海産無脊椎動物の生殖腺の成熟に関する研究—Ⅶ.

イワガニの卵巣にみられる季節的变化*

千葉 晃・本間 義治

(1971 年 9 月 20 日受理)

Studies on Gonad Maturity in Some Marine Invertebrates—VII.

Seasonal Changes in the Ovary of the Lined Shore Crab

Akira CHIBA** and Yoshiharu HONMA**

The present paper deals with the seasonal changes in the ovary of the lined shore crab, *Pachygrapsus crassipes*, known as a common crab which is widely distributed in the rocky beaches of the Japanese Islands. The animals used in the present study were collected along the coast of Niigata City facing the Japan Sea, and the period of collection extended from April to November, 1969. By means of histological examinations and gono-somatic index, the seasonal changes found in the ovary were classified into six stages. These are: growth stage (April), vitellogenetic stage (May to early July), premature and mature stages (middle to late July), spawning stage (late July), and recovery stage (August to November). A small number of sudanophilic bodies were detected in the ooplasm of the young oocyte and after that, the yolk globules began to be deposited in the entire ooplasm with accompanied growth of the ovum. In the spent individual, the ovary was characterized by a considerable number of the ovulation scars, residual ova and developing ovarian stroma, intermingled with each other. Subsequently, the ovary reached the recovery stage as revealed by the absorption of the residual yolk by the stromatous tissue and several kinds of leucocytes. As some of the spent females with developing embryos in their abdominal flap have another set of mature ovary, it is assumed that these crabs can spawn twice during a single breeding season.

カニ類の卵子形成過程や卵巣の発達過程を扱った論文はいたって少なく、BHATIA と NATH¹⁾ が *Paratelphusa* で卵黄の起源について観察したのや、CRONIN²⁾ が *Callinectes* で卵巣の発達過程をみたもの、および OTU³⁾ が内分泌学的立場からサワガニで卵形成過程を追跡したものなどがあるにすぎない。一方、著者らは、引続き海産無脊椎動物の成熟について基礎的研究を続けているが^{4~6)}、上述したように、カニ類の卵形成過程や卵巣の発達過程については、まだ十分研究されておらず、比較検討する例数の少ないことから、さらに資料を積む必要を認めた。そこで、前報と同じイワガニの長期間にわたる材料に基づいて卵巣を組織学的に観察したところ、卵子の発達相に季節的变化が認められたので報告する。

本文を稿するにあたり、討論をいただいた福井県水産試験場の今攸枝師、および採集に協力いただいた新潟大学理学部付属佐渡臨海実験所の北見健彦氏に謝意を表する。

材料および方法

供試材料のイワガニ *Pachygrapsus crassipes* は、1969 年 4 月から 11 月にわたり、新潟市の寄居浜海

* 新潟大学理学部付属佐渡臨海実験所業績

** 新潟大学理学部生物学教室 (Dept. Biol., Fac. Sci., Niigata Univ., Niigata, Japan)

岸の突堤から採集した。採集は原則として月2回(合計15回)おこない、甲幅15mm以上の雌を約90個体得た。前報したように、日本海沿岸における冬季の荒天のため、12月から3月にかけては採集できなかった。卵巢の熟度指数は胴重量(体重-鉄脚および歩脚重量-外仔卵重量)や卵巢重量の測定値に基づき、次式から求めた。

$$(\text{卵巢重量}/\text{胴重量}) \times 100$$

背甲下から摘出した卵巢は海水で調合したブアン氏液やブアン・アレン氏液のほかに、チアッチオ氏液、カルノア氏液およびボーディアン氏液で固定し、常法に従って6~8 μ のパラフィン切片を作った。染色にはハイデンハイン氏の鉄ヘマトキシリン・ライトグリーン、デラフィールド氏のヘマトキシリン・エオシン、ハイデンハイン氏のアザン三重染色、メチルグリーン・ピロニン、アルデヒドパラローズアニリン・ライトグリーン(AF変法)、ズダンブラックB・フロキシンをを用い、PAS反応も試みて鏡検した。

結 果

I. 卵子形成過程の概要: 卵巢卵の発生過程はおおよそ卵原細胞期、染色仁期、脂肪球期、卵黄顆粒期、卵黄球期I、卵黄球期II、前成熟期および成熟期の8段階に分けられる。

①卵原細胞期: 卵原細胞は径8 μ の球形の核を有し、細胞質はいたって薄く、色素非好性である。静止期の核ではクロマチンが網目を呈して一様に分布している。卵原細胞は数個集つて、若い卵母細胞と共に卵巢中央部に増殖中心を形成しており、有糸分裂がほぼ周年にわたって観察できる(Pl. I—Fig. 1)。

②染色仁期: この時期になると、クロマチンは核膜部から凝縮をはじめ、やがて星形の染色糸塊となつて核の一端に現われる(接合期)。長い休止期を経て、染色糸塊は不規則形をしたクロマチンの小塊となつて、核膜付近に斑点状に分布する。このころ、明るい核の中央部には1個の染色仁が現われ、卵の発育に伴つて成長を続けていく。卵は径11~20 μ にすぎず、細胞質はピロニンに染まるが、アゾカーミンおよびデラフィールド氏のヘマトキシリンとの親和性はまだ低い(Pl. I—Fig. 2)。

③脂肪球期: 卵細胞質の増加により、卵径は20 μ から60 μ に達する。クロマチンは顆粒状ないしは細糸状で、核内にはば一様に分布している。卵細胞質は均質で前段階のものよりヘマトキシリンやアゾカーミンに好染されているが、アルデヒド・パラローズアニリンとの親和力やPAS反応は弱い。チアッチオ氏液で固定した場合、細胞質中には、径5~10 μ のズダンブラックB好性の脂肪球が1~数個認められ、高倍率で観察すると桑実状にみえることがある(Pl. I—Fig. 3)。しかし、ブアン氏液で固定したものでは空胞かまたは不規則形の芯を有する空胞様構造として認められ、芯部はアニリンブルー好性で、AFやPAS反応にも陽性を示した(Pl. I—Fig. 4)。卵母細胞はおのおの一層の扁平な卵胞膜によつて包まれている。

④卵黄顆粒期: この時期の卵は発育して径60~90 μ に達する。先述の空胞様構造は表層部に移動し、それと相前後して細胞質全体に小空胞が多数散在し、蜂窩状を呈するようになる。(Pl. I—Figs. 5, 6)。これらの小空胞は、前述のチアッチオ固定、ズダンブラックB染色により脂肪性の卵黄顆粒であることを確めた(Pl. I—Fig. 7)。卵の成長に伴い、この脂肪性の卵黄顆粒はPAS反応に陽性を示し、アニリンブルーやオレンジGでも染色され、卵黄形成は遠心的に進む(Pl. I—Fig. 6)。卵黄形成に先だち細胞質の色素親和性は変化してアニリンブルー好性およびヘマトキシリン非好性となり、PAS反応により紫色を呈する。

⑤卵黄球期 I: 卵は径100~200 μ を計り、球形の核はこれまでと大差なく明瞭に認められ、卵胞膜も以前とかわりない。卵黄顆粒は成長して卵黄球となり、表層部のものほど大形である。これらはアゾカーミンや鉄ヘマトキシリンで好染され、PAS反応には紅色を示す。卵表層部には空胞がかなり整然とならび、これらの内部にはアニリンブルー弱陽性の膠質状物質が満たされている(Pl. I—Fig. 8)。

⑥卵黄球期 II: この時期の卵は径130~250 μ で、卵黄球はさらに成長し、しかも融合しはじめる。核は以前とかわらず卵の中心部にみられるが、核膜はしだいに波打ち不明瞭となる。内部のクロマチンは均質になり、染色仁との境界が不明瞭となつて、卵径230 μ 前後のものでは染色仁が認められない。卵黄はPAS反応に強陽性を示し、アゾカーミンやズダンブラックBにも強染されている(Pl. I—Figs. 9, 10)。卵黄に混じつて空胞が散在している。卵膜はごく薄いが依然として明瞭である。

⑦前成熟

期：卵径は $250\sim300\mu$ に達し、互いに押し合つて外形がゆがんでいることが多い。卵黄は融合し続け、不規則な多面体となるが、空胞はこれまでと大差がない。汙胞細胞の核は凝縮し、さらに扁平化して不明瞭となる。細胞質は卵の中心部にころうじて認められるにすぎず、核の存在は確認できなかった (Pl. I—Fig. 11)。

⑧成熟期：卵はほとんど成長を停止し、もつばら卵黄の融合が進んで、巨大な卵黄塊が形成される。卵内の空胞や細胞質の状態は前成熟期のものと大差がみられず、核も確認できなかった。汙胞膜は痕跡的にまで扁平化しており、卵1個1個の区別はさらに困難になる (Pl. I—Fig. 12)。なお、完熟卵については観察する機会が得られなかった。

Stage of growing ovum

Fig. 1. Seasonal change of the developing ovarian ova in the lined shore crab.

II. 卵巣にみられた季節的变化： 卵巣の発達過程を組織学的観察、熟度指数および生鮮時における外形や色彩等に基づいて、おおよそ成長期、卵黄形成期、前成熟期、成熟期、産卵期および回復期の6段階に分けて検索を進めた。また、これら卵巣卵の发育過程を季節的にプロットしてみた (Fig. 1)。

成長期：まず、4月中～下旬に採集された雌の卵巣は半透明で淡白色を呈し、いたつて扁平である。このような卵巣では、中央部の増殖中心を取り巻いて脂肪球期にあたる若い卵母細胞群が表層部へと发育を続けている (Pl. II—Fig. 1)。卵黄形成期：5月に検したものでは卵母細胞の多くが、卵黄顆粒期に達しており、なかには卵黄球期Iの卵を有する個体もみられた (Pl. II—Fig. 2)。この時期の卵巣は、しだいに黄色から橙黄色に色づくが、熟度指数はまだ低く $0.5\sim2.0$ にすぎない。6月には卵巣中央部の若い卵群と、やがて成熟に至る大形の卵群との区別が一層明瞭となり、後者の多くは卵黄球期IおよびIIに発達している (Pl. II—Fig. 3)。卵巣は橙色ないし橙褐色を呈しており、熟度指数は $2.0\sim10.0$ と高くなっている。また、下旬にはすでに産卵を終えたものもみうけられた。7月初～中旬では、大形の雌 (甲幅 25 mm 以上) と小形の雌 (甲幅 20 mm 以下) で卵巣の发育差がやや明瞭となり、前者では熟度指数も $5.0\sim10.0$ と高く、卵巣は肥厚して中腸腺上に大いに張り出しているが、後者では卵黄形成がはじまつたばかりで、低い状態のものが多く。さらに、すでに第1回の産卵を終えて孵化直前の外仔卵をかかえた個体では、卵巣が成熟途上の卵からなっており、本夏内での第2回目の産卵が予想された。前成熟期、成熟期：7月中～下旬に検した個体の卵巣は背甲下に大きく隆起して卵粒も1個1個区別でき、熟度指数は $10.0\sim20.0$ と頂点に達している。このころの卵巣は紫褐色で、前成熟期の卵かまたは成熟期の卵からなり、未熟な卵群はこれらの卵群の間に樹枝状に連なり存在しているにすぎない (Pl. II—Figs. 3, 4)。産卵期：8月中旬にはほとんどの個体が産卵を終え、熟度指数は 0.5 以下に低下してしまう。このころの卵巣は退縮して白色となり、不産出卵が斑点状に認められる。卵巣内には、単層の立方上皮からなる排卵痕をはじめ、不産出卵や崩壊途上の卵黄塊がいたるところにみられるほか、成熟に至らなかつた若い卵母細胞が入り乱れて基質成分中に散在している (Pl. II—Fig. 5)。注目すべきは、不産出卵や崩壊途上の卵黄塊中に、汙胞細胞や白血球が侵入して食作用を営ん

ていることである。回復期：9月から11月にかけては、産卵直後に認められた排卵痕や不産卵卵は消失してしまう。残存卵黄の小塊のまわりは卵胞細胞が何層にも同心円弧を描いて取り巻き、中心部には活発な食作用の結果を思わせるような空胞が形成されたり、白血球の侵入も認められた (Pl. II—Fig. 6)。線維性結合組織はさらに発達し、各種白血球の増加と血管の侵入が顕著である。なお、増殖中心部では、これまでとかわらず卵原細胞の分裂が観察された。

考 察

イワガニの卵形成や卵巣の発育過程について、光学顕微鏡的に観察を進めてみたが、まだ細胞レベル（微細構造）で不明点が多い。BHATIA と NATH¹¹⁾ によると、淡水産の *Paratelphusa* では、細胞質中に放出された仁物質やゴルジ体が卵黄形成に大きな役割を果たすことが知られている。しかし、イワガニでは各種細胞内小器官や封入体について詳細な追跡をしなかつたので、卵黄形成機構に関しては明確でない。ただ本種では多糖類を含むと思われる脂肪球が卵の表層部に移動する際に、細胞質が酸好性から塩基好性にかわり、つづいて卵黄形成が行なわれる。この脂肪球は魚卵の卵黄核⁹⁾と化学成分が異なるものの、前記のように、構造や行動がそれに似ているふしもみられ、卵黄形成に何らかの役割を持つものと推察される。イワガニの卵黄塊は、組織化学的検出法によれば、脂質と炭水化物を含むものと考えられるが、前成熟期の卵でみられた空胞についてはその性状を明らかにできなかった。卵胞細胞層が卵の栄養物質供給に重要な役割を果たすことは、すでに多くの動物で知られており (RAVEN¹⁰⁾、クルマエビ¹¹⁾ やニジマス¹²⁾ で卵黄形成開始期に卵胞上皮が肥厚するという観察結果もこの事実の形態学的裏づけとして興味深い。しかし、本種では卵形成過程に卵胞上皮がこのような肥厚像を示すことはなかつた。イワガニでは、ほぼ周年にわたって増殖中心が明瞭な囊胞として卵巣中央部に位置している。この増殖中心とは別に若い卵母細胞群があり、産卵後も崩壊されずに存続している。したがって、12月から3月にかけて経産卵巣の内部が整理し終ると、これら若い卵母細胞群は、新たに増殖した卵群と共に翌夏までに発育を続け、成熟に至るものと考えられる。このような増殖部の存在はシバエビ¹³⁾、クルマエビ¹⁴⁾、コウライエビ¹⁵⁾でも報告されている。イワガニでも残存卵の崩壊吸収には、ズワイガニ⁵⁾ やイボニシ⁴⁾などで記載されていると同様に、卵胞細胞が重要な役割を果たすが、イワガニでみられた白血球の増加や卵胞細胞が同心円状のラメラ構造をとることについて、後二者では触れていない。

今回の調査により、本種の産卵期間は早いものでは6月末に始まり夏中続くが、そのピークは7月下旬と目された。この期間中、同一個体が少なくとも2回産卵するらしいことが明らかになったが、このような習性は *Mennippe*¹⁶⁾でも知られており、第1回目と第2回目の産卵間隔は約8日間と報じられている。しかし、イワガニの場合ではどのくらいか知り得なかつた。本種では甲幅 15 mm 前後の雌が産卵することがわかつたので、生物学的最小形は前報⁹⁾の雄と同様に、さらに小形のものと考えられる。ところで、深海性のズワイガニ⁵⁾では初産後1年半もおくれて第2回目の産卵がおこなわれるらしいが、本種では初産ガニの大きさも確めていないので、産卵期のずれを *Mennippe*¹⁶⁾を含めて、いきなり生息環境や生活形の相違に結びつけることはできない。

イワガニの生殖については、まだ研究が緒についたばかりであり、今後は脱皮と産卵の関係をはじめ、上述したいくつかの不明な点を解明していきたい。

要 約

新潟市海岸産のイワガニの4月から11月にわたる材料に基づいて、卵形成過程および卵巣の発育過程を組織学的に観察した。その結果、卵巣の発達段階には季節的变化が認められ、おおよそ4月の成長期、5月から7月初旬にわたる卵黄形成期、7月中～下旬の前成熟期および成熟期、7月下旬にピークがみられる産卵期、および、8月下旬以降の長期にわたる回復期の6段階に分けられる。

産卵は、早い個体では6月下旬からはじまり夏中続き、その間に同一個体が少なくとも2回産卵するよう

である。増殖中心は卵巣中央部にほぼ周年にわたつてみられ、例年若い卵が産生されている。

卵黄形成は5月頃から始まり、はじめ脂質を多く含む卵黄顆粒が形成され、成長と共に多糖類が加わつて成熟期では巨大な卵黄塊となる。汚胞細胞や卵巣基質成分は、不産出卵や残存卵黄の崩壊および吸収に役割を果し、回復期には各種白血球の増加や線維性結合組織の発達が顕著である。

文 献

- 1) D. R. BHATIA and V. NATH: *Quart. J. Micr. Sci.*, **74**, 669~701 (1931).
- 2) L. E. CRONIN: *M. S. thesis, Univ. Md.*, 1~37 (1942).
- 3) T. ÖTU: *Embryologia*, **8**, 1~20 (1963).
- 4) 今攸・本間義治・村川新十郎: 本誌, **32**, 484~491 (1966).
- 5) 今攸・本間義治: 本誌, **36**, 1021~1027 (1970 a).
- 6) 今攸・本間義治: 本誌, **36**, 1028~1033 (1970 b).
- 7) 千葉 晃・本間義治: 本誌, **37**, 699~706 (1971).
- 8) 千葉 晃・本間義治: 本誌, **38**, 317~323 (1972).
- 9) 山本喜一郎: 細胞化学シンボ, **8**, 119~134 (1958).
- 10) C. P. RAVEN: *Oogenesis*, 1~274 (1961), *Pergamon Press, Oxford*.
- 11) 福井県水産試験場: 福井水試報告, **45**, 24~28 (1970).
- 12) 山本喜一郎・太田 勲・高野和則・石川徹二: 本誌, **31**, 123~132 (1964).
- 13) T. Y. LEE: *Pub. Haeundae Mar. Lab.*, **1**, 19~28 (1968).
- 14) T. Y. LEE and B. D. LEE: *Pub. Mar. Lab., Pusan Fish. Coll.*, **3**, 45~52 (1970) *in Korean. with English summary*.
- 15) 岡 正雄: 長崎大水産学部研報, **23**, 43~56 (1967).
- 16) R. BINFOLD: *J. Morph.*, **24**, 147~203 (1913).

Plate I.

Plate I.

- Fig. 1. A cluster of the oogonia just in the mitotic division. Bouin's fixative, hematoxylin-eosin stain. $\times 800$
- Fig. 2. The younger oocytes in the chromatin nucleolus stage. Bouin's fixative, azan stain. $\times 1000$
- Fig. 3. The oocytes in the oil globule stage showing the sudanophilic body in the ooplasm. Ciaccio's fixative, sudan black B stain. $\times 520$
- Fig. 4. By means of Bouin's fixative, the oil globules are demonstrated to be the vacuoles, some of which contain the cored material. Bouin's fixative, PAS-orange G stain. $\times 520$
- Fig. 5. In the early yolk granule stage, the ovum is filled with the vesicular structures derived from the yolk granules of adipose nature. Bouin's fixative, PAS-orange G stain. $\times 320$
- Fig. 6. The major part of the ovum containing the basophile ooplasm is occupied with a lot of yolk granules. Bouin's fixative, azan stain. $\times 340$
- Fig. 7. A number of yolk granules containing the fatty substance are demonstrated. Ciaccio's fixative, sudan black B stain. $\times 430$
- Fig. 8. In the yolk globule stage I, two kinds of yolk globules are distinguished: one is the oil globules located in the peripheral or cortical region, and another is the PAS-positive yolk ones in the central or perinuclear region. Bouin's fixative, azan stain. $\times 220$
- Fig. 9. In the yolk globule stage II, the globule, polygonal in shape, is positive strongly with PAS reaction. Ciaccio's fixative, PAS-orange G stain. $\times 100$
- Fig. 10. The dark stained yolk globules as revealed by sudan black B. Several vacuoles of unknown derivatives are detected throughout the egg body. Ciaccio's fixative, sudan black B stain. $\times 110$
- Fig. 11. Due to a large mass of the yolk, the germinal vesicle is difficult to recognize. Bouin's fixative, azan stain. $\times 100$
- Fig. 12. The egg close to the ripe stage. As a result of fusion of the yolk globules, a huge yolk mass was taken place. Bouin's fixative, PAS-orange G stain. $\times 100$

Plate II.

Plate II.

- Fig. 1. In April, the ovary is filled with the growing oocytes of young stage. The germ center consisting of the oogonia under the mitotic division is also demonstrated in this picture. Bouin's fixative, azan stain. $\times 100$
- Fig. 2. A part of the ovary in the early stage of yolk formation in May. Bouin's fixative, azan stain. $\times 100$
- Fig. 3. In early summer, the germ center and a small number of younger oocytes still remained among the well-developed oocytes. Bouin's fixative, azan stain. $\times 100$
- Fig. 4. Cross section of a part of the ovary reaching close to the ripe stage in July. Bouin's fixative, PAS-orange G stain. $\times 100$
- Fig. 5. The spent ovary in August is characterized by the existence of unspawned eggs and ovulation scars. Inset indicates the ovulation scars. Bouin's fixative, azan stain. $\times 100$
- Fig. 6. A part of the ovary in the recovery stage of autumnal season. A pronounced development of the stromatous tissues and leucocytes are noticed. Bouin's fixative, iron hematoxylin-light green stain. $\times 100$