ウバガイの生殖周期に関する組織学的研究—II.

卵巣の季節的变化

高橋延昭・山本喜一郎

(1969年12月8日受理)

Histological Studies on the Reproductive Cycle of the
Surf Clam, *Spisula sachalinensis*—II.
Seasonal Changes in the Ovary

Nobuaki TAKAHASHI and Kiichiro YAMAMOTO*

1. Seasonal changes in the ovary of the surf clam, *Spisula sachalinensis*, collected in Yakumo, southern Hokkaido, were examined histologically. The process of the development of female germ cells was classified into (1) oogonium stage, (2) synaptic stage, (3) early yolkless stage, (4) late yolkless stage, (5) early yolk-formation stage, (6) late yolk-formation stage, and (7) maturation stage. Cytological characteristics of the female germ cells of each stage are described, especially concerning the formation of yolk and chorion in germ cells.

2. On the basis of cytological characteristics of female germ cells and of per cent ratio of oocytes of each stage, maturational processes of the ovaries were classified into (1) spent stage, (2) recovery stage, (3) early growing stage, (4) late growing stage, (5) maturing stage, and (6) spawning stage.

3. In the ovary, germ cells of the oogonium stage and of the synaptic stage are present embedded in the germinal epithelium throughout the year. In early October, oocytes of the yolkless stage begin to appear and grow gradually until December. Yolk formation in the oocytes begins in January, which causes a rapid growth of the ovary during the successive months. The ovary reaches its maximum size mostly in late April, but actual spawning is carried out during the period from late May to early June. The spawning is followed by a period of degeneration and disappearance of the remaining oocytes, which continues for one to two months, and then the ovary enters a period of gradual recovery for the next crop of oocytes.

4. An egg membrane appears at first at the place where the oocytes are protruded from the germinal epithelium, and no membrane can be found at the basal part of the oocyte buried in the germinal epithelium. At the early yolk-formation stage yolk globules make their appearance at first in the cytoplasm of the egg stalk and then are found distributed evenly throughout the whole cytoplasm of the oocyte.

前報¹⁾において北海道八雲産ウバガイの精子形成の概要とそれに基づいて判別した精巣成熟の周年変化について報じた。卵巣熟度も同様に卵形成の時期を基にした的確に判定し得ると考えられるが、この種の研究は腹足類のエゾアワビについての富田の報告²⁾以外は、詳しい研究報告は見当たらない。

著者らは、1968年より1969年にかけて、ほぼ毎月採集した八雲産ウバガイの卵形成の過程を組織学的に観察し、その知見に基づいて卵巣の成熟度を定め、その季節的变化を知ることができたのでここに報告する。

なお、本研究に用いた試料の採集に多大の便宜を計つてくださった函館水産試験場増殖部部長結城了伍博士、同増殖部魚貝科科長有馬健二氏、八雲漁業協同組合の各位および八雲町内浦一区の寺田善吉氏に厚くお

* 北海道大学水産学部 (Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Japan)

礼申し上げる。

また、本研究の費用の一部は北海道科学研究費補助金によつたことを記して謝意を表したい。

材料および方法

本研究には 1968 年 5 月より 1969 年 4 月まで、大体毎月一回、八雲沖で採集されたウバガイ *Spisula sachalinensis* (年令 3~15, 殻長 8.50~12.28 cm) を用いた。卵巣の通常の組織学的研究に用いた方法は前報¹⁾に記した精巣研究の場合と全く同様である。この他、10% ホルマリン固定、カーボワックス包埋、ズダンⅢ、ズダン・ブラック・B またはナイルブルー染色による脂質の検出、および過沃素酸-シッフ (PAS) 反応、アルデヒド-フクシン (AF) 染色による多糖類の検出をも併せて行つた。さらに 1% オスミウム酸固定後エポキシに包埋した試料について超薄ミクロームにより約 1 μ の切片を作り、アズールⅡ-メチレンブルー³⁾ またはズダン・ブラック・B⁴⁾ 染色をほどこして観察に供した。成熟期の卵の観察には位相差顕微鏡を用いた。

結 果

1. 卵 形 成

ウバガイの卵形成過程は次の 7 期に区分できる。(1) 卵原細胞期、(2) 対合期、(3) 無卵黄前期、(4) 無卵黄後期、(5) 卵黄形成前期、(6) 卵黄形成後期、(7) 成熟期。なお、本種の卵は成熟過程で著しい形状変化を示すが楕円形に近い形が多いので卵の大きさは短径×長径で示した。

(1) 卵原細胞期: 卵原細胞は単独または小群をなして生殖腺小囊の生殖上皮に埋つて周年認められる (Fig. 1)。この細胞は円形または楕円形で直径 3~5 μ の核とそれを囲む薄い細胞質からなっている。核内にはヘマトキシリンに濃染する一個の仁と不規則な網目状に分布する染色糸が観察される。

(2) 対合期: 卵母細胞の初期のもので核内で染色体の対合が行われる時期のものがこの期に属する。核内では卵原細胞に見られた仁は消失し、染色糸は初め三日月状の塊として核の一側に集まり (Fig. 2)、次いで太い紐状となり核内に広く分布するようになる。その後染色体は不明瞭となり、それと平行して一個の不規則な球形の仁が核膜に接して出現してくる (Fig. 3)。この期の卵母細胞はほぼ球形を呈し、大きさも短径 7~10 μ 、核径 6 μ 、仁は約 2 μ となる。前期の細胞と同様に生殖上皮中に小群をなして存在する。

(3) 無卵黄前期: この期の卵母細胞は洋梨形を呈し、大きさ 10~18 μ ×10~30 μ となり生殖上皮中に縦に配列している。核はほぼ円形、直径 7~10 μ で卵母細胞のほぼ中央に位置するようになる。仁は 1 個で大きく、径 3 μ の正しい球形をなし、卵成長にともなつて核膜から離れて次第に核の中央に位置するようになる。細胞質はまだ染色性に乏しい (Fig. 4)。

(4) 無卵黄後期: この時期の卵母細胞はさらに伸長して生殖上皮に埋まる卵柄部と、小囊腔中へ突き出た突出部とが識別されるようになる。さらに、突出部の卵表に沿つて卵膜の形成が起るとともに、細胞質がヘマトキシリンに次第に濃く染まるようになる。卵膜は厚さ 0.8 μ で内外二層よりなり、外層はヘマトキシリン、アニリンブルーまたは AF に染まり、内層はエオシンに染まる。一方、卵膜に接する細胞質中に微小な胞状体が出現し一層に並ぶ。これらの胞状体はヘマトキシリン好性で PAS 反応、AF 染色に陽性の物質を含み、この期以後成熟期までその配列に著しい変化をみせず卵の表層に認められる。また、アズールⅡ-メチレンブルー染色で強く青緑色に染まる物質が核の周辺および卵柄部の細胞質に出現する。この期の卵母細胞の大きさは 12~25 μ ×28~50 μ で、核も肥大しこの期の後半までには直径 23 μ までに達する。仁は核中央に位置して約 6 μ を示し、前期より大きくなる (Fig. 5)。

(5) 卵黄形成前期: 卵母細胞は前期よりも急速に伸長して、22~40 μ ×40~70 μ となる。小囊腔への突出は一層顕著になり卵膜をもつ突出部と、生殖上皮に埋まる卵柄部とがさらに明瞭に区別される。核は卵柄部付近に位置し直径 23 μ 、仁は 6~7 μ でアズールⅡ-メチレンブルー染色で濃青色に染まる域と淡青色を示す域とが認められ、前者の中央部には時々空胞が存在する。この期に油球および卵黄球の形成が始まる。

油球は 10% ホルマリン固定、また 1% オスミウム酸固定でズダン・ブラック・B、ナイルブルーに染色され不定形の物質としてあらわれ、主に卵柄部細胞質中に存在する。油球の出現より遅れて、卵黄球がヘマトキシリンに濃染する顆粒として小囊外壁に接する細胞質付近にあらわれる。その後卵黄球は卵柄部に大量に蓄積される (Fig. 6)。

(6) 卵黄形成後期: 卵母細胞はさらに伸長し、径 $25 \sim 43 \mu \times 65 \sim 110 \mu$ となり典型的な洋梨形を呈する。油球および卵黄球は細胞質全体に均一に分布するに至る。核は突出部の細胞質にみられるようになるが、その大きさや仁の様相は前期のそれと変りない。卵膜は卵柄基部を除く卵母細胞の表面を被っている (Fig. 7)。卵母細胞の卵柄部に接して不定形の核を有する哺育細胞が観察されるがホタテガイ *Patinopecten yessoensis*⁵⁾ で知られる卵母細胞との多核質形成は本種では認められない。

(7) 成熟期: この期の初めには卵柄部はまだ生殖上皮層と連絡しているが、その後卵母細胞は上皮層から分離して球形となり小囊腔内に脱落する。核は再び肥大して直径 32μ に達する。アズール II-メチレンブルーで濃青色を示す仁は次第に縮少しつつ核膜に近づき、やがて消失する。一方、淡青色を示す仁も核内で不明瞭になつて消失する。この期の卵径は 60μ である (Figs. 8, 9)。OKADA⁶⁾ は *Muculium heterodon* では卵が生殖上皮より遊離する際、生殖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ことを報告しているが、この研究では卵門の存在を認めることができなかった。

II. 卵巣熟度

先に述べた各発達段階の卵細胞の細胞学的特徴に基いて、八雲産ウバガイの卵巣の成熟過程を次の 6 段階に区分した。(1) 放卵終期、(2) 回復期、(3) 成長前期、(4) 成長後期、(5) 成熟期、(6) 産卵期。なお、卵母細胞組成の計測は各個体とも腸管付近から得た 2 つの卵巣の組織切片について行ない、それぞれ 100 個の卵母細胞の発生時期を調べ各時期の卵母細胞の百分比で表示した。

(1) 放卵終期: 卵巣小囊は熟卵放出により大体空虚となるが、幾つかの小囊にはなお多数の無卵黄期の卵と少数の崩壊途上の卵黄形成前および後期、成熟期の卵が残存している。その後喰細胞が残存生殖細胞を取り囲むようになる。卵巣は萎縮し、卵巣小囊壁は厚くなり外壁は繊維性組織に富み、内壁の生殖上皮も明瞭となる。卵巣は中腸腺および腸の付近に小塊をなして散在し、また杆晶体を包む薄い層として認められる (Fig. 10)。

(2) 回復期: 小囊腔内の残存卵の吸収が終了し、生殖上皮内には初め卵原細胞期および対合期の卵のみが認められるが、次いで無卵黄期の卵も現われる。そしてこの期の後半には無卵黄期の卵は全卵母細胞の 20% を占めるに至る。小囊壁は結合組織に富みその厚さは放卵終期と大差はない (Fig. 11)。

(3) 成長前期: この期の初めには無卵黄前期の卵が卵巣の大半を占めているが、終りには無卵黄後期の卵が主群となり、さらに卵黄形成前期の卵も 20% 程度出現する。中腸腺および腸管付近に小塊状に散在していた卵巣はややその大きさを増し上記諸器官を被い始める (Fig. 12)。

(4) 成長後期: 卵巣中には初め卵黄形成前期の卵が多いが、後に卵黄形成後期の卵が主群となり、成熟期の卵も少数みられるようになる。卵巣は急速に肥大して中腸腺、腸管および杆晶体を包み、足の基部まで達する。卵巣小囊外壁は非常に薄くなるが、生殖上皮細胞はその高さを増すように見える (Fig. 13)。

(5) 成熟期: 成熟期の卵が 20~80% を占める時期で、卵巣小囊腔内に生殖上皮より遊離した成熟期の卵が多数観察される。卵巣は内臓を包む厚い組織層として認められる。生殖上皮は卵の脱落后扁平になる。卵巣を傷つけると成熟期の卵を含む乳白色の液が流出する (Fig. 14)。

(6) 産卵期: 産卵の行なわれる時期で小囊腔内の熟卵は漸次減少する。卵巣内には、成熟期の卵を有する小囊と成熟期の卵のほとんど見られない小囊とがある。卵巣は萎縮し始め小囊壁は徐々に厚さを増す (Fig. 15)。

III. 卵巣熟度の周年変化

卵巣熟度の周年変化は Table 1 に示した。5 月中旬に採集した個体では卵巣内の全卵母細胞の 80% が成熟期の卵で占められ卵巣は成熟期に該当していたが、5 月下旬から 6 月上旬にかけて成熟期の卵は減少し、

Table 1. Maturity in the female surf clam (*Spisula sachalinensis*) at every month.

Date	Stage	Spent stage	Recovery stage	Early growing stage	Late growing stage	Maturing stage	Spawning stage
'68, V, 23						3	
" VI, 14							3
" VII, 17		2	1				
" VIII, 20			3				
" X, 3			2	1			
" XI, 8				3			
" XII, 18				3			
'69, I, 30				3			
" II, 24					3		
" III, 19					3		
" IV, 29						3	

Figure shows number of individuals.

この時期に産卵が行われていることが示唆された。7月には成熟期の卵が約 5% と著しく減少するのに対し、対合期の卵母細胞が増加し、卵巣は放卵終期の組織像を示した。残存生殖細胞は喰細胞に取り囲まれ退化吸収の途上にあつた。8月の卵巣内には残存卵は殆んど認められなくなり、対合期、無卵黄前期の卵が卵巣卵の大部分を占めていた。その後、10月中旬まで卵巣はその状態を維持し回復期の状態にあつた。11月になると無卵黄後期の卵が 22% を占める個体もあらわれ、成長前期の特徴を示した。12月になるとさらに無卵黄後期の卵が 43% と増大したが、1月中にはほぼこの状態が続き卵巣は成長前期の緩慢な発達を示していた。2月には卵黄形成前期の卵が 38% を占め、少数の卵黄形成後期の卵をもつ個体もみられた。さらに3月になると卵巣卵の主群は卵黄形成前期の卵に移り、卵黄形成後期の卵も 18% と増加するが卵巣はなお成長後期の状態にある。ついで4月に成熟期の卵の急速な増加が起り、小嚢腔内には遊離した成熟期の卵が認められ、卵巣は成熟期の状態に達する。この状態は5月中旬まで続き、5月下旬より6月上旬にかけて産卵が行なわれる。

考 察

斧足類の卵形成については OKADA⁶⁾ の *M. heterodon* に関する研究、山本(護)⁵⁾ のホタテガイ、小島・前木⁷⁾ のアコヤガイ *Pteria martensii*、LOOSANOF⁸⁾ の *Ostrea edulis*、および西川ら⁹⁾ のアサリ *Tapes japonica* に関する報告がみられる。OKADA⁶⁾ と西川ら⁹⁾ は卵細胞の発達をかなり詳しく記述し、卵形成時期の区分を行つているが、卵成熟中の最も重要な現象の一つである卵黄形成¹⁰⁾ については殆んどふれておらず、従つて卵形成時期の区分も幾分大まかになされている。この研究では発達にともなう卵細胞の一般的形態変化に加えて卵黄形成時期の細胞学的特徴も考慮して、卵巣卵の成熟過程を7期に区分した。

ウバガイの卵形成過程にみられる特徴の一つは、*M. heterodon*⁶⁾ でみられるように、卵膜形成が無卵黄後期に卵細胞の小嚢腔へ突出した部位から始まり、卵母細胞が成長するにつれて次第に卵柄部を被うことである。これに反しホタテガイ⁵⁾、アサリ⁹⁾ などでは卵膜形成は先ず卵柄部で始まり、次第に先端部を被うて行く。本研究で、無卵黄後期に卵膜に接する部分の細胞質に小胞が発見された。この小胞はその分布状態、染色反応などの特性からして魚卵の表層胞¹⁰⁾ に相当するものと思われる。さらに、卵黄球は卵黄形成前期に小嚢外壁に接する卵細胞質に始めて出現し、その後卵柄部細胞質を埋めた後、次第に細胞質全体に分散して行く。また、卵柄部細胞質に卵黄球より早く出現する油球は卵黄球とは異なり、ただちに細胞質全体に分散する。このように本種の卵黄形成は油球が卵母細胞質中に先ず均一にあらわれ、次いでこの油球間に卵黄球の

あらわれるエゾアワビ *Haliotis discus hannai*²⁾ とは著しく異なる。このような油球、卵黄球の出現状態および卵成熟にともなうこれらの動きについては、従来殆んど記述されていないが、卵黄形成は卵成熟の際見られる重要な現象の一つであり上記諸点は今後大いに注目されるべきものと考ええる。

卵巣成熟度の周年的推移の知見を得るのに、従来一般組織学的検査で卵巣の成熟度を決定する方法^{11~14)}、一般組織学的検査および卵細胞の細胞学的特徴に基いて卵巣の成熟度を決定する方法^{2,15~19)}などが行われてきた。本研究では後者の方法に加えて卵巣卵の各時期の組成比率も考慮に入れて卵巣の成熟度を決定した。結果は Table 1 に示されたように卵巣成熟度の周年的推移は非常に明確にされた。

本研究から八雲産ウバガイの産卵は5月下旬から6月上旬の短期間に行われることが明らかになった。木下¹⁴⁾は北海道各地におけるウバガイの産卵期を調べ、北海道南部の上磯地方では5月下旬~6月中旬、厚岸7月上旬~9月上旬と報告している。従つて八雲産のウバガイは上磯産とほぼ同じ産卵期を有するといえる。ある地方のアサリ¹⁸⁾は春秋の2回産卵を行うとされているが、ウバガイはムラサキガイ¹⁸⁾ *Mytilus edulis* と同様、年1回晩春に産卵を行う。

また、同じ種類でも生殖細胞の発達は地域的に幾分異なることが報ぜられている。例えば青森県陸奥湾のホタテガイ⁵⁾の卵細胞は産卵直前の短期間に急激に発達するが、北海道サロマ湖のホタテガイ¹⁶⁾では休止状態が短かく卵細胞は緩やかな発達を行う。本種でもこのような地域的差異がみられる可能性があるが、この問題は将来各地方のウバガイの産卵期を調べて明らかにするとともに、更らにそれを支配する要因やこのような差異の生ずる機構についても研究を進めてみたいと考えている。

要 約

北海道八雲産ウバガイの卵巣成熟度の周年変化について組織学的研究を行い次の結果を得た。

1. 卵細胞の成熟過程はその細胞学的特徴の変化に基いて次の7期に区分できる。(1) 卵原細胞期、(2) 対合期、(3) 無卵黄前期、(4) 無卵黄後期、(5) 卵黄形成前期、(6) 卵黄形成後期、(7) 成熟期。
2. 卵巣の熟度は卵細胞の発達度合および卵巣卵組成比率に基いて次の6期に区分できる。(1) 放卵終期、(2) 回復期、(3) 成長前期、(4) 成長後期、(5) 成熟期、(6) 産卵期。
3. 8月上旬より10月中旬まで回復期、10月下旬より1月まで成長前期、2月より4月中旬まで成長後期、4月下旬より5月中旬まで成熟期、5月下旬より6月上旬の産卵期、7月一ばいまでの放卵終期の卵巣が認められた。
4. 本種の卵細胞では卵膜は小囊腔への突出部にあらわれ、生殖上皮に埋る卵柄部は常に卵膜を欠く。また、卵黄は卵黄形成前期の卵の卵柄部細胞質中に出現し、その後細胞質全体に均一に分布するようになる。

文 献

- 1) 高橋延昭・高野和則: 本誌, **36**, 337~344 (1970).
- 2) 富田恭司: 北水試報, **7**, 1~7 (1967).
- 3) K. R. RICHARDSON, L. JARETT, and E. H. FINKE: *Stain Techn.*, **22**, 313~323 (1960).
- 4) S. M. MCGEE-RUSSELL and N. B. SMALE: *Quart. J. micr. Sci.*, **104**, 109~115 (1963).
- 5) 山本護太郎: 本誌, **12**, 21~26 (1947).
- 6) K. OKADA: *Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ., Biol.*, **9**, 315~328 (1935).
- 7) 小島吉雄・前木孝道: 遺雑, **30**, 151~157 (1955).
- 8) V. L. LOOSANOF: *Biol. Bull.*, **122**, 86~94 (1962).
- 9) 西川昇平・樺田 昭・福岡秀雄: 水大研報, **16**, 23~28 (1967).
- 10) 山本喜一郎: 細胞化学シンポジウム, **8**, 丸善, 東京 (1958).
- 11) 斎藤勝男: 北水月報, **20**, 425~439 (1963).
- 12) 高 良夫: 本誌, **23**, 394~399 (1957).
- 13) 杉浦靖夫: 本誌, **25**, 1~6 (1959).
- 14) 木下虎一郎: 北水月報, **20**, 1~28 (1963).
- 15) V. L. LOOSANOF: *Biol. Bull.*, **82**, 195~206 (1942).

- 16) 和久井卓哉・小原昭雄: 北水研報, **32**, 15~22 (1967).
- 17) 立石新吉・安達甫朗: 長大水研報, **5**, 75~79 (1957).
- 18) 澄川精吾: 福女大生科学, **6**, 1~39 (1963).
- 19) 菅野 尚・谷田専治: 東北水研報, **19**, 135~141 (1961).

Explanation of Plates I and II.

Plate I.

Photomicrographs of female germ cells in various maturational stages. Figs. 1~8, 1μ sections from the materials fixed in 1% osmic acid, embedded in Epon, stained with azur II-methylene blue; Fig. 9, phase-contrast photomicrograph of a fresh oocyte.

- Fig. 1. Oogonia embedded in the germinal epithelium. $\times 2400$.
- Fig. 2. Oocytes in the synaptic stage, showing aggregated chromatins (arrows) in the nucleus. $\times 1600$.
- Fig. 3. Oocytes in the latter phase of the synaptic stage. Chromatin-nucleolus in the nucleus of each oocyte is located close to the nuclear envelope. $\times 1600$.
- Fig. 4. Oocytes in the early yolkless stage, each with a large conspicuous nucleolus in the nucleus. $\times 1600$.
- Fig. 5. Oocytes in the late yolkless stage, a part of the oocyte being protruded into the ovarian lumen. Note the appearance of vesicles (arrow) in the peripheral ooplasm along the free surface of the oocyte. $\times 800$.
- Fig. 6. Oocyte in the early yolk-formation stage. Yolk bodies which are seen as black round particles in the figure are observed in the basal region of the cytoplasm. Oil droplets shown as clear vesicles are distributed evenly in the cytoplasm. $\times 760$.
- Fig. 7. Oocyte in the late yolk-formation stage. Yolk bodies are distributed throughout the cytoplasm. $\times 760$.
- Fig. 8. Oocyte in the maturation stage. Note the detachment of the oocytes from the wall of the ovarian tubule. $\times 760$.
- Fig. 9. A fresh oocyte in the maturation stage. $\times 320$.

Plate II.

Photomicrographs of sections through ovaries in various stages of maturation. Figs. 10 and 14, Bouin-fixed and Delafield's hematoxylin-eosin stained; Figs. 11~13, and 15, Bouin-fixed and Heidenhain's hematoxylin-light green stained. $\times 120$.

- Fig. 10. Ovary in the spent stage.
- Fig. 11. Ovary in the recovery stage.
- Fig. 12. Ovary in the early growing stage.
- Fig. 13. Ovary in the late growing stage.
- Fig. 14. Ovary in the maturing stage.
- Fig. 15. Ovary in the spawning stage.

Plate I.

Plate II.