



Title	Ueber den japanischen Hering (<i>Clupea pallasii</i> C. et V.) : III. Der Beginn der Entwicklung ohne Zerfallen der Kortikalalveoli) (Mit 3 Textabbildungen)
Author(s)	KANO, Yasuhiko; YANAGIMACHI, Ryuzo
Citation	北海道大學理學部紀要, 12(3), 264-272
Issue Date	1956-03
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/27157
Type	bulletin (article)
File Information	12(3)_P264-272.pdf



[Instructions for use](#)

Ueber den japanischen Hering (*Clupea pallasii* C. et V.)
III. Der Beginn der Entwicklung ohne Zerfallen
der Kortikalalveoli^{1),2)}

Von

Yasuhiko Kano und Ryuzo Yanagimachi

(Zool. Institut, Naturwiss. Fakultät, Hokkaido Univ.)

(Mit 3 Textabbildungen)

I

Bereits ist es eine bekannte Tatsache, dass im allgemeinen bei der Befruchtung eine Veränderung im Eikortex vorkommt. Zum Beispiel, wenn das Seeigeln befruchtet wird, verschwinden vor allem die in der Oberschicht des Eies eingebetteten Granulen, nämlich Kortikalgranulen, dann beginnt die Befruchtungsmembran sich zu erheben. Dies kommt auch bei der künstlichen Ei-Aktivierung vor (Moser '39 a u. b, Motomura '36, '41, Runnström, Monné et Wicklund '44, Runnström et Wicklund '50).

Auf der anderen Seite hat Motomura ('34) bei Eiern von Seeigeln, *Strongylocentrotus nudus*, *Strongylocentrotus pulcherrimus* und *Pseudocentrotus depressus*, beobachtet, dass die Eier, welche vorher mit Buttersäure-Seewasser behandelt worden sind, durch Sperm befruchtet werden können und zwar ohne Entstehung einer Befruchtungsmembran sich furchen. Und nach seiner späteren Untersuchung ist es klar geworden, dass Buttersäure-Seewasser auf Eliminierung der Kortikalgranulen hemmend wirkt, vielmehr die Granulen nach Befruchtung noch im Eikortex bleiben. Daher ist es möglich zu denken, dass Zerfall der Kortikalgranulen, d. h. Eliminierung derselben, eine der Reaktionen bei der normalen Befruchtung, aber nicht notwendig für den Prozess der Befruchtung und der Furchung sei. Mit anderen Worten, ist Zerfall der Kortikalgranulen nicht die nötige erste Stufe zur fernen Entwicklung (Motomura '41).

Was die Fischeier betrifft, so war irgend eine Veränderung im Eikortex bei der Befruchtung beobachtet worden, und in den letzten Jahren hat Yamamoto ('44-'54) am Ei eines japanischen Knochenfisches, Medaka (*Oryzias latipes*), mit Verwendung der von ihm entdeckten isotonischen Methode dies eingehend aufs neue untersucht, wodurch er zum folgenden Schluss gekommen ist: Im Kortex

1) Contribution No. 347 from the Zoological Institute, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

2) Ein Hauptinhalt von dieser Mitteilung wurde berichtet in der XXIII. jährlichen Versammlung der Zoologischen Gesellschaft von Japan, in Sendai, am 4. Oktober 1952.
Jour. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI, Zool. 12, 1956.

des intakten, bzw. unbefruchteten *Oryzias*-Eies sind viele Alveoli eingebettet (Kortikalalveoli), welche jedoch bei der Befruchtung immer wellenweise, am animalen Pol beginnend, ringsum zerfallen. Erst nach Zerfall der Alveoli tritt ein Perivitellinraum in die Erscheinung, dann findet bipolare Differenzierung statt, infolgederen die Keimscheibe sich hochwölbt. Dies geschieht auch bei der künstlichen parthenogenetischen Ei-Aktivierung.

Ferner, wie schon berichtet, ergibt sich, dass am Ei von Hering (*Clupea pallasii*), von Lachs (*Oncorhynchus keta*), von Aland (*Tribolodon hakuensis*) u. s. w. auch Kortikalalveoli sich erkennen lassen (Abb. I) und dasselbe Phaenomenon, wie das am *Oryzias*-Ei, bei der Befruchtung oder künstlichen Aktivierung auftritt (Kanoh '50, '52, '53, Kanoh et Ito '53, Yamamoto, K. '51). Daher mag dieses Phaenomenon bei der Befruchtung oder Ei-Aktivierung ein allgemeingültiges für Fischeier sein.

Nun liegt die Gedanke nahe, dass die bei der Befruchtung oder Aktivierung vorkommende Veränderung im Kortex der Fischeier dieselbe Bedeutung wie diejenige der Seeigeleier habe. Und wenn das der Fall ist, dann muss es möglich sein, dass Fischeier ohne Zerfall der Kortikalalveoli sich zu entwickeln beginnen, denn Seeigeleier können, wie oben erwähnt, ohne Zerfall der Kortikalgranulen sich furchen.

Diese Möglichkeit ist am Ei von Hering, von Lachs und von Aland, wenn auch die Behandlungen dafür von einander verschieden sind, für gültig erklärt worden, worüber schon ein kurzer Bericht zusammenfassend erstattet worden ist (Kanoh '52).

Eine bestimmte Art solcher Behandlung stellt die thermale Beeinflussung der Heringseier dar, die in der vorliegenden Mitteilung berichtet wird und worüber einige Diskussionen gegeben werden sollen.

Die Arbeit wurde zum grösseren Teil in der Hokkaido Fischereianstalt zu Yoichi, Hokkaido, ausgeführt, welchem Institut die Verfasser an dieser Stelle ihren besten Dank sagen. Ebenso möchten die Verfasser Herrn T. S. Yamamoto herzlich danken für die wohlwollende Hilfe bei der Ausführung der Arbeit.

Die Arbeit wurde unter finanzieller Unterstützung von dem wissenschaftlichen Fond des Unterrichtsministeriums ausgeführt.

II

Die in dieser Arbeit zur Verfügung stehenden reifen Eier waren solche, die, wie in vorhergehenden Mitteilungen (Kanoh '49, '52), direkt durch Vivisektion vom frischen Fisch, *Clupea pallasii*, gesammelt wurden.

Bei der thermalen Behandlung wurden die Eier nach Ankleben an ein kleines flaches Glasstück in beliebig warmes Seewasser eingetaucht, dann in Seewasser von Zimmertemperatur (9°C) untergebracht und darin besamt.

Zur Schnittpräparierung wurde Gilsonsche Flüssigkeit als Fixierungsmittel benützt und nach der gewöhnlichen Paraffinmethode wurden die so fixierten Objekte 10μ oder 7μ dick zerlegt, dann mit Haematoxylin nach Delafield und mit Eosin gefärbt.

III

Wenn die Behandlungstemperatur niedrig ist, zeigen die Eier keine Veränderung und beginnen mit Besamung sich in normaler Weise zu entwickeln, nämlich hierbei findet Zerfall der Kortikalalveoli statt. Zum Beispiel war das der Fall, wo die Eier in Seewasser von 25°C Temperatur wenn auch 5 Minuten lang eingetaucht, dann in Zimmertemperatur besamt wurden.

Dagegen, wenn die Behandlungstemperatur zu hoch ist, verfallen die Eier in Degeneration. Z. B., selbst wenn die Eier in Seewasser von 45°C Temperatur nur 10 Sekunden lang eingetaucht wurden, verfielen sie bald danach in Degeneration.

Aber wenn die Behandlungstemperatur und Behandlungsdauer Mass hielten, wurden sehr interessante Resultate herbeigeführt, wie Folgendes zeigt.

Wenn die Eier in Seewasser von 30° oder 35°C Temperatur 2 Minuten oder 1 Minute lang eingetaucht, alsdann in Seewasser von Zimmertemperatur (9°C) gebracht wurden, so traten zweierlei Typen von ihnen auf, nämlich der eine (Typus I) waren diejenigen Eier, welche keine Veränderung zeigten, folglich den intakten Eiern äusserlich ganz gleich waren, und der andere (Typus II) waren diejenigen, bei welchen Kortikalalveoli, wie bei intakten Eiern, vorhanden waren, aber die Eimembran von dem Eileib sich abtrennte und dazwischen ein Raum entstand (Abb. 1, 1 u. 2).

Durch Besamung zeigten die Eier von letzterem Typus keine fernere Veränderung³⁾, jedoch die Eier von ersterem Typus begannen nach Besamung

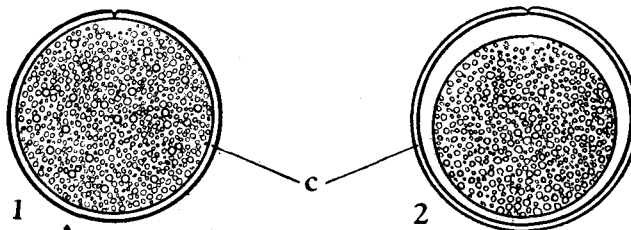


Abb. 1. Schematische Darstellung der zweierlei Typen von Eiern, welche bei der thermalen Behandlung auftreten.
c: Eimembran

1. Typus I, der dem intakten Ei äusserlich ganz gleich ist.
2. Typus II, in dem die Eimembran von dem Eileib sich abgetrennt hat.

3) Streng genommen, gab es unter derartigen Eiern solche, welche dieselbe Reaktion zeigten wie die Eier von Typus I.

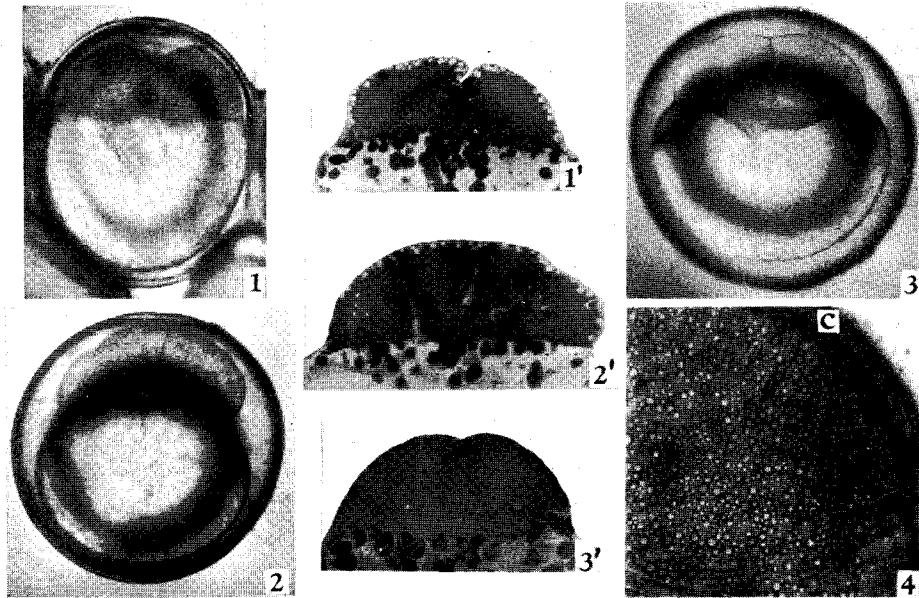


Abb. 2. 1 u. 2. Sich entwickelnde durch wärme behandelte Eier im Vier- und Achtzellenstadium. ca. 35 X. Verbliebene Kortikalalveoli sind sichtbar.
 1' u. 2'. Schnitte durch die Keimscheibe derselben Eier, wie in 1 und 2.
 3. Normales Zweizellenstadium. ca. 35 X. Keine Kortikalalveoli bleiben.
 3'. Schnitt durch die Keimscheibe desselben Eies, wie in 3.
 4. Kortex des intakten Reifeies. ca. 65 X. Es sind viele Kortikalalveoli.

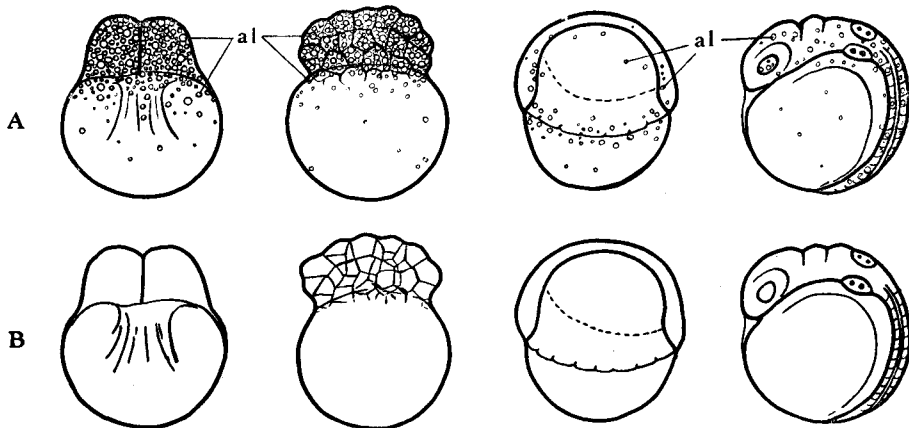


Abb. 3. Schematische Darstellung der Entwicklung von durch Wärme behandeltem Ei (A) und der des normalen Eies (B). al: Kortikalalveoli.

sich zu furchen und schritten in ferneren Lauf der Entwicklung fort, wobei aber bemerkenswert ist, dass der Zerfall der Kortikalalveoli nicht so vollständig war, demgemäss die Eier bei der Weiterentwicklung noch Alveoli besaßen (Abb. 2). Trotzdem die so bleibenden Alveoli im Verlauf der Entwicklung früher oder später allmählich verschwanden oder sich an Zahl verminderten, konnte man dieselben noch auf der Oberfläche des Embryos im Stadium, wo das Herz sich bildet und Körperbewegung beginnt, wahrnehmen, falls viele Alveoli anfangs übriggeblieben waren, wie aus der Abbildung hervorgeht (Abb. 3).⁴⁾

Daraus ist an die Möglichkeit zu denken, dass zwischen dem Zerfall der Kortikalalveoli und dem Beginn der Entwicklung keine direkte Beziehung besteht und auch ohne Zerfall der Kortikalalveoli die Eier sich entwickeln können.

Wie schon gesagt, hat Motomura ('34, '41) bei Seeigeleiern berichtet, dass die Eier ohne Membranabhebung und mit Kortikalgranulen versehen sich furchen können, wenn sie vorher mit Buttersäure-Seewasser behandelt, dann im Seewasser besamt werden. Dabei aber liegen nach ihm die Blastomeren voneinander abgesondert, und ob die Entwicklung weiter fortschreite, ist noch fraglich.

Diesbezüglich stellten die Verfasser daher ein ähnliches Experiment bei Eiern von einem Seeigel, *Strongylocentrotus intermedius*, an und Folgendes wurde dabei klar.

Wenn die Eier von *St. intermedius* 1 Minute lang in Buttersäure-Seewasser (N/10 Buttersäure 6 ml + Seewasser 94 ml) eingetaucht, dann in gewöhnliches Seewasser gebracht wurden, wurden sie parthenogenetisch aktiviert und geschah die Membranabhebung. Aber, wenn die Eier mehr als 2 Minuten lang mit dem Buttersäure-Seewasser behandelt, dann in normales Seewasser gebracht wurden, wurden sie, abweichend von oben, nicht aktiviert, waren jedoch noch befruchtungsfähig, und zwar begannen sie durch Besamung ohne Membranabhebung sich zu furchen, wobei die Kortikalgranulen nicht verschwanden, sondern übrigblieben, ebenso wie Motomura berichtet hat. Die geeignete Behandlungsdauer mit Buttersäure-Seewasser für dieses Ergebnis war 5 Minuten lang. Und nach Beobachtung dieses Falles wurde ermittelt, dass die dadurch kommenden Blastomeren gewöhnlich, auch wie Motomura beobachtet hat, von einander abgesondert lagen; doch wenn die Eier sorgfältig behandelt wurden, dies nicht der Fall war, sondern die Morulae sich wie normale bildeten und wenigstens zu den Gastrulae fortschreiten konnten. Selbst nach Bildung solcher Morulae trennten sich vielmals noch einige Zellgruppen (Gruppen der Blastomeren) von ihnen ab, indem von diesen Zellgruppen kleine Blastulae einzeln gebildet wurden.

Auf jeden Fall waren die so gebildeten Gastrulae sowie kleine Blastulae deshalb mit den normalen äusserlich vergleichbar, jedoch bei jenen liessen sich noch bleibende Kortikalgranulen, wenn auch in geringerer Zahl per Flächeneinheit, erkennen.

4) In demselben Experiment, das im Jahre 1953 noch einmal angestellt wurde, führte die Behandlung von 3 oder 4 Minuten bei 30°C zum besten Ergebnis.

Daher ist auch bei Seeigeleiern an die Möglichkeit zu denken, dass zwischen dem Zerfall der Kortikalgranulen und dem Beginn der Entwicklung keine direkte Beziehung besteht, und ohne Zerfall der Granulen die Eier sich entwickeln können.

Man wird hierauf begreifen können, dass die bei der Befruchtung oder Aktivierung vorkommende Veränderung im Eikortex der Fischeier denselben Sinn wie bei den Seeigeleiern hat.

Bei Seeigeleiern kommt es im allgemeinen vor, dass, wenn die für Ei-Aktivierung erforderliche Erregung zu gross ist, vielmehr eine Hemmungswirkung auf die Membranabhebung entsteht, wie z. B. bei Behandlung mit Buttersäure, Harnstoff u. a.. Und zwischen der Erregung zur Ei-Aktivierung und Hemmungswirkung auf die Membranabhebung scheint irgend eine Beziehung vorhanden zu sein. Dementsprechend müssten auch die Eier des Herings durch thermale Behandlung zur Aktivierung geführt werden können, was aber beim jetzigen Stand unsres Wissens, ungeachtet wiederholter Versuche, noch nicht gelungen ist; und daher muss wenigstens bei Fischeiern dies noch der weiteren Untersuchung überlassen bleiben.⁵⁾

IV

Auf seine Beobachtungen und experimentellen Resultate an *Oryzias*-Eiern gegründet, hat T. Yamamoto ('51, '54) eine Befruchtungswellen-Theorie (fertilization-wave theory), welche auch für Heringseier gelten mag, aufgestellt, nämlich er hat angenommen, dass die Veränderung im Kortex des *Oryzias*-Eies bei der Befruchtung und Aktivierung aus folgender Kettenreaktion bestehe: Reizmittel → Reizung → "Befruchtungswelle" → Zerfall der Kortikalalveoli → Aussonderung der Kolloide von Kortikalalveoli → Trennung der Eimembran. Die "Befruchtungswelle" ist definiert als eine Art Erregungsprozess und wird für den Grund des Zerfalls der Kortikalalveoli gehalten.

Wenn wir also von diesem Gesichtspunkt aus in Erwägung ziehen, auf welche Weise der Zerfall der Kortikalalveoli des Heringseies, trotz des Beginns der Entwicklung, durch die thermale Behandlung gehemmt wird, lassen sich zwei Möglichkeiten denken: Die erste ist, dass, infolge der Abnahme der Reizbarkeit des Eies (Eikortex) die durch das Spermium hervorgebrachte Reizung zu schwach ist, um die Befruchtungswelle herbeizuführen, und somit Zerfall der Alveoli nicht vorkommt. Die zweite Möglichkeit ist, dass die Stärke der Reizung genügt, um die Befruchtungswelle herbeizuführen, aber irgend ein Mechanismus des Zerfalls gewisser Alveoli ausgeschaltet worden ist, infolgedessen einige Alveoli, ohne zu zerfallen, übrig bleiben.

Dann wurde, um diese Möglichkeiten zu prüfen, noch ein weiteres Experiment unternommen: Nach geeigneter thermaler Behandlung wurden die

5) Hier, ist es aber bemerkenswert, dass man *Oryzias*-Eier durch thermale Behandlung zur normalen Aktivierung führen kann (Yamamoto '44).

Eier in zwei Gruppen geteilt. Die der einen Gruppe wurden besamt, und die der anderen wurden ohne Besamung zur Aktivierung mit einer feinen Glasnadel angestochen. Es ergab sich, dass die besamten bzw. befruchteten Eier mit Alveoli versehen sich zu entwickeln begannen, d. h. ohne vollständigen Zerfall der Alveoli die erhabenen Keimscheiben gebildet wurden, welche dann, wie schon erwähnt, sich zu furchen anfangen. Die angestochenen Eier zeigten beinahe dieselben Reaktion, d. h. auch an diesen Eiern geschah Zerfall der Alveoli nicht vollständig, obgleich erhabene Keimscheiben gebildet wurden. Noch dazu, selbst wenn befruchtete Eier, welche, mit Alveoli versehen, sich zu entwickeln begannen, mit Nadel gestochen wurden, zerfielen die bleibende Alveoli nicht. Da die durch Anstich hervorgerufene Reizung stärker als die durch Spermium hervorgerufene zu sein scheint und das "Alles-oder-Nichts-Gesetz" für die Erregung des Eikortex nicht gilt (Yamamoto '44), zeigt das Resultat des obigen Experiments geradezu, dass die erste Möglichkeit nicht denkbar ist, sondern allein die zweite in Betracht kommt.

Wie schon in der vorhergehenden Mitteilung (Kanoh '53) gesagt, pflanzt sich ein Zerfall der Kortikalalveoli auch beim Heringsei, wie beim *Oryzias*-Ei, wellenweise nach und nach vom animalen bis zum vegetativen Pol fort, aber sorgfältigen Beobachtungen nach geschieht der Zerfall je eines Alveolus vereinzelt hier und da, wie aus den Abbildungen (Abb. 1b u. 2, S. 70) in der vorhergehenden Mitteilung hervorgeht. Ferner, prüft man die Lage der durch thermale Behandlung unzerfallend übrig gelassenen Alveoli, so wird ermittelt, dass nicht nur in der vegetativen Hemisphäre Alveoli immer übrig bleiben, sondern auch in der animalen unzerfallend vorhanden sind, d. h. ein unvollständiger Zerfall der Alveoli, obgleich verschiedenen Grades, nicht nur in der animalen sondern auch in der vegetativen Hemisphäre vorkommt. Diese Tatsache zeigt, dass einzelne Alveoli voneinander unabhängig sind, sodass je ein Alveolus einen von anderen abgesonderten Mechanismus des Zerfalls hat, und dass bei der thermalen Behandlung auch "Befruchtungswelle" durch den ganzen Eikortex sich fortpflanzen kann, weil mit Besamung oder Anstich ein wenig Alveoli auch in der vegetativen Hemisphäre zerfallen.

Es liegt also nahe, anzunehmen, dass die geeignete thermale Behandlung keinen Einfluss auf Entstehung der Befruchtungswelle ausübt, sondern auf den Mechanismus des Zerfalls einzelner Alveoli schädlich einwirkt, indem einige derselben nicht zerfallen können.

Was den Mechanismus für Zerfallen der einzelnen Alveoli anlangt, so scheint er enzymatisch zu sein, d. h. die Befruchtungswelle aktiviert ein damit zusammenhängendes Enzymen-System, welches ein Esterase-System, wie Yamamoto ('51) behauptet hat, sein kann, sodass der betreffende Alveolus zerfällt.

Daher liegt die Vermutung nahe, dass die betreffende schädliche Einwirkung von thermaler Behandlung auf die einzelnen je einem Alveolus gehörenden Enzymen-Systeme sich ausübt und solch beschädigtes System trotz Entstehung

der Befruchtungswelle, nicht aktiviert wird, demgemäss der Alveolus unzerfallend bleibt.

Zusammenfassung

Im allgemeinen, geschieht die Entwicklung der Fischeier in der Weise, dass mit Befruchtung Kortikalalveoli zerfallen, dann ein Perivitellinraum auftritt und erst hierauf die bipolare Differenzierung beginnt, infolgederen die erhabene Keimscheibe gebildet wird, wonach diese sich zu furchen anfängt. Nun liegt der Gedanke nahe, dass die bei der Befruchtung vorkommende Veränderung im Kortex der Fischeier demselben Sinn wie diejenige der Seeigeleier habe. Daher kommt es darauf an, ob Zerfall der Kortikalalveoli bei Fischeiern notwendig sei für den Prozess der Befruchtung oder für den Beginn der Entwicklung. In Bezug auf dieses Problem sind die Ergebnisse bei Heringseiern in der vorliegenden Mitteilung berichtet und einige Diskussionen darüber gegeben worden.

Wenn die Heringseier vorher durch Wärme (30°–35°C) 2 Minuten–1 Minute lang behandelt, dann in Seewasser von Zimmertemperatur (9°C) gebracht werden, beginnen sie nach Besamung ohne vollständigen Zerfall der Kortikalalveoli mit bipolarer Differenzierung sich zu furchen, schreiten dann im ferneren Lauf der Entwicklung fort, nämlich sie entwickeln sich mit Alveoli versehen.

Daraus ist an die Möglichkeit zu denken, dass zwischen dem Zerfall der Kortikalalveoli und dem Beginn der Entwicklung keine direkte Beziehung besteht und dass auch ohne Zerfall der Kortikalalveoli die Eier sich entwickeln können.

Nach hinzugefügten Anstichversuchen wird die Hemmungswirkung solcher thermalen Behandlung auf Zerfall der Kortikalalveoli, wie folgt, vermutet: Die geeignete thermale Behandlung übt keinen Einfluss auf die Entstehung der Befruchtungswelle (im Sinne von T. Yamamoto '51) aus, sondern wirkt nur auf den Mechanismus des Zerfalls der einzelnen Alveoli schädlich ein, indem einige derselben nicht zerfallen können, folglich die Eier mit Alveoli versehen sich zu entwickeln beginnen.

Was den Mechanismus für Zerfallen der einzelnen Alveoli anlangt, so scheint er enzymatisch zu sein. Daraus ist auch denkbar, dass die betreffende schädliche Einwirkung der thermalen Behandlung auf einzelne je einem Alveolus gebörende Enzymen-Systeme sich ausübt und solch beschädigtes System, trotz Entstehung der Befruchtungswelle, nicht aktiviert wird, demgemäss der Alveolus unzerfallend bleibt.

Die Ergebnisse lassen sich wohl mit denjenigen bei Seeigeleiern vergleichen und die Verfasser haben darüber etwas diskutiert.

Literaturverzeichnis

- Kanoh, Y. 1950. Ueber Wasseraufnahme und Aktivierung der Lachseier. I. Annot. Zool. Jap., 24 (1), 13.
———. 1952. Ueber die Beziehung zwischen dem Zerfallen der Kortikalalveoli und der Entwicklung bei Fischeiern. (auf Japanisch mit deutschem Résumé) Jap.

- J. Ichthyol., 2 (3), 99.
- . 1953. Ueber den japanischen Hering (*Clupea pallasii* C. & V.). II. Veränderung im Ei bei der Befruchtung oder Aktivierung. Cytologia, 18 (1), 67.
- . et S. Ito 1953. The effects of outer medium upon the cortical change, bipolar differentiation and karyokinesis at the time of activation in the egg of Japanese dace (*Tribolodon hakuensis*). (in Japanese with English résumé) Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 18 (10), 462.
- Moser, F. 1939a. Studies on a cortical layer response to stimulating agents in the *Arbacia* egg. I. Response to insemination. J. Exp. Zool., 80, 423.
- . 1939b. Studies on a cortical layer response to stimulating agents in the *Arbacia* egg. II. Response to chemical and physical agents. J. Exp. Zool., 80, 447.
- Motomura, I. 1934. On the mechanism of fertilization and development without membrane formation in the sea urchin egg, with notes on a new method of artificial parthenogenesis. Sci. Rep. Tôhoku Imp. Univ., B, 9, 33.
- . 1941. Materials of the fertilization membrane in the eggs of echinoderms. Sci. Rep. Tôhoku Imp. Univ., B, 16, 345.
- Runnström, J., Monné, L. et E. Wicklund 1944. Mechanism of formation of the fertilization membrane in the sea urchin egg. Nature, 153, 313
- . et E. Wicklund 1950. Formation mechanism of the fertilization membrane in the sea urchin egg. Ark. Zool., A. S., 1, 179.
- Yamamoto, K. 1951. Activation of the egg of the dog-salmon by water and the associated phenomena. J. Fac. Sci. Hokkaido Univ., Ser. VI (Zool.), 10, 303.
- Yamamoto, T. 1944. Physiological studies on fertilization and activation of fish eggs. I. Response of the cortical layer of the egg of *Oryzias latipes* to insemination and to artificial stimulation. II. The conduction of the "Fertilization wave" in the egg of *Oryzias latipes*. Annot. Zool. Jap., 22, 109.
- . 1951. Action of lipid solvents on the unfertilized eggs of the Medaka (*Oryzias latipes*). Annot. Zool. Jap., 24 (2), 74.
- . 1954. Physiological studies on fertilization and activation of fish eggs. V. The rôle of calcium ions in activation of *Oryzias* eggs. Exptl. Cell. Res., 6, 56.