母川回帰シロサケの卵成熟過程*

長内 健治・佐藤 隆平・平井 説郎

(1972 年 7 月 13 日受理)

On the Maturation of the Oocytes in the Chum-salmons
Homing to the Parent River

Kenzi OSANAI**, Ryuhei SATO*** and Setsuro HIRAI****

The process of oocyte maturation was observed in the chum-salmons, *Oncorhynchus keta*, captured at Otsuchi Bay and Otsuchi River, Iwate Prefecture, Japan, during the months of November 1969 and 1970. When the female salmon arrived at Otsuchi Bay, the oocytes contained in their ovaries were either in the end of the growth period of oogenesis or in the beginning of the maturation period. From the time of arrival in the bay until the fish entered the river, a series of changes proceeded in the oocytes. The coalescence of yolk globules was first observed, followed by the migration and segregation of oil drops, the development of cortical cytoplasm, the formation of the blastodisc, the thickening of the chorion around the micropyle, the disappearance of the germinal vesicle, the meiotic division of the nucleus, and the rupture and shrinkage of the follicular envelopes. From the observation on oocyte structure, the maturation period of the oocytes can be divided into four stages, A, B, C and R. Because fish possessing fully ripe eggs in the body cavity were captured in the bay, it is ascertained that the oocytes can complete their maturation process within the bay prior to ascending the river.

母川への回帰途上にあるシロサケの行動はその性的成熟と密接な関係を持つと予想されるが、この関係の解明にはそれに先立つて生殖巣の成熟変化の過程が明らかにされている必要がある。本研究はこのような観点から産卵のため沿岸に回帰して来たシロサケが母川に遡上するまでの間に見られる卵母細胞の成熟変化を追跡したものである。

実 験 方 法

1969 年および 1970 年の 11 月岩手県大槌湾内の 3 地点および大槌川において捕獲されたシロサケ *Oncorhynchus keta* 雌の腹部を切開してとった卵母細胞について観察した。腹腔から取り出した卵巣片または卵母細胞の一部を生理塩溶液（サケ卵用 M/7 等調塩溶液）中に保存し生体観察に供し、他は BAKER のホルマリン・塩化カルシウム溶液¹⁾または BOVIN 液で固定した。生卵および固定卵について外見を観察したほか、固定卵について内部構造を観察した。内部の概観は、未熟卵母細胞については動物極（卵胞組織を通して白斑として見られる動物極細胞質で判定）を通る面で切断し、また熟卵については動物極（卵門のまわりに白色の環が見られる）と油滴層を通る面で切断して実体顕微鏡で観察した。さらに、細部の観察は切

* 本研究は日米科学協力研究「シロサケ母川回帰の研究」(5R 001) による。

** 岩手大学教育学部 (Faculty of Education, University of Iwate, Morioka, Japan)

*** 東北大学農学部水産学科 (Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Tōhoku University, Sendai, Japan)

**** 東北大学理学部生物学科 (Biological Institute, Faculty of Science, Tōhoku University, Sendai, Japan)

片標本について行なつたが、切片の作製はパラフィン法またはセロイジン・パラフィン法によつた。切片は DELAFIELD のヘマトキシリン・エオシンで染色して観察に供したほか、無染色標本を位相差法で観察した。

卵母細胞の成熟変化過程をこまかに追跡する目的で *in vitro* での成熟誘起実験も試みた。成熟誘起には脳下垂体およびプロジェステロン（東京化成製）を用いた。脳下垂体はシロサケ成体から取出したものをガラスホモジナイザーで少量の生理塩溶液と共にホモジネートしたのち、1個あたり 20 ml の生理塩溶液に懸濁した。プロジェステロンは少量のエチルアルコールに溶解したのち生理塩溶液で希釈した。卵母細胞 20-30 個を含む卵巣片をこれらの媒液 20 ml に浸し、15-20°C で 20 時間以上置いたのち、卵母細胞を BAKER 液で固定し、その成熟状態を調べた。上記の脳下垂体懸濁液および 10 µg/ml 以上の濃度のプロジェステロン溶液内で成熟促進が認められ、成熟の種々の段階にある卵母細胞が得られた。

結 果

1. 卵母細胞の成熟変化：大槌湾で捕えられたシロサケの卵巣卵は、その大きさおよび表層部の構造からみて、卵子形成の成長期をほぼ完了し成熟期またはその直前あるとみなされる。卵巣卵および *in vitro* での成熟誘起卵についての観察から、成熟期の卵母細胞の発達過程を 4 段階に区別した。

Fig. 1. Vertical section of salmon oocytes. A. Stage A; B-E, Stage B; F, Stages C and R. *n*, germinal vesicle; *o*, oil drop; *yg*, yolk globule; *ys*, fluid yolk. ($\times$ ca. 5)

発達段階 A 卵母細胞はすべて沱胞組織によつて包まれている。沱胞組織は卵膜に接して認められる沱胞上皮 (follicular epithelium) とその外側を包む沱胞英膜 (theca folliculi) の二層からなる。沱胞上皮は一層に配列した沱胞層であり、英膜は扁平細胞からなり、ここには血管が分布している。外見的には卵全体がほぼ一様なうすいオレンジ色を呈し、BAKER 液固定卵では動物極に円状の白色部分が卵膜を透して認められる。これは動物極細胞質の部域で、この部域を覆う卵膜に卵門が存在する。卵膜は厚く、魚卵に共通な放射構造を持つ。動物極細胞質は楔状に卵の内方に入り込み卵黄球層に接している。卵核胞 (germinal

vesicle) は動物極細胞質内の動物極寄りに認められる。卵表層部では卵表に接して表層粒 (cortical granules) および表層胞 (cortical alveoli) が存在する。表層胞は表層全体にみられ、ほぼ一層に並んでいる。表層胞および表層粒の間を埋めるべき表層細胞質 (cortical cytoplasm または cortical protoplasm) は未だ発達せず、表層胞は卵黄球層に直接接している。卵細胞の内層を占める卵黄球は周辺部では比較的大形で、中心部に向つて次第に小形になつていく。オレンジ色素を含む油滴は一部は表層部にも見られるが大部分は中心域の小形卵黄球に混在している (Fig. 1 A)。

発達段階 B: この時期の卵母細胞も段階 A のものと同様に卵胞莢膜および卵胞上皮に包まれている。肉眼で見た時、卵はより濃い赤味を帯びたオレンジ色を呈し、一部の細胞では色素が偏在している。卵膜および卵表層部の構造も段階 A とほぼ同じであるが、内部の卵黄域で大きな変化が見られる。卵黄球は大形化し、中心域では互に融合して均質透明な卵黄液に変化しつつある。この卵黄球の融合と平行して中心部の卵黄塊に押し上げられるような形で油滴が卵周辺方向に移動する。この過程で油滴は一箇所に集積する傾向を示す (Fig. 1 B-E)。卵膜を透して見た時卵色が濃く見えるのは油滴が移動して卵表に近くなったためであろう。記載の便宜上この段階を卵黄の融合の程度からさらに 4 段階に細分した。B1, B2, B3 および B4 はそれぞれ順序に卵黄融合部域が細胞の直径の $1/3$ 以下, $1/3-1/2$, $1/2-2/3$ および $2/3$ 以上であることを示す。

Fig. 2. Membranous envelopes surrounding the immature (A and B) and ripe (C) oocytes. *e*, theca folliculi; *f*, follicular epithelium; *m*, chorion. (× ca. 230)

Fig. 3. Structure of the oocyte cortex. A. Stage A; B, ripe egg (Stage R). *ca*, cortical alveolus; *cc*, cortical cytoplasm; *cg*, cortical granule; *o*, oil drop; *yf*, fluid yolk; *yg*, yolk globule. (× ca. 250)

発達段階 C および発達段階 R (成熟卵) 発達段階 R の卵は受精可能ないわゆる完熟卵で、すでに卵胞組織を脱して腹腔に出されている。卵胞莢膜は腹腔の背方に縮小している。卵は外見上では淡いオレンジ色で、動物極に白色の環が見られる。この環は卵膜が卵門周辺部で薄く、その周辺で幾分厚くなっていることによる。環の中心部には卵門がある。卵膜の外側に卵胞細胞の付着は全く見られない。表層細胞質は卵黄層を覆つて全表層で発達し、表層胞と表層粒を包んでいる。この細胞質は動物極側で厚く、胚盤原基となつていくが、他の部域では薄い。表層細胞質の周縁部には卵門付近を除き表層胞が一層に並び、表層胞の囲りに

は大小さまざまな表層粒が認められる (Fig. 3B)。油滴は表層部へ移行し表層細胞質層と接しているが、その大多数は一極に偏って集積している (Fig. 1F)。油滴の集積する位置と卵の極性との間には相関が認められない。

発達段階Cは発達段階BからRへの移行期で細胞の構造はR段階のものと区別できない。しかし、未だ卵膜に包まれ腹腔へ脱出していない点で区別される。

卵母細胞の動物極付近の卵膜と卵胞層の組織像を Fig. 2 に示した。発達段階AおよびBのものでは卵膜に接して卵胞細胞が認められるが、一部のものではその配列が著しく緩くなっている (Fig. 2B)。発達段階Cのものでは原本作製の途中で卵胞層が卵膜から離れ、また卵胞細胞層も認められない。これは段階BからCに移る過程で卵膜と卵胞細胞との間の結合が弱まることを示すものであろう。

2. 大槌湾に來遊したシロサケの卵成熟度: 1969 年および 1970 年 11 月岩手県大槌湾内の 3 地点および大槌川で捕えた 23 個体についてその卵母細胞の大きさと発達段階を Table 1 に示した。成熟度の進行と卵径の増加の間に明瞭な相関関係を認め難い。発達段階の進んだものでは卵径が大きいようにも見受けられるが、この場合の卵の大きさは成熟の度合よりも母体の大きさに左右されていると思われる。湾口に到達した個体が卵巣の成熟を完了するまでの間に卵母細胞の容積はほとんど増加しない。したがって、大槌湾に到達した時回帰シロサケの卵母細胞はその成長期をほぼ終り、成熟期またはその直前にあると見なされる。これらの個体が川に遡上するまでの間に一連の成熟変化、すなわち、卵黄球の融合、油滴の移動・集積、卵

Table 1. Developmental State of Oocytes in the Salmon collected in 1969-1970

Collecting		Individual No.	Diameter of Oocytes (mm)*		Stage of Oocyte
Date	Station		Short	Long	
Nov. 22, 1969	Suzume-jima	1	6.73±0.672	8.01±0.421	A
		2	6.76±0.220	8.15±0.586	A
		3	5.83±0.186	7.13±0.312	A
		4	6.42±0.114	7.70±0.376	A
		5	5.77±0.267	6.86±0.250	B2
		6	6.12±0.301	6.76±0.274	A
		7	4.79±0.146	5.86±0.351	A
Nov. 22, 1969	Otsuchi-river	11	6.62±0.223	7.85±0.347	R
		12	6.55±0.212	7.98±0.510	R
		13	6.41±0.270	7.95±0.436	R
Nov. 29, 1969	Minamikage	21	6.95±0.243	8.32±0.252	R
		22	5.72±0.216	6.87±0.375	A-B1
		24	6.64±0.410	8.29±0.206	A
		26	7.14±0.176	8.39±0.264	R
Nov. 7, 1970	Horai-jima	101	5.75±0.372	7.12±0.292	B1
		102	5.20±0.213	6.82±0.347	A
		103	5.05±0.176	6.03±0.169	B1
Nov. 28, 1970	Suzume-jima	111	6.24±0.285	7.32±0.224	C
		112	5.74±0.267	6.98±0.347	A-B1
		113	6.62±0.389	8.12±0.258	C
		114	6.61±0.217	7.42±0.323	B2-B3

* Average±standard deviation

表層細胞質の発達、胚盤原基の形成、卵門付近における卵膜の環状肥厚の形成、卵核胞の崩壊と成熟分裂の進行、卵胞層からの卵の脱出と卵胞組織の縮小などを経て受精可能な成熟卵が発達する。湾口付近の地点(南陰)においても成熟卵を持つ個体が捕獲されているので、河口に達する以前に湾内において卵の成熟が完了し得ることは確かである。また、河口に比較的近い地点(雀島および蓬萊島)においてより未熟な個体(発達段階A)が捕獲されていることは湾内に入った個体が必ずしも直ちに河口に向うものではなく、しばらく湾内を回遊することを示すものであろう (Fig. 4, Table 1)。

Fig. 4. Stations where the fishes were collected. 1, Minamikage; 2, Suzume-jima; 3, Hôrai-jima; 4, Otsuchi River.

考 察

メダカ、ホトケドジョウ、クロガレイなどの卵子形成過程で卵核胞が動物極へ向って移動を開始し表層胞が表層部に一層に配列するようになるのは成長期(卵黄形成期)の終期においてであり、その後表層細胞質が発達して成熟卵の表層が完成することが報告されている²⁻⁴⁾。これらの種の卵母細胞との比較から、大槌湾に到達した回帰シロサケ雌はすでに卵母細胞の成長期をほぼ終っているものと判断された。

山本⁵⁾は北海道石狩川産のシロサケ雌について卵巣の構造および卵成熟・排卵過程を報告している。山本の報文における9月下旬石狩川河口付近で得られた個体A Iは本論文における発達段階Aの個体に、11月下旬に捕獲し2-3週間蓄養した個体A IIは発達段階C、B Iは段階CからRへの移行期、12月初旬石狩川上流で得られたB II個体は発達段階Rのものにそれぞれ相当するものと思われる。山本の報告には発達段階Bに相当する記載が無く、卵黄顆粒の合一は卵核胞の動物極移行に伴い植物極から動物極へ進むとしているが、本観察から卵黄球の融合は卵の中心部から始まることは明らかである。大槌湾では川に遡上する前にすでに卵の完熟が認められるが、これは湾が深くかつ大槌川での遡上距離が短いことを考え合せると、大槌湾は遡上距離の長い河川における下流域の「川」に相当するものと思われる。

要 約

1969年および1970年11月岩手県大槌湾および大槌川で捕獲されたシロサケ雌について卵母細胞の成熟過程を観察した。大槌湾に到達したシロサケでは卵母細胞はすでに卵子形成の成長期を終り、成熟期またはその直前にある。湾に入ってから大槌川(産卵場)に遡上するまでの間に卵母細胞は卵黄球の融合、油滴の移動・集積、表層細胞質の発達と胚盤原基の形成、卵門周辺における卵膜構造(環状肥厚)の完成、卵核胞崩壊と成熟分裂の開始、卵の卵胞層からの脱出と卵胞組織の縮小などの変化を経て受精可能な成熟卵に発達する。これらの観察結果をもとに成熟期の卵母細胞の発達過程を4段階に区分した。大槌湾では川に遡上する以前に卵は完全に成熟し得る。

文 献

- 1) J. R. BAKER: Cytological Technique, 2nd ed. Methuen, London. (1956).
- 2) K. AKETA: *Embryologia*, 2, 63-66 (1954).
- 3) K. OSANAI: *Sci. Rep. Tohoku Univ., Ser. IV (Biol.)*, 22, 181-188 (1956).
- 4) K. YAMAMOTO: *J. Fac. Sci., Hokkaido Univ., Ser. IV (Zool.)*, 12, 362-373 (1956).
- 5) 山本 正: 魚雑, 4, 182-192 (1955).