at Pl. I. Fig. 1–10. were employed for the experiment. The eggs of each stage were dropped down on a glass plate from 30 cm height by means of a pipette. They were reared in water to hatch as usual.

As indicated in Table 1. and Fig. 1., the remarkable resistance to the shock appears between Stage 5 (early gastrula) and Stage 6

Plate I. (図 版 I.)



(late gastrula). In the former, the surface of eggs is not yet covered by ectodermal epitherium except slightly differentiated part of animal pole (Pl. 1. Fig. 11a, b, c). But in the latter, all egg surface is perfectly enveloped by highly differentiated epitherium of ectoderm (Pl. 1. Fig. 12a, b, c). Namely the resistance to the shock occurs in accordance with the covering of egg surface by the ectodermal tissue. This fact agrees with the case obseved in cods and salmon.

However the stage of embryonal development is quite different between the both patterns. In lampreys the stage is rather early and at this time there are only differentiated two germ layers (ectoderm and endoderm), while in cods and salmon there is an embryo furnished with a neural canal, notochord and mesodermal somites etc.

Therefore, it seems certain that the resistance concerns essentially to the covering of the ectodermal tissue on the egg surface rather than embryonal stage.

Naturally, just after the falling, there appear many eggs which are ruptured at surface in various grade among normal eggs. Most of the ruptured eggs turn to dead before long. The eggs which are not ruptured at all by the shock do not die but hatch out as normal (Table 2). This fact suggests that such extent of shock does not directly affect the blastodisc or embryo, but only leads to rupture of the egg surface. The death of the egg may be induced indirectly.

## Explanation of Plate 1.

**Fig. 1–10.** Embryonal stages employed for the experiment;
Stage 1. unsegmented, Stage 2. eight-cells, Stage 3. morula, Stage 4. blastula, Stage 5. early gastrula, Stage 6. gastrula, Stage 7.–9. neurula, Stage 10. one day before hatching.

**Fig. 11 a.** Sagital section of Stage 5.

**Fig. 11 b.** Magnified view of the animal pole in the section.

**Fig. 11 c.** Magnified view of the vegetative pole in the section.

**Fig. 12 a.** Sagital section of Stage 6.

**Fig. 12 b.** Magnified view of the animal pole in the section.

**Fig. 12 c.** Magnified view of the vegetative pole in the section

**Fig. 12 d.** Transverse section of Stage 6.

Ar. Archenteron, Bl. Blastocoel, Ect. Ectoderm, End. Endoderm