

アサリ卵巣卵の発達と仁の行動の 関連性について*

西川昇平・榎田 昭**・福岡秀雄

On Maturing Process of the Ovarian Eggs of *Venerupis japonica*, with
Special Reference to the Behavior of the Nucleolus

by

Shyohei NISHIKAWA, Akira UMEDA and Hideo FUKUOKA

Histological observation on the ovarian eggs of the short necked clam, *Venerupis japonica*, provided us with much evidence in support of classifying their maturing process into four stages, each having the following characters :

1. Non egg stalk stage : a vacuole-like structure was observable at the central part of the karyosome.
2. Early egg stalk stage : the vacuole-like structure could not be observable, and the central part of the karyosome was stained uniformly.
3. Later egg stalk stage : after the amphinucleolus formation, a part of karyosome was separated from it and extruded into the germinal vesicle, then into the cytoplasm.
4. Mature egg stage : the eggs were set free from the follicular epithelium.

海産二枚貝の生殖腺についての細胞学的・組織学的研究は、ホタテガイ *Pecten (Patinopecten) yesoensis* について山本 (1943) および和久井・小原 (1966), アコヤガイ *Ptreia (Pinctada) martensii* で小島・前木 (1955), 立石・安達 (1957) および植本 (1958), ムラサキガイ *Mytilus edulis* で三宅・澄川 (1959), アカザラガイ *Chlamys farreri nipponensis* について菅野・谷田 (1961), アサリ *Tapes japonica* で高 (1957, 1959) および澄川 (1963) の報告がある。これらのうち生殖腺の熟度を区分しているものは、立石・安達 (1957), 高 (1957), 植本 (1958) および和久井・小原 (1966) の報告に見られるが、いずれも生殖腺の熟度の区分に終り、生殖腺の主構成要素である生殖細胞の熟度を厳密に区分したものは見られないようである。

一方染色仁の核外放出については既に OKA (1940) がオキナマコ *Halothuria monacaria* の卵形成過

* 水産大学校研究業績 第515号, 1967年7月17日 受理
Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No. 515
Received Jul. 17, 1967.

**茨城県農林水産部水産施設課

程の1時期、第1卵母細胞の早期に核より細胞質への放出現象の起ることを詳細に観察報告している。また山本(1949)はホタテガイの卵形成過程で卵母細胞の成長にともない、染色仁と真性仁が合一して両性仁を形成することを報告しているが、放出に関しては何ら述べていない。

以上のことから著者らは卵巣卵の成熟にともなう形態的变化に加えて、この過程を通じて見られる仁の特異な行動という2つの現象に何らかの関連性が存在するのではないかと考えられたので本研究を行ない、この面から卵巣卵の発育過程の区分を試み、併せて本種の卵の受精時の熱度を考察した。また実験期間中、精巣卵および性転換と考えられる像を観察したのでその大要を報告する。

本文に入るに先立ち、本実験に対し有益な御助言を賜った元教授吉田裕博士および網尾勝博士に謝意を表す。

材料および方法

本実験に用いたアサリ *Venerupis japonica Dercm* は、1963年3月～1964年3月および1966年4月～12月の間、毎月2～3回、下関市長府町松小田海岸および下関市吉見永田本町の海岸から、毎回5～10個体採集し、生殖腺のみを Bouin 氏液で固定し、Paraffin 法により8 μ の切片を作製し、DELAFIELD's Haematoxylin eosin, HEIDENHAIN's Iron Haematoxylin および MALLORY's Anilin blue の三重染色を行なって観察した。

観 察 結 果

I. 卵巣卵の発育過程

卵巣の熱度を決定するためには、卵巣卵の発育過程を区分する必要があるが、本種の卵巣卵は成長するにしたい、卵柄が伸長して瀧胞腔を埋めるようになる。この卵柄の形態的变化に特長があることから、1. 無卵柄期 non egg stalk stage 2. 卵柄前期 early egg stalk stage 3. 卵柄後期 later egg stalk stage および 4. 成熟卵期 mature egg stage の4段階に区分し、各期における卵巣卵の形態的变化および仁の行動を追跡した。以下この区分にしたがって各期の特長を述べる。

1. 無卵柄期 non egg stalk stage (Plate I, Fig. 1)

瀧胞腔内部の卵原細胞は瀧胞細胞と明確に区別することはできないが、両細胞核を比較すると卵原細胞の核が僅かに大形である。この卵細胞が成長して瀧胞上皮から瀧胞腔にやや突出するが、まだ卵柄を形成しない卵母細胞までを無卵柄期とした。瀧胞上皮中に散在するこれらの卵母細胞の核は一般に大形の円形で、細胞質は少量である。核内には塩基性色素に濃染する円形の仁(染色仁)が1個存在する。この染色仁の中央には空胞化した部分が見られ、eosin に淡染している。このようなことは瀧胞細胞および他の組織細胞では見られない。また瀧胞細胞の細胞質は周年、色素に対して好染性を示さない。生殖細胞も発達初期の状態では、瀧胞細胞のように細胞質は染まらないが、成熟の進行にともなって塩基性色素に好染性を示すようになる。

2. 卵柄前期 early egg stalk stage (Plate I, Fig. 2)

この時期の卵母細胞は瀧胞腔に突出し始め、卵柄が形成され、いわゆる洋梨形となる。核は最初は基底膜に接して存在するが、細胞質の伸長にともなって先端部に移動する。核内の染色仁にはまだ空胞が認められるが (Plate I, Fig. 5), 核の平均直径が17.5 μ 程度に達すると、空胞部分は仁物質で埋められ、塩基性色素で一様に濃染されるようになる (Plate I, Fig. 6)。この空胞部が完全に見られなくなるまでの期間を卵柄前期とした。この時期の卵巣卵には成熟卵に見られるような卵膜は認められないが、核膜は明瞭に認められる。

3. 卵柄後期 later egg stalk stage (Plate I, Fig. 3)

卵巣の核および細胞質は肥大し、卵柄の基部が次第に細くなり、卵柄が短くなるまでの期間を卵柄後期とした。この時間の卵巣の核内部には染色仁のほか、塩基性色素に淡染する大形の真性仁が出現する。この真性仁と染色は合体し、真性仁の内部に染色仁が埋った。いわゆる両性仁が形成されるようになる (Plate II, Fig. 7)。2種の仁が両性仁を形成した後、核膜に向って移動するようになる (Plate II, Fig. 8)。その後、卵巣の成長にもない両性仁内部の染色仁は再び、核膜付近の核質中に出され、引続いて細胞質中に放出される。このような変化の起る卵巣の核の大きさは、短径30.0—35.0 μ (平均32.56 μ)、長径32.5—38.8 μ (平均36.56 μ) であり、染色仁の直径は大体5—6 μ に達する。両性仁内部より放出された染色仁は核膜の内側に接着し、核膜を圧迫するようになる (Plate II, Fig. 9)。このため核膜は染色仁が接着した部分だけ細胞質中突出するため、それまでほぼ円形であった核の輪廓がゆがんくる。顕微鏡的には染色仁はそのままの状態細胞質中に放出され、その放出した部分の核膜には破壊孔が観察される (Plate II, Figs. 10, 11)。仁が細胞質へ放出された後、破壊孔は周辺の核膜によって、閉鎖修復されるようである (Plate II, Fig. 12)。細胞質内に放出された仁の後端、すなわち放出仁と核膜の間の細胞質は細胞質が稀薄となっている。しかしこれも間もなく付近の細胞質によって埋められて、細胞質の染色性は一樣になる。

細胞質中の放出仁の形態は、放出直後は原形を保っているが、卵巣の成長にともない次第に崩壊して行く。この時期に前後して核内でも真性仁の1部に崩壊がおこっているのが認められる。

卵柄前期までは卵巣周囲には薄い卵黄膜のみが認められるに過ぎなかったが、この時期では厚い卵膜が形成されるようになる。卵膜形成については OKADA (1935) は *M. heterodon* で濾胞腔に突出した部分に先ず卵膜形成が起ると報告しているが、本種では山本 (1943) の報告とおなじく、卵基部より形成されるようである。完成した卵膜は光学的には無構造であり、魚類の卵巣に見られるような構造は見られない。

4. 成熟卵期 mature egg stage (Plate I, Fig. 4)

卵巣の卵柄が濾胞上皮から離断し、卵は円形となって濾胞腔内に遊離する状態にある時期である。卵柄後期において細胞質中に放出された染色仁はこの時期では、崩壊は大体終了し、細胞質は塩基性色素によって一樣に染色されるようになる。核内部は染色糸が明らかとなり、真性仁も消失するのが認められ、核膜も次第に不明瞭となる。この時期の卵巣の大きさは長径50.0—62.8 μ 、(平均52.25 μ)、短径42.5—54.0 μ 、(平均47.3 μ)である。OKADA (193) は *M. heterodon* の卵子形成が終了して遊離する際、濾胞上皮との連絡部分は卵膜で被われることなく、その部分は卵門となると報告しているが、本種では卵門を観察することができず、したがってその間の形態的变化は観察できなかった。卵巣の発達の全過程にわたって、卵巣の基部に見られる濾胞上皮細胞は卵柄後期に達すると萎縮し、基底膜側に偏在するようになる。このような形態変化から、本種の濾胞細胞は哺育型の細胞であると考えられる。

II. 雌雄同体の観察 (Plate III, Figs. 13—15)

9月に採集した雄個体のうち1個体であるが、成熟した精巣内に卵様細胞が散在するのが認められた。これらの細胞を卵巣の熟度と比較すると卵柄前、後期に相当し、卵巣と何らの形態的差異は認められない。この細胞は多数の精子と混在しているが、細精管壁に濾胞上皮に相当するものは認められなかった。(Plate III, Figs. 14, 15)

8月に採集した雄個体の精巣内は放精後の状態を示している。1個体で大部分の細精管は残存精子が散在するが、それに隣接する少数の細精管では、正常の細精管とは構造が全く異なっている (Plate III, Fig. 15)。すなわちその管壁には卵原細胞に類似する細胞が1—2層になって存在するのみで、中央部には残存精子は認められない。

考 察

以上のように著者らはアサリ卵巣卵の発達過程を4段階に区分した。このうち卵柄前期と後期に属する卵巣卵の区分は困難であるが、この点について著者らは真性仁の出現および両性仁の形成をもって、区分するのではないかと考える。4段階では簡単にすぎる感があるが、このことに関しては今後組織化学的検討を行なう必要があると考える。

核内に存在する染色仁が卵巣卵成熟の1過程において細胞質へ放出される現象は OKA (1935) が、オキナマコ *Holothuria monacaria* について詳細に報告している。また仁およびその断片(仁物質)が細胞質中に放出されることは WILSON (1928) によれば、今まで多くの研究者が各種動物の卵細胞について言及している。二枚貝については LILLIE (1901) が *Unio* で観察しているが、卵成熟との関連性についてはふれていないようである(WILSON (1928) による)。

OKA (1940) は *H. monacaria* で2種の仁が合体して両性仁を形成し、核径 35.5μ 、染色仁の直径が 7.5μ 程度に達すると仁の放出がおこり、その後核内に若い仁が形成されることを認めている。アサリでは核の短径 $30.0 \sim 32.75 \mu$ 、染色仁の直径が $5.0 \sim 6.0 \mu$ 程度に達した時期に同様な放出現象が認められるが、その後新しい仁の形成は見られないようである。また山本(1949)はホタテガイで両性仁の形成を観察しているが、染色仁の放出についてはふれていない。放出後の染色仁は *H. manacaria* では核膜の1部で包まれていると報告されているが、アサリでは放出の前・中・後を通じ、また放出後に起る仁の崩壊の過程を通じて、核膜およびその他の膜状構造物は認められなかった。これは動物の種による差異が存在するのではないかと考えられるが、このことに関しては核内における仁の被膜の有無とともに今後明らかにする必要がある。

最近電子顕微鏡による細胞の微細構造の観察から、核膜には約 $1/200 \mu$ の小孔が多数存在することが明らかにされたが、染色仁の放出に関する著者らの観察に関する限り、明らかに核膜の1部に破壊部を認めることができる。これは、核膜小孔からの放出ではなく、*H. manacaria* の場合と同じように核膜の1部の破壊によるものであると考える。

細胞質に放出された仁に関しては、山本(1956)が、クロガレイの卵巣卵で報告したように、卵黄形成に間接的に関与するのであろうと考えられる。

産卵時の熟度について：

宮崎(1957)は多くの二枚貝の発生の研究の結果から、放卵される卵母細胞の熟度には2型があり、1). 放出された卵の核が消失せず、その輪廓が極めて明確な時期(第1減数分裂前)において、受精可能となる型(バカガイ、シオフキなど)と、2). 核が消失して染色体が赤道板に配列し、第1減数分裂中期の状態に達して受精可能な型(アサリ、アコヤガイ、ムラサキガイほか)があることを報告している。著者らの観察結果からこの問題を考えると、成熟卵期に達し濾胞腔に遊離している卵巣卵の核内では、真性仁が消失を開始するとともに、核内部に染色糸が出現するようになり、さらにその状態が進行すると核膜の1部が不明瞭となってくる。これは第1減数分裂の前期に相当するものであり、このことから産卵される時、または受精時の熟度は宮崎の結果と一致する。

雌雄性について：

軟体動物の雌雄性については雨宮(1932)その他により多数の報告がみられる。9月の採集個体は、アコヤガイについて立石・安達(1957)、植本(1958)が報告したものと同様に、精巣内に卵母細胞類似のいわゆる、精巣卵が存在するものであるが、これをそのまま性転換に直結することは、現在まで著者らは性転換の連続的な組織像を観察してないので断定できない。むしろ8月の採集個体に見られた構造の方が性転換を考える場合、妥当性があるのではないかとと思われる。精巣卵の形成の時期については植本(1958)が報告しているように産卵終了の前後であろうと考えられる。

摘 要

アサリ卵巣を組織学的に観察し、以下のような結果を得たので、既往の報告と比較検討した。

- 1) 卵巣の発育過程を仁の行動および卵柄の形態的变化から、1. 無卵柄期、2. 卵柄前期、3. 卵柄後期、4. 成熟卵期の4段階に区分した。
- 2) 無卵柄期の卵母細胞の核中には、中央が空胞化した染色仁が1個存在し、卵柄前期に卵柄が伸長し、核径が17.5 μ 程度に達すると内部は仁物質で埋まる。
- 3) 両性仁の状態から染色仁が放出され、さらに核から細胞質中に放出される。
- 4) 細胞質への放出の際、核膜は破壊される。
- 5) 放出後の仁の周辺には膜状構造物は見られなかった。
- 6) 放卵時の熟度は第1減数分裂の中期であると推論した。
- 7) 精巣卵について2型を観察した。

参 考 文 献

1. 雨宮 育作, 1931: 牡蠣の繁殖 生物学講座, 岩波書店, 東京.
2. 江上 信雄, 1949: 軟体動物に於ける雌雄性 (綜合抄録). 実験形態学 (第5輯).
3. 高 良夫, 1957: アサリの生殖巣についての二, 三の組織学的観察, 日水誌, 23 (7, 8), 394—399.
4. ———, 1959: 海中垂下飼育アサリの生殖巣の発育について, 長大水研報, 8, 202—206.
5. 菅野 尚・谷田専治, 1961: アカザラガイ *Chlamys forreri nipponensis* KURODA の増殖に関する研究, 第1報 生殖巣の周年変化について, 東北水研報 19, 135—141.
6. 三宅真祥・澄川精吾, 1959: 北部九州におけるムラサキイガイの産卵期 (第7報) 九電綜合研報 12, 119—124.
7. 宮崎 一老, 1957: 二枚貝の産卵発生及び仔介の習性について, 水産学集成, 東京.
8. OKA, T. B., 1940: Extrusion of a nucleolus *in toto*, Found in the Ovarian oocytes of *Holothuria menacaria*. Cytologia, 10 (3) 545—550.
9. OKADA, K., 1935: Some Notes on *Musculium heterodon* (PILSBRY), a Freshwater Bivalve. 1. The Genital System and the Gametogenesis. the Sci. Rep. of the Tohoku Imperi. Univ., 9 (4), 315—328.
10. 小島光雄・前木孝進, 1955: アコヤガイ (*Pteria martensii* DÜNKER) における生殖巣の発達について, 遺雜, 30 (4), 151—157.
11. 澄川 精吾, 1963: 有用貝類数種の比較生理生態学的研究, I, 生殖巣の周年変化に関する組織学的研究, 福女大生活科学, 6 (1).
12. 立石新吉・安達甫朗, 1957: アコヤガイ *Pinctada martensii* (DÜNKER) の生殖巣の周年変化に関する組織学的観察, 長大水研報, 5, 75—79.
13. 植本 東彦, 1958: アコヤガイ *Pinctada martensii* (DÜNKER) の生殖巣に関する研究, II, 周年変化及び卵抜き作業中の変化についての組織学的観察, 国真研報, 4, 287—307.
14. 和久井卓哉・小原昭雄, 1967: サロマ湖におけるホタテガイ *Patinopecten yessoensis* (JAY) の生殖巣の周年変化について, 北水研報, 32, 15—21.
15. WILSON, E. B., 1928: The cell in Development and heredity, MacMillan, N. Y.
16. 山本護太郎, 1947: ホタテガイ *Pecten (Patinopecten) yessoensis* JAY の生殖細胞形成並びに生殖時期, 日水誌, 12 (1), 21—26.

17. 山本喜一郎, 1954: 海産魚類の成熟度に関する研究, II. クロガレイの雌魚の成熟度について, 北水研報, **11**, 68—77.
18. YAMAMOTO, K., 1956: Studies on the Formation of Fish Eggs II. Changes in the Nucleus of the Oocyte of *Liopsetta obscura*, With Special Reference to the Activity of the Nucleolus. The Jor. of the Fac. of Sci., Hokkaido Univ., **12**(3), 375—390.
19. 山本喜一郎, 1958: 魚卵における卵黄形成, 細胞化学シンポジウム, **8**, 丸善, 東京.

P L A T E

Explanation of plate

All figures are photomicrographs from the section of the neck short clam oocyte.

PLATE I

- Fig. 1. Oocyte at the non egg stalk stage. $\times 1500$.
- Fig. 2. Oocyte at the early egg stalk stage. $\times 1500$.
- Fig. 3. Oocyte at the later egg stalk stage. $\times 1500$.
- Fig. 4. Oocyte at the mature egg stage. $\times 1500$.
- Fig. 5. Oocyte at the early egg stalk stage: a vacuole-like structure are showed the central part of karyosome in the germinal vesicle. $\times 3000$.
- Fig. 6. Oocyte at the early egg stalk stage: the karyosome stained with haematoxylin. $\times 3000$.

PLATE I

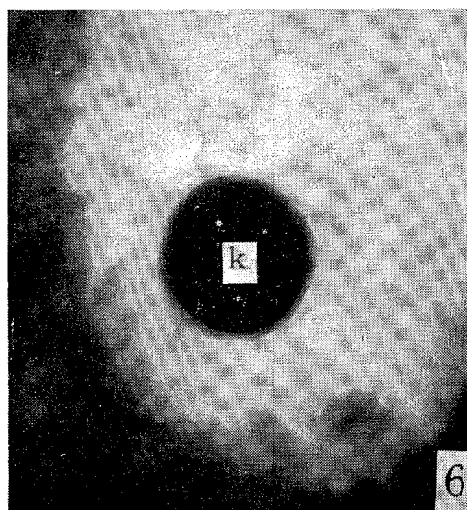
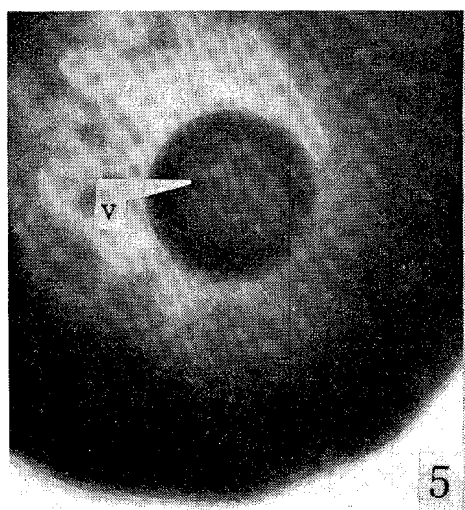
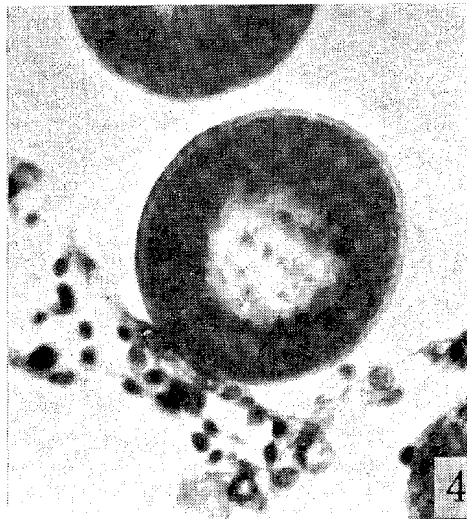
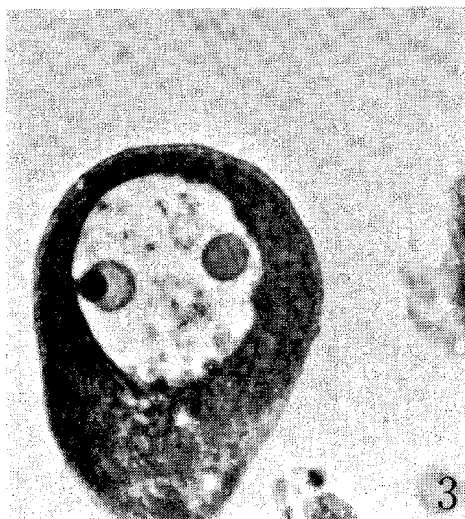
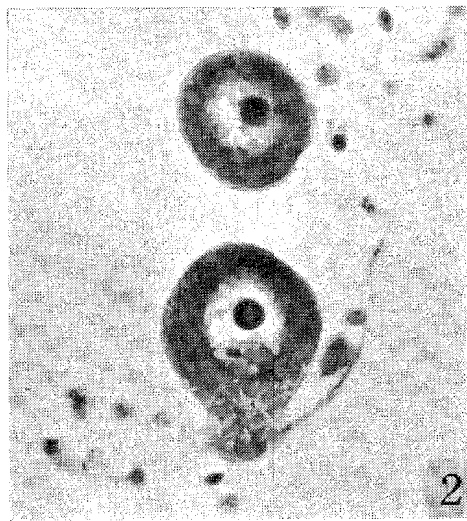


PLATE II

- Fig. 7. Same: the karyosome and plasmosome are united, showing amphicleolus. $\times 3000$.
- Fig. 8. Same: showing the karyosome which was extruded from the plasmosome. $\times 3000$.
- Fig. 9. Same: the karyosome puts pressure upon the nuclear membrane. $\times 3000$.
- Fig. 10. Same: the process of protrusion of the karyosome goes on. $\times 3000$.
- Fig. 11. Oocyte at the later egg stalk stage: showing space between the anterior hemisphere of the karyosome and the cytoplasm. $\times 3000$.
- Fig. 12. Same: showing the extruded karyosome completely from the germinal vesicle. $\times 3000$.

PLATE II

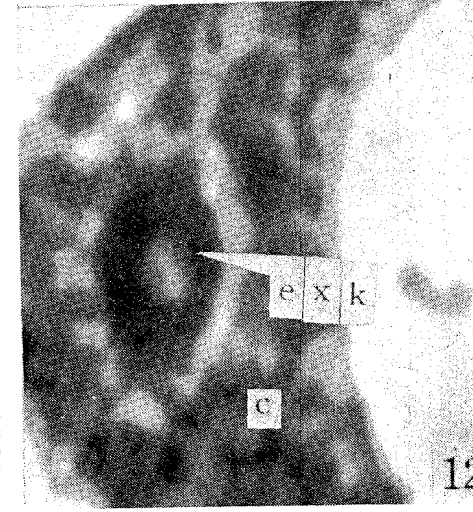
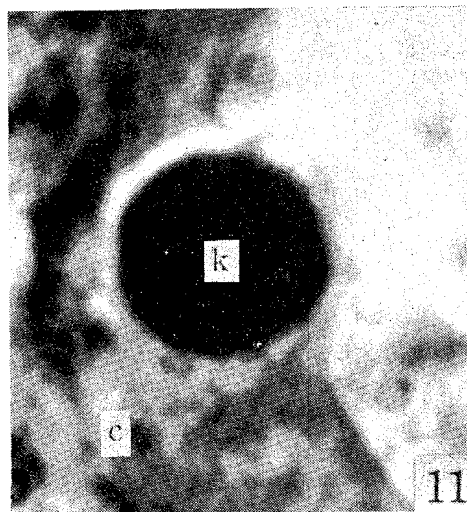
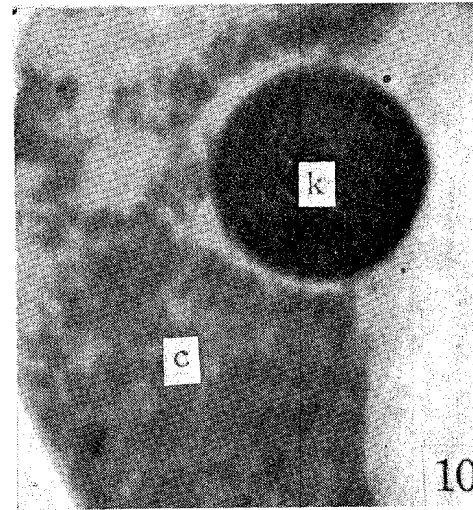
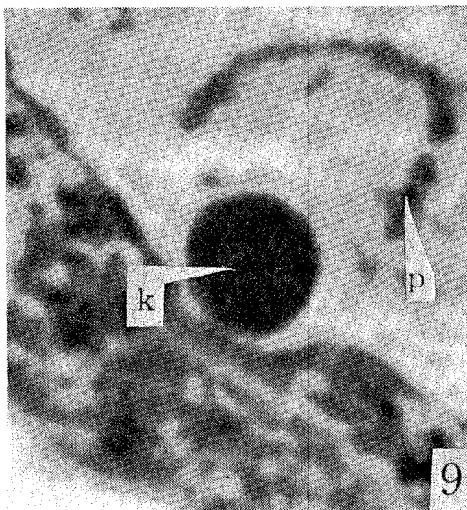
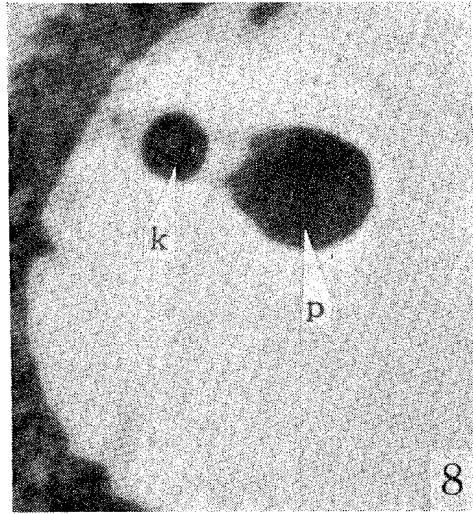
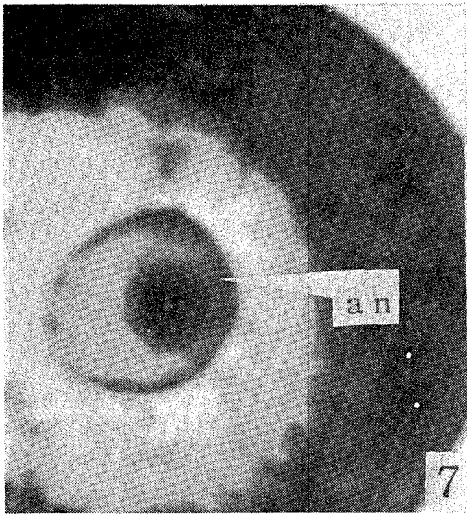


PLATE III

Fig. 13. Showing the testis-ovum. $\times 100$.

Fig. 14. Showing the testis-ovum. $\times 400$.

Fig. 15. Showing the follicular like tissue that is formed anew into seminiferous tube. $\times 400$.

PLATE III

