HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	鮭卵の落下衝撃に対する抵抗性及びその機構 （第２報）
Author(s)	岡田, 雋
Citation	北海道大學農學部邦文紀要, 2(3), 118-127
Issue Date	1955-10-31
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11601
Type	departmental bulletin paper
File Information	2(3)_p118-127.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

鮭卵の落下衝撃に対する抵抗性及びその機構（第2報）

岡　田　　儁*

The resistance of the developing eggs to the shock and its interpretation in the dog-salmon, *Oncorhynchus keta* (WALBAUM). II.

By
Shun S. OKADA

I. 緒　　言

ROLLEFSEN (1932) は鱈卵の落下衝撃に対する抵抗性の研究に於て，原口閉鎖期に顕著な抵抗性の増大が現われることを報告し，これは卵黄を被う原形質の薄層 (Protoplasm layer of yolk) 即ち卵黄膜(Vitelline membrane) が，外胚葉性の胚盤皮膜によつて被覆され，之によつてその損傷を保護されるためであると説明した。

AFFLECK (1952) も鱒類の *Salmo trutta* 及び *S. gairdnerii* に於て，振動等の機械的刺戟による卵子の斃死は卵黄膜の損傷によると考えており，更に日光，電燈光線の照射による斃死も同じ機構によるものと考えている。

然し何れの報告に於ても，機械的刺戟によつて実際に卵黄膜に損傷を生ずるかどうかについては観察していない。従つて卵黄膜の損傷という意味は，卵黄膜に可視的の裂傷又は小孔等を生ずることか，或は形態的には変化を認め得ないが生理的に卵黄膜の特性である水，塩類に対する不透過性 (Impermeability) を喪失することか明瞭でない。

GRAY (1932) は Brown trout (*Salmo fario*) の未受精卵で，その卵膜 (Chorion) 及び卵黄膜の諸性質について研究しているが，刺突衝撃を与えた卵子に於て，卵黄が卵黄膜から漏出することを観察しており，この方面に示唆を与えている。

著者は第1報に於て，鮭卵の落下衝撃に対する抵抗性について実験結果を報告し，原口閉鎖期及び発眼期に顕著な抵抗性の増大が現われることを明かにした。而してこれは当該期にそれぞれ外胚葉性の胚盤皮膜及び中胚葉性の血管域皮膜が順次卵黄膜を被覆するためであろうと推論した。

本報に於ては，衝撃によつて実際に卵黄膜に可視的の損傷が生ずるかどうかについて述べ，併せて卵黄を被覆する卵黄膜及びこれの保護的役割を果すと考えられる胚盤皮膜，血管域皮膜の組織学的構造について報告する。

本文に先だち本研究に対し御指導と便宜を与えられた北大農学部犬飼哲夫教授，低温科学研究所青木廉教授に深謝の意を表する。

II. RINGER 液浸漬による観察

鮭卵では卵膜 (Chorion) が殆んど不透明なため，衝撃によつて卵の内部に生じた変化を直接詳しく観察することは出来ない。然し RINGER 液* に浸漬すると卵黄膜の損傷を覗うことが出来る。

即ち流水中に浸漬後 2～3 日経過した未受精卵 50 粒宛を用い

第1区：落下衝撃を与えず，水道水に浸漬する。(Control)

第2区：同　　上　，RINGER 液に浸漬する。

第3区：50 cm 落下衝撃を与えた後，水道水に浸漬する。

* 北海道大学農学部動物学教室

* NaCl 7.00gr. KCl 0.25gr. $CaCl_2$ 0.30gr. $NaHCO_3$ 0.02 gr. 以上を蒸溜水に溶解して1立とする (GRAY, 1932)。

第4区: 同 上 , RINGER 液に浸漬する。

以上の4区に分けて実験した結果は第1表の如くである。

第 1 表

観察時	第 1 区 無落下 水道水浸漬	第 2 区 同前 RINGER 液浸漬	第 3 区 50cm 落下 水道水浸漬	第 4 区 同前 RINGER 液浸漬
30 分後	変化なし。即ち赤橙色半透明。	外観第1区と同じ。	白濁不透明卵 18 小局部白濁卵 若干 残卵 第1区と同じ	透明卵 35 残卵 第1区と同じ
12 時間後	同上	同上	白濁不透明卵 19 小局部白濁卵 13 残卵 第1区と同じ	透明卵 40 残卵 第1区と同じ
22 時間後	媒液変化なく清澄	媒液変化なく清澄	媒液溷濁しつつあり，新水道水と交換	媒液溷濁しつつあり，新 RINGER 液と交換
37 時間後	卵子，媒液共に変化なし。	卵子，媒液共に変化なし。	白濁不透明卵 21 半白濁卵 4 小局部白濁卵 23 正常外観卵 2 媒液溷濁	透明卵 50 正常外観卵 0 媒液溷濁 Chorion の外面に粘液状層形成

同表に見る如く，落下衝撃を与えなかつた卵子は，水道水中では勿論 RINGER 液中でも長く正常卵と変りのない外観を保持し，又その媒液を溷濁せしめることがない。然るに落下衝撃を与えた卵子は，水道水では間もなく多数が白濁不透明な所謂死卵に変化し，漸て媒液が顕著に溷濁して来る。RINGER 液中では間もなく卵膜が非常に透明で，内部の容易に観察出来る透明卵が多数現われ，漸て同様に媒液が顕著に溷濁し卵膜の表面に粘液状に沈着するのが見られる。

落下衝撃を受けた卵子が水道水中で白濁不透明な所謂死卵に変化するのは，GRAY (1932) の説の如く，卵黄膜が或る種の損傷を受け，卵黄中の塩類が外部に拡散する結果 Globulins の沈澱を起すためであることは明かである。RINGER 液中で長く透明を保つのは同液中の塩の存在によつて Globulins の沈澱が抑制されるためで，従つてこれ等の透明卵を水道水中に移すと数分後には完全に白濁不透明な所謂死卵に変化する。而して何れの場合にも媒液が溷濁して来ることは卵黄膜が破れて，卵黄が漏出していることを思わせる。RINGER 液中で卵膜が透明となるのは，RINGER 液にその作用があるのでないことは第2区の実験結果から明かで，漏出した卵黄が卵膜の Zona radiata を充塡することによると考えられる。

透明卵は内部の状況が容易に観察出来るので，卵体の一部に鈍針で刺突衝撃を与え直ちに RINGER 液に浸漬し，水平顕微鏡で観察すると卵黄膜の変化がよく観察出来る。GRAY はこの方法で卵黄膜の損傷を最初から追跡しているが，鮭卵では透明になるのに 10 分内外を要し初期の変化は詳細に観察が出来ない。これは既に述べた通り卵黄が卵膜の内面に広く行きわたつ

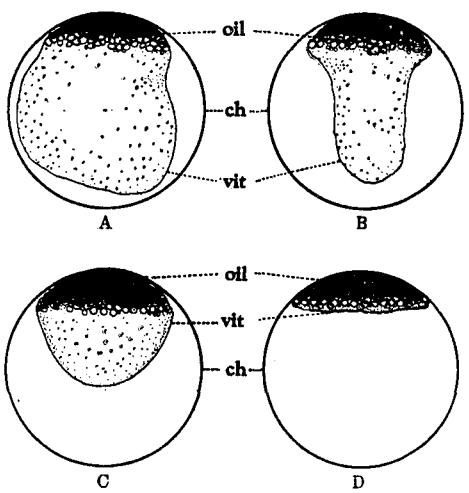

Fig. 1. The successive changes of the vitelline membrane of an egg which was subjected to shock and immersed in Ringer's solution at once.

A about 10 minutes, B about 20 minutes, C about 25 minutes, D about 30 minutes after immersed in the medium.

oil Oil-globules, ch Chorion, vit Vitelline membrane.

て Zona radiata を充塡するのに相当の時間を要するためであろう。

今1例をとり卵内の変化を示せば第1図の如く，内部観察が可能になる時期には既に卵黄膜は可成り収縮を始めており (Fig. 1; A)，卵膜との間に透明な空隙が存在するが，この部分は漏出した卵黄で充塡されているものと考えられる。但し如何なる形態で卵黄膜が破裂しているかは，この観察で確認することは出来ない。時間の経過と共に卵黄膜は次第に収縮し (Fig. 1; B, C)，最後に動物極に存在する油球群の下面に接着して終る (Fig. 1; D.)。この状態に達するのに衝撃を与えてから普通 30 分内外を要する。

時にはこの最後の段階にまで進行せず，A，B 或は C の状態で卵黄膜の収縮が停止することもある。衝撃をどの部位に与えても（動物極の附近に与えても）収縮過程中卵黄膜の形状に多少の変化は見られるが結局油球群下面に卵黄膜の収縮が終る。

以上述べた所により，機械的刺戟によつて鮭卵に白濁不透明が起つて所謂死卵となるのは，この刺戟によつて卵黄膜に機械的な破裂が生じ，そこから卵黄が囲卵腔へ漏出し，その部分より塩類が拡散して Globulins の沈澱を起し次第に白濁不透明となるものと考えられる。

III. Bouin 液固定による観察

Bouin 液で固定した卵子の卵膜 (Chorion) を注意して剝離すると，卵黄を完全に被覆している卵黄膜の存在を明瞭に認めることが出来る (Fig. 2; A)。この膜は非常に薄く弱いものであるが卵黄塊から分離することが出来，その跡には滑かで透明な卵黄塊が現われる。卵黄膜はやや不透明で，動物極では多量の油球群の上に載つた胚盤に連つており，その他の部分では下面に油球が散在付着している。

今落下衝撃を与えて一定時間経過した後，Bouin 液に投入固定し然る後卵膜を除去して見ると，落下後1分前後で固定したものでは卵黄膜の一部が円形に破裂し，そこに透明な卵黄の露出している状態のものが見られる。この部分は卵膜に密着していて卵膜の剝離に困難を感ずるが，その他の部分は卵黄膜が介在するため容易に剝離出来る (Fig. 2; B, C)。

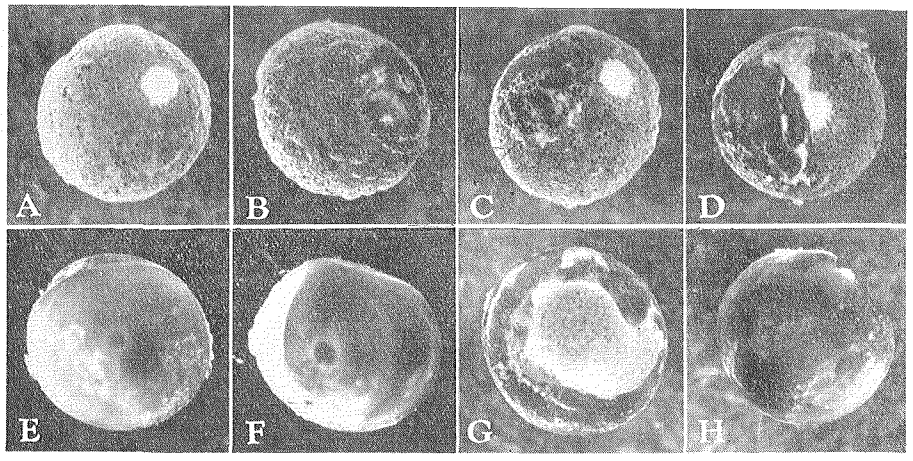

Fig. 2. The various states of the vitelline membranes of eggs which were fixed by Bouin's fluid and removed the chorions.

A An egg which was not subjected to shock, B, C and D One or two minutes, E and F Several minutes (view from vegetative pole), G and H Ten minutes or more after shock (G from animal pole, H from vegetative pole).

更に時間を置いて固定したものでは卵黄の露出が一層顕著になり (Fig. 2; D)，数分後のものでは破裂した卵黄膜の裂孔が環状に収縮しつつある。これを植物極の側から見ると，漏出した透明な卵黄塊を通してこの卵黄膜の緊縮環を見ることが出来る。この部分で卵黄膜の内外の卵黄は細い頸で連つている(Fig. 2; E, F)。

10 分以上を置いて固定したものでは，大部分の卵黄

が漏出し卵黄膜は油球群を包んで動物極に収縮しており (Fig. 2: G), 植物極には透明な卵黄塊が露出している (Fig. 2; H)。刺突衝撃を与えた場合も全く同様である。

GRAY (1932) は *Salmo fario* の未受精卵で, 鈍針で卵膜上から刺圧を加えると, その部分から白環が次第に拡大移動し最後に動物極の近くで停止し, 次いで内側に向つて白濁化が進行し最後に全面が白濁化することを観察した。而してこの白環は破裂した卵黄膜の裂孔から漏出する卵黄が, その先端で薄層をなすため速やかに塩分を喪失し Globulins の沈澱を起して白濁したものであろうと推定した。

鮭卵に於ても落下衝撃又は卵膜の一部に鈍針で刺突衝撃を与えた後, 直ちに水中に入れて水平顕微鏡で観察すると, 衝撃を与えてから 20～30 秒後にその部位に多くは小さな半月形の透明帯が現われ, 間もなくそれは円形となり次第に拡大してゆくと共にその周縁に白環が現れる。白環は次第に拡大移動して動物極の油球群の位置で停止し, 次に次第に表面の内側へ白濁化が進行し, 10分内外で全面が白濁して所謂死卵に変化する。衝撃が小さいとしばしば白環が小区域に停止しそれ以上進行せず, そこに局部的白斑を生ずることもある。

今この移動する白環が何であるかを確めるために, 白環の拡大移動が停止した各種段階の卵子を, 醋酸を加えない BOUIN 液で固定した後卵膜を除去して見ると, 漏出した卵黄の周縁が白色を呈しており, これが外部から観察した白環の位置に相当することが解る。その部分は漏出する卵黄の先端であるためその層が薄く, 含有塩類の拡散も速やかで Globulins の沈澱を起し易いと考えられる。始め GRAY (1932) はこの移動する白環を, 卵黄膜が水, 塩類に対する不透過性を喪失してゆく一種の不可逆性の波の如く考えたが, 更に考察を重ねた結果既に述べた如く漏出する卵黄の周縁であるという説明に達した。著者の観察結果はこの説明が正しいことを示している。

飼育中の卵子にしばしば小さな白斑の存在するものがあるが, 斯様な卵子を固定後卵膜を除去して見ると白斑は漏出した卵黄の小塊であつて, これは卵黄の本体とは容易に分離することが出来, その跡は卵黄膜が殆んど完全に再生していて裂孔が閉ざされている。

BOUIN 液で固定した材料での観察が, 実際に生起した現象をそのまま示しているかどうかは多少議論の余地があるが, RINGER 液浸漬による観察の結果と照合して, 衝撃によつて卵黄膜に起る変化を大体表示していると考えてよいであろう。

IV. 卵黄被覆膜の構造

卵黄被覆膜の発生に関する外部的観察については既に第1報において述べた通りであるが, 組織学的観察には BOUIN 液その他普通の固定液を使用すると, 卵黄が硬化して切片の作成が殆ど不能になるので次の如き方法を採つた。即ち先づ 2% クロム酸水溶液に氷醋酸を 10% 加え, この中に卵子を浸漬すると 1～2 分で胚盤の位置が判然として来るから, 之を食塩水中に移し胚盤の反対側に小切開面を入れ, 先端を細くしたゴム帽付ピペットに食塩水を充し, 切開面から内部え深く挿入して卵黄を静かに洗い出す。これを数回繰り返すと内部の卵黄は殆ど完全に洗い出される。しかる後卵膜を破いて胚盤と共に卵黄被覆膜を丁寧に取り出し, ピクリン酸飽和水溶液 1, 昇汞飽和水溶液 1, 蒸溜水 2 の混合固定液中で約3時間固定, 次で 70% アルコールに移し沃度丁幾を加えて昇汞を除去し, 爾後は定法に従つてパラフィン埋没を行い, 10μ の切片を作成し DELAFIELD'S haematoxylin で染色した。

(1) 卵黄膜

発生初期には卵黄の表面は原形質の薄膜即ち卵黄膜 (Vitelline membrane) で被覆され, 未分割卵ではこの膜は直接胚盤 (Blastodisc) に連つている (Fig. 3; A は受精後6時間の未分割卵)。

BEHRENS (1898) 及び山本 (1951) によれば, 受精後3時間で胚盤の下面に "Scheidewand" と称する隔壁が現れ始め, 5時間ではこれが発達して胚盤は卵黄を被覆する原形質層から完全に分離されるという。

著者の観察においても, BOUIN 液で固定した受精後3時間の未分割卵で既にその存在が認められるが, 受精後9時間の分割直前卵においても胚盤の周縁ではなお卵黄膜と直接連つており, 桑実卵 (Morula) の如き分割卵においても胚盤周縁の割球はなお卵黄膜と直接の連絡を保つている。しかるに受精後2日間で, 饅頭状に盛り上つた胞胚 (Blastula) が扁平化を起すと共に始めて胚盤は卵黄膜と直接の連絡を絶ち, 胚の表層を被う被層 (Periderm) の周縁で, 僅かに卵黄膜に接着する。これと同時に, その部分の卵黄膜に周縁質 (Periblast) を形成し, 厚さを増してその中に周縁核 (Periblast nuclei) が散在する。その後胞胚末期には胚盤直下にも多数の核が散在して胚下周縁質 (Sub-

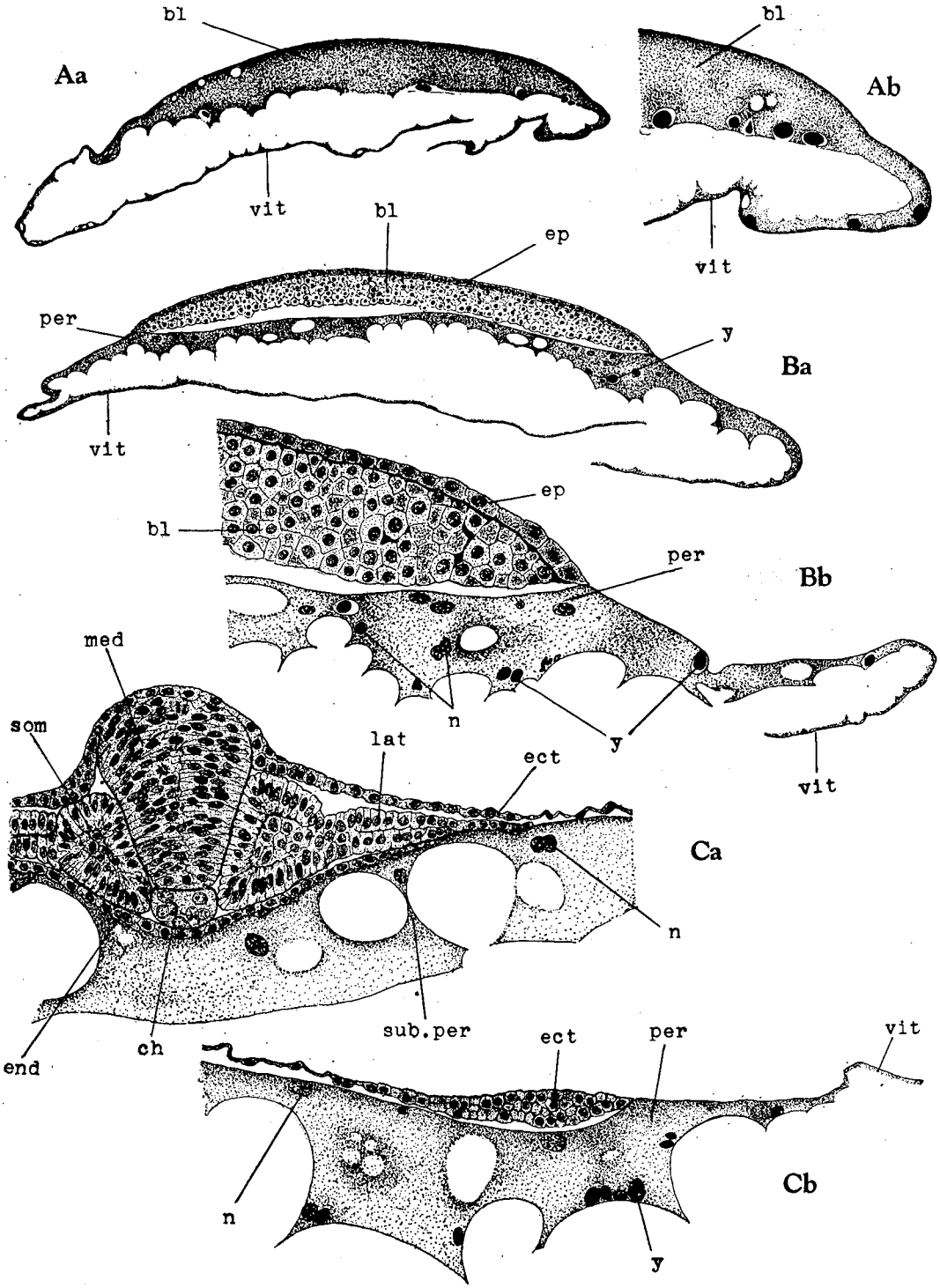

Fig. 3. The sections of the membranes covering the yolk. (1).
A 6 hours after fertilization, Aa total view, Ab magnified view at the marginal region of blastodisc.
B 5 days after fertilization, Ba total view, Bb magnified view at the marginal region of blastoderm.
C 10 days after fertilization, Ca view near the embryo, Cb view at the marginal region of blastoderm.
bl blastodisc or blastoderm, ch chorda, ect ectoderm, end endoderm, ep periderm, med medullary plate, n nucleus, per periblast, som somite, sub. per subgerminal periblast, vit vitelline membrane.

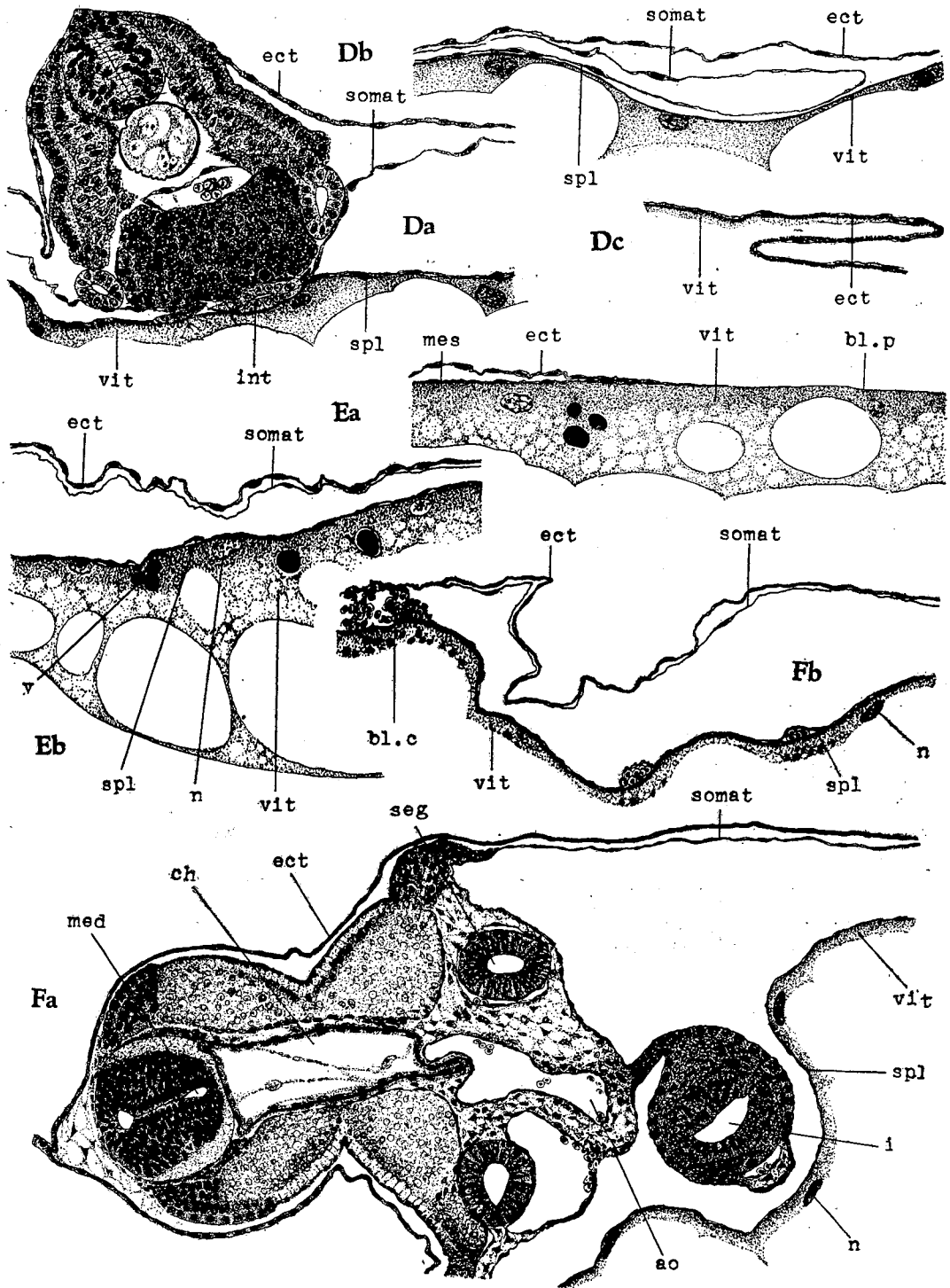

Fig. 4. The sections of the membranes covering the yolk. (2).

D 15 days after fertilization, Da view near the embryo, Db marginal region of vascular area, Dc outside of vascular area. E parallel sections to the D, transversing the blastopore, Ea view of the part of blastopore, Eb outside of blastopore. F just before the appearing stage of eye-spots. ao aorta, bl. c blood cells, bl. p blastopore, ch chorda, ect ectoderm, int intestine, med medullary rohr, mes mesoderm, n nucleus, seg segmental duct, somat somatopleula, spl splanchnopleula, vit vitelline membrane, y yolk granule.

germinal periblast) を形成し，胚下及び胚周の卵黄膜は爾余の部分に比し著しく肥厚している(Fig. 3; B は受精後5日の扁平化胞胚の切片，胚盤の外観は第1報 Fig. 3; 9)

受精後 7～8 日間で原腸胚形成が始まつて胚楯 (Embryonic shield) を生じ内外両胚葉の分化が起る (第1報 Fig. 3; 11～12)。即ちこの時期まで卵黄は卵黄膜だけで被覆されている。

(2) 胚盤皮膜

原腸胚形成が進むにつれ，胚楯は明瞭な胚体を形成すると共に外胚葉が次第に卵黄上に伸びてこれを被うてゆく。Fig. 3; C は受精後 10 日の神経胚 (Neurula) の切片である (外観は第1報 Fig. 3; 13) が同 Ca 図に示す如く胚体の近くでは卵黄膜上に一層の内胚葉が載り，更に脊索，髄板，体節の外に側板 (Lateral plates) がやや発達し，最外層を一層の外胚葉が被うている。この外胚葉即ち胚盤皮膜は胚体を離れると間もなく直接卵黄膜上に伸び，その周縁は同 Cb 図に示す如くやや肥厚して数層の細胞よりなり，その末端で緩く卵黄膜に接着している。

その後胚盤皮膜は益々卵黄膜上に伸び胚体の後方で原口 (Blastopore) を抱くに至るが，15～16 日で原口の閉鎖と同時に完全に卵黄を被覆する。Fig. 4; D は受精後 15 日の未だ原口の閉鎖せざる時期の切片で (外観は第1報 Fig. 3; 15)，同 Da 図に示す如く内胚葉は既に消化管を形成し，その両側には側板の内臓板 (Splanchnopleura) が発達して卵黄膜上に伸びている。最外層は外胚葉皮膜でその内面を裏づける如く側板の体壁板 (Somatopleura) が伸びている。

第1報において述べた如く，この時期には胚体頭部の後方から胚体両側，後方にかけて血管域 (Vascular area) が発達しつつあるが，上に述べた中胚葉側板は即ちこれに相当する。これ等の側板は同 Db 図に示す如く，胚体からやや離れた所で体壁板，内臓板が相会して血管域の周縁を形成している。しかし血管域には未だ血管も血球も形成されていない。血管域周縁の外側部では同 Dc 図の如く卵黄膜上を外胚葉性胚盤皮膜が被うているだけである。

この切片に平行な原口を横ぎる切片は Fig. 4; E の如くで，原口の位置では同 Ea 図の如く卵黄膜が露出しているが，原口を離れた位置では同 Eb 図の如く後方に伸びた血管域である2枚の中胚葉性皮膜と外胚葉皮膜とで被覆されている。

即ちこの時期においては卵黄は全面を卵黄膜で被覆された上，原口部を除き更にその上を胚盤皮膜で被われ，胚体の近辺では更に両者の間に中胚葉側板 (2枚) が介在している。その後発生の進むに従い，原口は閉鎖して胚盤皮膜が完全に卵黄嚢を被覆し，中胚葉性皮膜も伸びて来ることはいうまでもない。

この時期に衝撃に対する抵抗性の増大が現われるが，これは胚盤皮膜が卵黄膜を被覆することに関係することは殆ど疑いがない。しかし過大な衝撃に対してはこれ等両膜共に耐えられなくて破裂し，その様相は既述の実験観察と同様で破裂面から卵黄が漏出してこれが白濁する。

(3) 血管域皮膜

既に述べた如く原口閉鎖に先つて，胚体頭部の後方から胚体両側後方へかけて発生を始めた血管域は次第に卵黄膜と外胚葉皮膜との間を伸び，受精後 30 日前後の発眼期の頃には胚体の前方で完全に卵球の被覆を完了する。Fig. 4; F は発眼直前の切片であるが，同 Fa 図に示す如く胚体付近においては勿論，卵面何れの位置においても同 Fb 図の如く卵黄は卵黄膜，内臓板，体壁板，外胚葉の4膜で完全に被覆されている。しかも内臓板は卵黄膜上に密着しその間に血管を作り血球を蔵して，既に血管域としての作用を営んでいる。

斯様に発眼期以後卵黄は4枚の皮膜によつて被覆される結果，著しく衝撃に対する抵抗性を増大すると考えられるが，実際この時期以後相当強度の衝撃に対しても卵黄被覆膜の破裂は起らず，過大の衝撃に対しては卵黄被覆膜の破裂の代りに胚体自身の斃死が起る。即ち衝撃を与えてから1日前後で胚体が白く不透明になつたものが現れ，これ等は卵膜上から鈍針で突いても動かず内部で斃死している。斯様なものでも未だ卵黄は正常の外観を呈しているが，3～4 日経過すると卵黄も白濁不透明になり明瞭な死卵に変化する。斯様なものを Bouin 液で固定し卵膜を除去して見ると被覆膜には全然損傷が認められない。これは胚の斃死によつて被覆膜が次第に変質し，水塩類に対する不透過性を喪失した結果と考えられ，発眼前における白濁の機構と趣きを異にしている。

V. 結論及び摘要

著者は第1報において，鮭卵の落下衝撃に対する抵抗性が原口閉鎖期及び発眼期の両期に著しく増大することを明かにし，これは当該期に夫々胚盤皮膜及び血管域皮膜が卵黄膜を順次被覆する事実と密接な関連を有すると推論した。この推論は衝撃が卵黄膜にある種

の損傷をもたらし，その部分の水，塩類に対する不透過性の喪失を来し，これがために卵黄中の塩類が拡散して Globulins の沈澱を起し白濁死卵を生ぜしむるという想定に立脚している。

本報においてはこの想定の根拠となつている卵黄膜の損傷が，可視的事実として実際に生ずるものか，あるいは形態的には変化の認められない生理的現象として起るものかについて実験観察の結果を述べ，併せて卵黄被覆膜の組織学的構造について記載した。

(1) 落下あるいは刺突衝撃を与えた卵子を RINGER 液中に浸漬すると，間もなく卵膜が非常に透明になり漸て媒液が顕著に溷濁して来る。無処理の卵子を RINGER 液に浸漬しても斯様な変化は起らないから，RINGER 液によつて卵膜が透明にされたのでないことは明かで，同液中の塩類によつて Globulins の沈澱を抑制された卵黄が，卵膜の Zona radiata を充顕することによつて卵膜が透明になり，更に卵黄が外部に滲出して来るために媒液の溷濁が起るものと解される。即ち衝撃は卵黄膜に機械的破裂を生ぜしめ，そこから卵黄が漏出するものと考えられる。

(2) 実際 RINGER 液中では卵膜が透明となるため，卵内部において卵黄膜が次第に収縮し，終に動物極で不規則な塊状をなして停止する迄の過程を観察することが出来る。卵内部の観察が可能になるのには 10 分内外を要するが，これは漏出した卵黄が卵膜の Zona radiata を広範囲に充顕するのに時間を要するためであろう。この時期には既に卵黄膜は可成り収縮を始めており，卵膜との間に透明な空隙が存在するが，この部分は漏出した卵黄で充顕されているものと考えられる。しかしこの観察では如何なる形態で卵黄膜が破裂しているか確認することは出来ない。

(3) 落下あるいは刺突衝撃を与えて一定時間経過後 BOUIN 液に投入し，固定後卵膜を除去して見ると 1 分前後の卵子では衝撃を受けた部分の卵黄膜が円形に破裂し透明な卵黄が露呈している。この部分は卵膜に密着していて卵膜除去の際剝離しにくい。数分後の卵子では卵黄の漏出著しく卵黄膜の裂口は次第に縮小しつつあり，漏出した透明な卵黄塊を透して環状に緊縮した裂孔を観察することが出来る。10 分以上経過の卵子では大部分の卵黄が漏出し，卵黄膜は油球群を包んで動物極に収縮している。

(4) 刺突衝撃を与えた卵子を直ちに水中に入れて観察すると，20～30 秒後に衝撃を受けた部位から白環が次第に周囲に向つて移動拡大して行くのが観察される。これは最後に動物極の付近で停止し，次で表面を内側え白濁化が進行し，漸て全面が白濁化する。GRAY (1932) は始めこれを卵黄膜が不透過性を喪失してゆく波と考えたが，考察を累ねた結果漏出する卵黄の先端であると推定した。著者は斯様な卵子を醋酸を加えない BOUIN 液で固定し卵膜を除去して観察した結果，GRAY の推定の通りこの白環は漏出した卵黄の先端であつて，この部分が薄層をなすため含有塩類の拡散が速かで，Globulin の沈澱を起して白濁を来していることを観察した。

(5) BOUIN 液固定による観察が実際に生起した現象をそのまま示しているかどうかは多少疑問の余地があるが，RINGER 液浸漬による観察と照合して，衝撃による卵子の白濁不透明化は卵黄膜の不透過性喪失の結果によるのではなくて，卵黄膜に機械的裂口を生じ，そこから卵黄が漏出して直接媒液に接することによると考えられる。但し卵黄膜に裂孔を生ずる迄の極めて短時間の過程に，その部位の卵黄膜に不透過性の喪失を来し，これが卵黄膜破裂の誘因となることはあるかも知れない。

(6) 卵黄は発生初期においては原形質の薄層即ち卵黄膜だけで被覆されている。受精後 7～8 日原腸胚の形成が始まると共に内外両胚葉の分化が現れ，外胚葉性の胚盤皮膜が卵黄膜上を被うて進展し，受精後 15～16 日胚体の後方で原口閉鎖完了と共に全卵球を被覆する。原口閉鎖に先ち中胚葉性の血管域皮膜が胚体頭部の後方から胚体両側後方えかけて発生を始めているが，この膜は側板の内臓板及び体壁板の 2 枚よりなり，胚盤皮膜と卵黄膜との間を伸展し，両膜の相会する所は血管域の周縁に当る。この時期に第 1 次の抵抗性増大が現れるのであるが，これは卵黄が卵黄膜，胚盤皮膜によつて二重に被覆されるためと考えられる。

(7) 発生の進むにつれ血管域皮膜は更に伸展し発眼期には胚体の前方で全卵球の被覆を完了する。この時期には体壁板は胚盤皮膜の裏づけの役割を演じ，内臓板は卵黄膜に密着し，その間に血管を形成し内部に血球を蔵している。この時期以後卵黄は卵黄膜，内臓板，体壁板，胚盤皮膜の 4 膜で被覆されることになるが，血管域皮膜が十分伸展しない過程においては，過大な衝撃に対しては卵黄膜，胚盤皮膜共に破裂してそこから卵黄が漏出し卵子が白濁不透明に化する。白濁不透明にならなかつた卵子は異常なく発生を続けるから，この程度の衝撃は胚を直接斃死せしめないことは明かである。

(8) 発眼期には第2次の抵抗性増大が現れるが，これはこの時期以後前述の如く卵黄が4枚の膜によつて被覆されるためと考えられる。この時期には相当に強い衝撃を与えても卵子の白濁不透明化は起らないが，胚体が白濁不透明となつて斃死する。而してその2～3日後に始めて卵黄の白濁が現れる。これは胚の斃死によつて卵黄被覆膜が変質し，生理的に水，塩類に対する不透過性が失われるためであろう。斯る卵子をBOUIN液で固定後卵膜を除去して見ても卵黄被覆膜に可視的損傷は認められず，卵黄は全然外部に漏出していない。

VI. 参考文献

1) AFFLECK, R. J.: The stability of the vitelline membrane and the reguirements of developing trout ova. Jour. Mar. Freshw. Res. Vol. 4, No. 1. 1953.
2) BEHRENS, G.: Die Reifung und Befruchtung des Forelleneies. Anat. Hefte. Bd. 10, Heft 32. 1898.
3) GRAY, J.: The osmotic properties of the eggs of the trout. Jour. Exp. Biol. Vol. 9. No. 3. 1932.
4) 犬飼哲夫：動物発生学（脊椎動物），岩波書店 1949.
5) 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.
6) ROLLEFSEN, G.: The susceptibility of cod eggs to external influences. Jour. Conseil intern. p. l'explor. mer. Vol. 7, No. 3. 1932.
7) SAITO, S.; The embryological study of fishes. I. General observation on the early development of the dog salmon. Jour. Fac. Agr. Hokkaido Univ. Vol. 48, pt. 3. 1950.
8) 山本時男：魚類の発生々理，養賢堂 1943.
9) YAMAMOTO, K.: Activation of the egg of the dog-salmon by water and the associated phenomena. Jour. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI, Vol. 10, No. 3-4. 1951.
10) ZIEGLER, H. E.: Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der niederen Wirbeltiere. Jena. 1902.

Résumé

The writer mentioned in previous paper (1954) that the resistance of the developing eggs of the dog-salmon to mechanical shock increases distinctly at the closing stage of the blastopore and again at the appearing stage of the eye-spots, this being probably due to the covering of the ectodermal blastoderm in the former and the mesodermal vascular area in the latter on the vitelline membrane at these stages.

This interpretation stands on the assumption that the vitelline membrane may be ruptured by mechanical shock and it induces the death of the eggs.

In the present work, the writer desires to ascertain the rupture of the vitelline membrane as a visible phenomena if so. And the histological observation on the membrane that is the vitelline membrane, blastoderm and vascular area was made.

(1) When immersed in Ringer's solution, the eggs exposed to mechanical shock turns distinctly transparent in a short time and the medium becomes cloudy by and by. This transparency of the chorion is not due to Ringer's solution, as such change does not occur on the eggs which have not been treated with the shock. It seems to be probable that the yolk in which the precipitation of globulins is prevented by the presence of salts in the medium, flows out first within the membrane and fills up the zona radiata of the chorion. Then the yolk comes out of the membrane and the medium becomes cloudy by and by.

(2) When the eggs have become transparent in Ringer's solution, the vitelline membrane is observed shrincking in the chorion as GRAY (1932) has mentioned.

The process of the shrinkage of the membrane in the medium are shown in Fig. 1. A is the stage at about 10 minutes after the immersion in the medium at which the chorion has just become transparent, and D at about 30 minutes at which the membrane has perfectly shrinked as a mass near the animal pole.

In this observation, however, the feature of the rupture of the vitelline membrane has not been ascertained.

(3) By fixing the normal eggs with BOUIN'S fluid and removing the chorion, the vitelline membrane is seen perfectly covering the yolk as shown in Fig. 2. A.

But the eggs fixed at about one minute after the shock have a round wound on the vitelline membrane as Fig. 2. B, C and D. After several minutes, the wound shrinks to a ring and the yolk flows out from there as seen Fig. 2. E and F. At last the membrane shrinks as an irregular mass at animal pole,

enclosing oil-globules and the great part of yolk flows out after about 10 minutes as Fig. 2. G and H.

(4) When immersed the shocked eggs into tap water at once, a small opaque ring appears at the point of shock after 20 or 30 seconds and the ring enlarges in size gradually until it covers the whole of the egg surface with the exception of the animal pole. Then the innerside of the opaque ring thickens by and by, and the whole area enclosed by the ring becomes opaque at last.

This phenomenon was demonstrated by GRAY (1932) at first as a stage of irreversible permeability passing over the surface of the vitelline membrane from the point of the shock, but after further consideration he comes to the conclution that this is the margin of the flowing out yolk within the vitelline membrane.

By removing the chorion after fixing with BOUIN'S fluid without acetic acid, it can be observed that the margin of the yolk which had flowed out has become opaque. As GRAY has mentioned, this region which is thinner than the rest, exhibits precipitation of globulins and turns opaque.

(5) In the early stages of development, the yolk is covered by only a thin layer of protoplasm or a vitelline membrane with a blastodisc or blastoderm on the animal pole (Fig. 3. A and B).

After the beginning of gastrulation on 7-8 days of development, the ectodermal membrane of blastoderm expands on the vitelline membarne until it envelops the whole surface of the egg at the closing stage of blastopore. Just then the mesodermal membranes of vascular area which are consisted of somatopleula and splanchnopleula are going to develope from the embryo between vitelline membrane and blastoderm membrane (Fig. 3. C, Fig. 4. D.). At this stage, the resistance against mechanical shock appears in eggs.

The mesodermal membranes expands to envelope the egg sphere until it covers perfectly at the appearing stage of eye-spots. Then at this stage again the resistance to the shock appears.

After this period, the yolk is covered by four membranes; vitelline membrane, splanchnopleula, somatopleula and blastoderm, the excessive shock leading the embryo directly to death without bursting the yolk as occurred in the previous stage.