

## メダカの卵門の走査電子顕微鏡による観察

細川和子

### Scanning Electron Microscopic Observations of the Micropyle in *Oryzias latipes*

Kazuko Hosokawa

(Received October 4, 1978)

The micropyle apparatus of eggs in the medaka, *Oryzias latipes*, was observed by scanning electron microscope. During the breeding season mature ova were fixed with 2.5% glutaraldehyde and 1% osmic-tetroxide for 1 hour each. After dehydration with graded ethanol, the samples were dried with critical point drying, coated with platinum-palladium with ion sputtering, and studied with scanning electron microscope. The micropyle apparatus of unfertilized ovum in the medaka is composed of five or six spiral layers, becoming hollow in the central part. After fertilization, the cavity of micropyle was filled with a cluster of spherical substance. This substance increased over time.

(Biological Laboratory, Predental Course of Tokyo Dental College, Ichikawa, Chiba-ken 272, Japan)

硬骨魚類の卵子には受精の際精子の通路となる卵門が存在する。そして精子は卵門をもたない多くの動物のように卵膜をとかしながら貫通する必要のないことが知られている。

山本(1951)とYamamoto(1952, 1953)はカレイ卵で、山本(1955), 岩松(1975)はメダカ卵で光学顕微鏡により卵門構造を報告し、またSzöllösi and Billard(1974)はニジマスの、Kuchnow and Scott(1977)はFundulus heteroclitus Linnaeusの成熟卵の卵門を走査電子顕微鏡によって観察している。筆者は今回走査電子顕微鏡でメダカの卵門の表面構造を観察したので報告する。

#### 材料および方法

産卵最盛期(5月~7月)のヒメダカ、*Oryzias latipes* Temminck et Schlegel, をガラス水槽で雌雄一組ずつ飼育し、毎朝産卵しつづけている雌メダカより卵を採取し観察材料とした。成熟卵は前日より雌雄を別のガラス

器に分離し、卵巢腔に排卵されている成熟未受精卵を取り出して調べた。また雌雄を同居させて、受精させた卵を受精後20秒、30秒、120秒、180秒後に雌の腹部よりとり観察に用いた。

これらの材料は2.5%グルタルアルデヒド(pH 7.2)、2%タニン酸と塩酸グアニンの混合液を経て、1%オスミウム酸(pH 7.2)で順次固定した。アルコール脱水、炭酸ガス臨界点乾燥の後、イオンコータで白金パラジウムの蒸着をほどこし、走査電子顕微鏡で観察した(Figs. 1, 6, 7はJSM50A 加速電圧20kVで、Figs. 2, 3, 4, 5は日立電界放射形走査電子顕微鏡加速電圧15kVで撮影)。

#### 結果および考察

メダカの成熟未受精卵の卵膜表面には、全体に短い毛(径約10μm)が50μmの間隔ではえており、植物極側にははるかに長い付着糸がある。動物極側の短い毛の根本の部分は太くなっている。こ毛のはえている頂点にあたるところに卵門がある。卵門の近くには短い毛はない(Fig. 1)。Kuchnow and Scott(1977)はFundulus heteroclitusでは短い毛の他に卵門周辺に多少長いfibrilesが少数存在することを報告しているが、メダカの卵門周辺にはこれにあたるものはみられなかった。

卵門は外観上卵膜の外層でふちどられ、漏斗状にくぼんだ小孔である。卵膜の内層にあたる部分が、同心円状というよりも、二重か三重にかさなった渦巻のくぼみとなり、底の部分でトンネル状を呈し、卵膜を通過して卵表に達している。したがって卵門の内腔面には幅約1μmの5~6層の層状構造がみられる。さらにトンネル部分にも数層の層状構造がみられる(Fig. 2)。卵門漏斗部の外縁の最大径は約15~17μmで、トンネル部の径は約2.5~2.8μmである。精子の頭部径は0.8~1.0μmほどであるので通過するには十分な広さである。

受精卵では、卵門の層状部に不定形の物質が付着してみえる様である(Figs. 3, 4, 5)。これは受精後20秒では少量のコロイド状のものとみられるが、30秒以後120秒を経過すると次第に量を増し、さらに径0.5~0.6μmの球状のものがみられるようになる。また侵入した精子の尾と思われる構造がみられることもあり(受精後180秒、Fig. 6)、これは受精に参画した精子ではないと思われるがこの段階では明らかではない。細い糸状のからみあったものが卵門内腔をふさぎ層状構造は表面からはみられなくなる。

Iwamatsu and Keino(1978)は、*Oryzias latipes* の

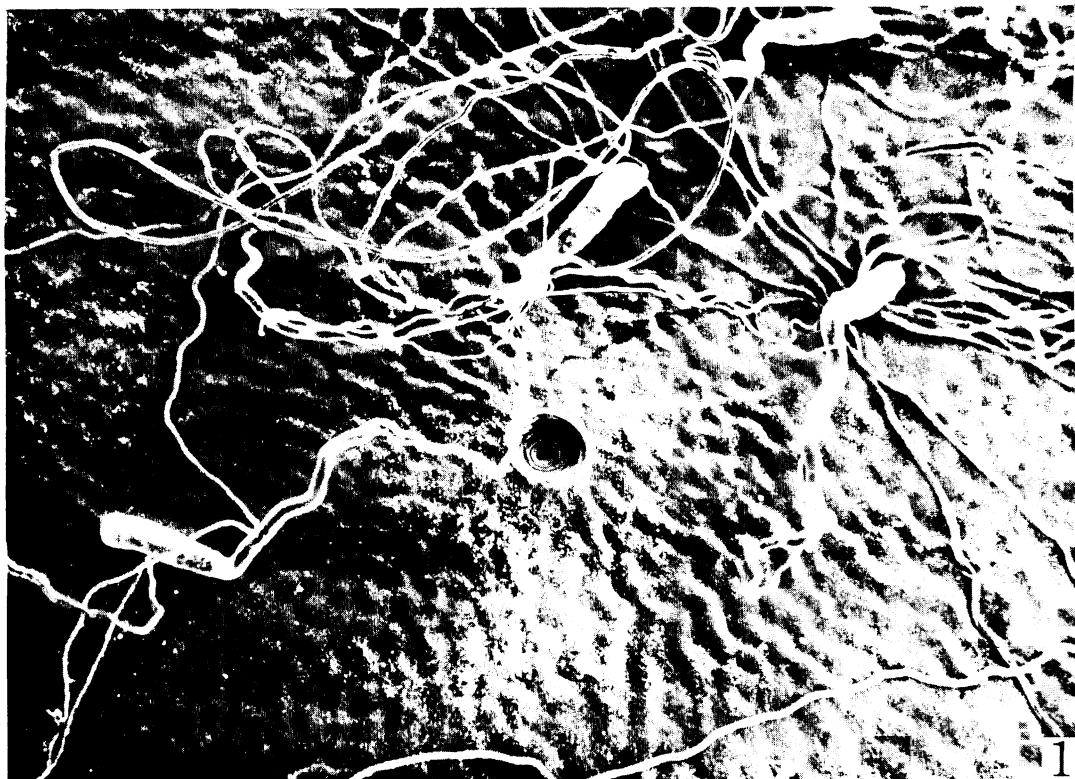


Fig. 1. Animal polar view of an ovum of *Oryzias latipes*, showing fibrils and micropyle. A fibril-free zone surrounds the micropyle.  $\times 400$ .

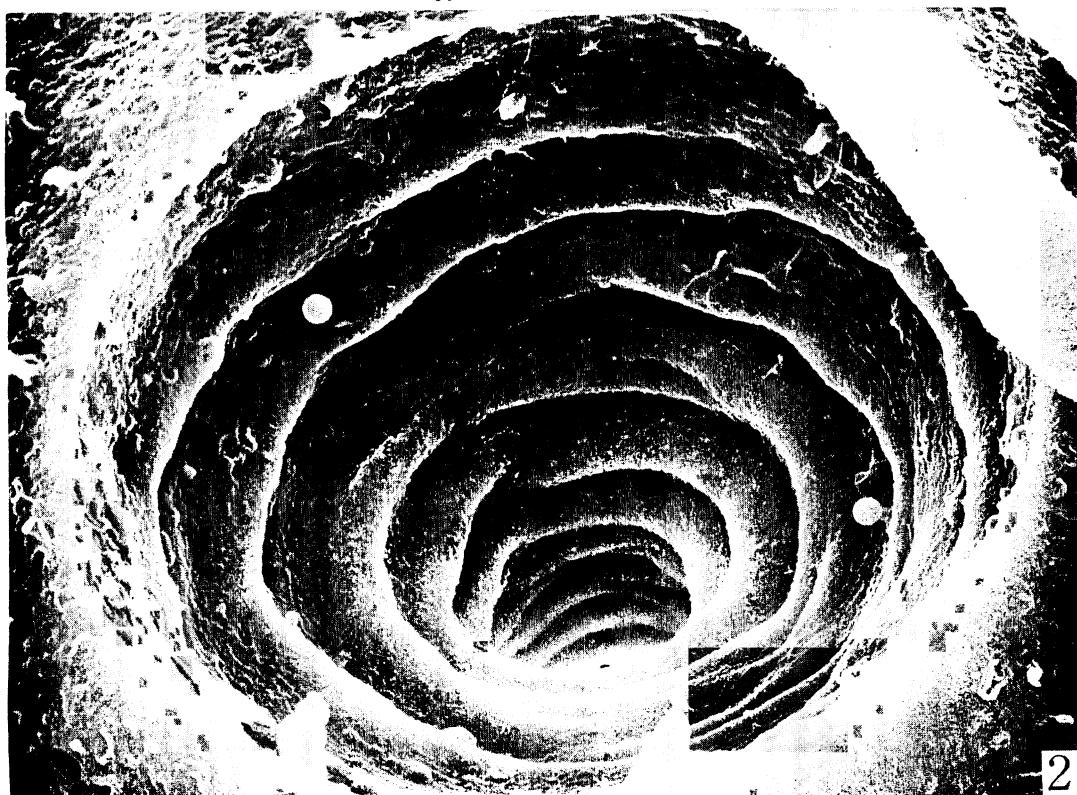


Fig. 2. Micropyle apparatus of an unfertilized egg of *Oryzias latipes*, showing spiral lamellate feature.  $\times 7000$ .



Fig. 3. Micropyle apparatus of an egg of *Oryzias latipes* 20 seconds after fertilization, showing amorphous substance in the cavity.  $\times 7000$ .

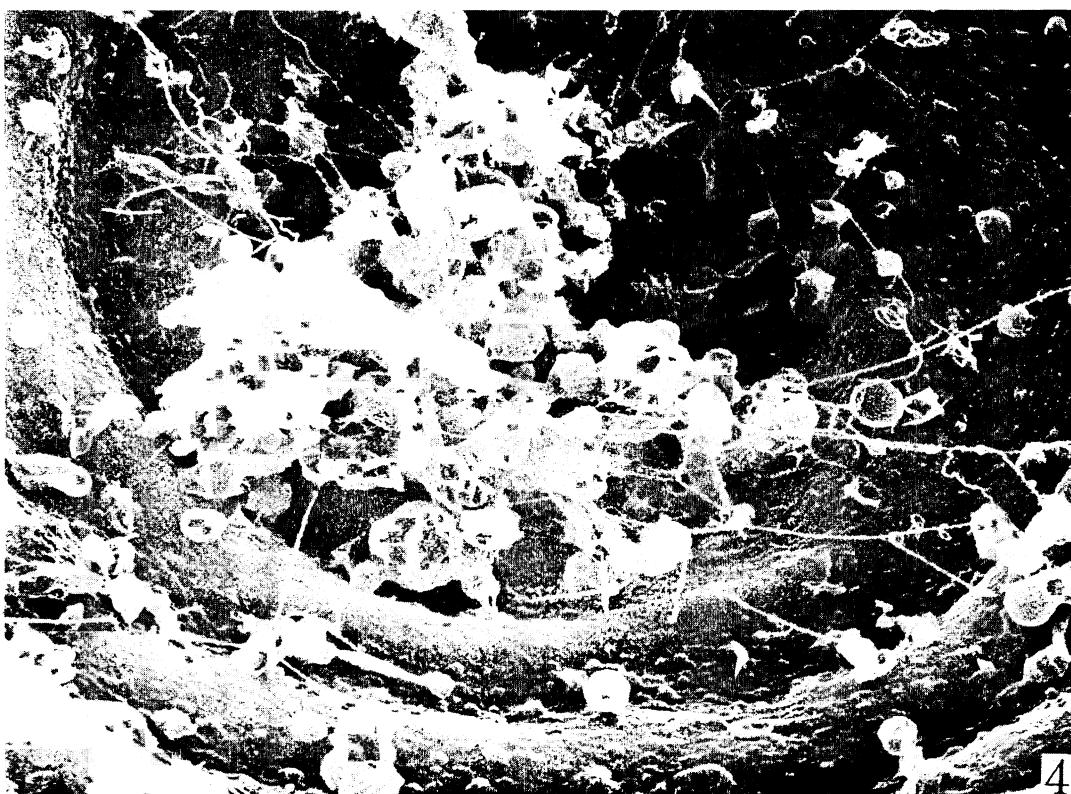


Fig. 4. Micropyle apparatus of an egg of *Oryzias latipes* 30 seconds after fertilization, filling the cavity with a cluster of spherical substance.  $\times 8600$ .



Fig. 5. Micropyle apparatus of an egg of *Oryzias latipes* 120 seconds after fertilization. Spherical substance has increased.  $\times 8600$ .



Fig. 6. Micropyle apparatus of an egg of *Oryzias latipes* 180 seconds after fertilization, showing an apparent sperm-tail.  $\times 5000$ .

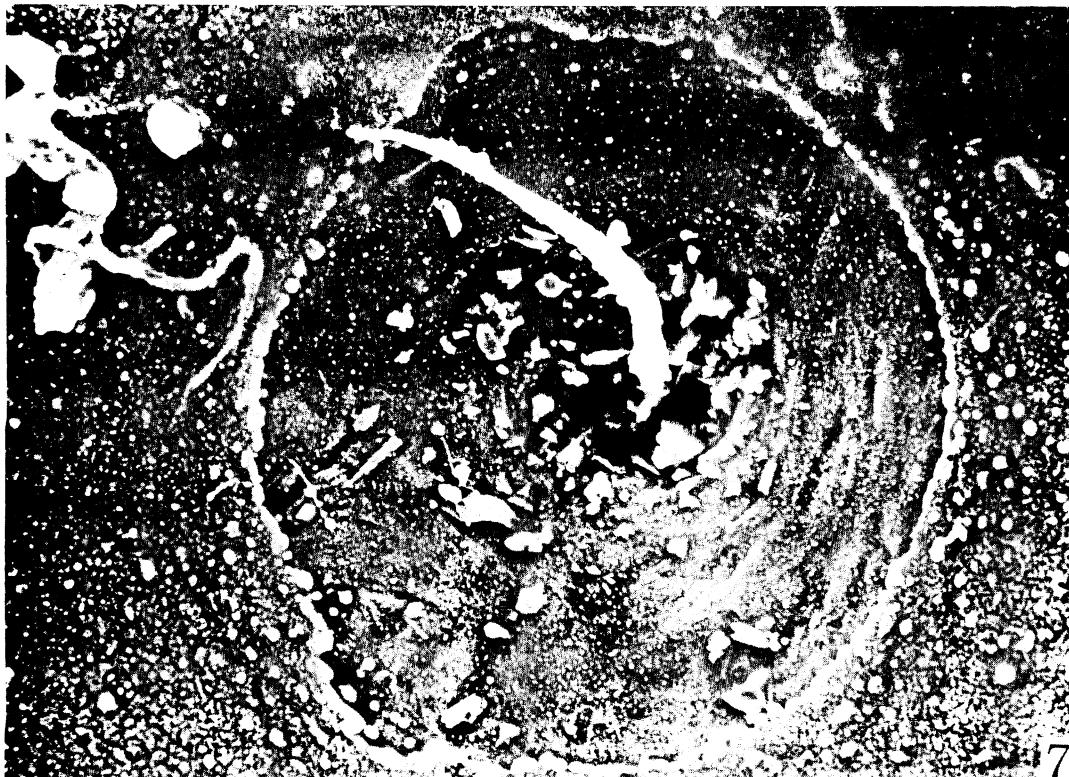


Fig. 7. Micropyle apparatus of an egg of *Salmo gairdnerii* immediately after fertilization, showing a sperm tail.  $\times 2500$ .

受精卵で、表層胞の崩壊にともない、コロイド成分や球状成分が卵腔へ放出されることを興味深く報告している。受精後卵門内腔をふさぐ物質は、卵内部より流れてくるものと思われるが、表層胞由来の物質であるかどうかはさらに詳細に研究中である。

Szöllösi and Billard (1974) はニジマス *Salmo gairdnerii* Gibbons の卵門について表面および縦断面の走査電子顕微鏡像を観察し、funnel 部についてはほぼ smooth であり、canal 部については rib 様の構造のあることを報告した。著者もニジマス（東京都水産試験場奥多摩分場提供）の卵門について、漏斗部は比較的ゆるやかなくぼみで、メダカにみられるような顕著な層状構造は明らかでないことを再確認した。Fig. 7 は人工受精直後のもので精子の尾部がみられる。

メダカの卵門の走査電子顕微鏡像は Kuchnow and Scott (1977) が *Fundulus* でみたものと一致することがわかった。また受精によって卵門の表面の状態は変わることが、精子の侵入と卵門の関係および受精後の表面構造の変化の詳細についてはさらにくわしく研究が必要である。

#### 謝 詞

本研究をおこなうにあたり御指導と御校閲下さいました東京大学江上信雄教授に心より感謝いたします。走査電子顕微鏡写真撮影には日立製作所内藤秀雄氏および東京歯科大学 SEM 室新飯田俊平氏の御好意によりました。深くお礼申し上げます。

#### 引 用 文 献

- 岩松鷹司. 1975. 生物教材としてのメダカ. 11. 卵母細胞の成熟および受精. 愛知教育大学研究報告, 24: 113~144, figs. 1~23.
- Iwamatsu, T. and H. Keino. 1978. Scanning electron microscopic study on the surface change of eggs of the teleost, *Oryzias latipes*, at the time of fertilization. Develop., Growth and Differ., 20(3): 237~250, figs. 1~15.
- Kuchnow, K. P. and J. R. Scott. 1977. Ultrastructure of the chorion and its micropyle apparatus in the mature *Fundulus heteroclitus* (Walbaum) ovum. J. Fish Biol., 10: 197~201, fig. 1, pls. 1~3.

- Szöllösi, D. and R. Billard. 1974. The micropyle of trout eggs and its reaction to different incubation media. *J. Microscopie*, 21: 55~62, fig. 1, pls. 1~3.
- 山本喜一郎. 1951. クロガシラカレイの卵門と卵門部分. *科学*, 21: 256~257, 1 fig.
- Yamamoto, K. 1952. Studies on the fertilization of the egg of the flounder. II. The morphological structure of the micropyle and its behavior in response to sperm-entry. *Cytologia*, 16: 302~306, figs. 1~4.
- Yamamoto, K. 1953. Studies on the fertilization of the egg of the flounder. III. On the formation of the micropyle-ball. *Ann. Zool. Japon.*, 26(3): 133~137, figs. 1~2.
- 山本 正. 1955. メダカの卵子形成, 特にその細胞化学的研究. *Japan. J. Ichthyol.*, 4: 170~181, figs. 1~5.
- (272 市川市菅野町 4-18-7 東京歯科大学生物学研究室)