

キンメダイ卵膜の微細構造

原 政子¹・三谷 勇²

¹〒164-8639 東京都中野区南台1-15-1 東京大学海洋研究所

²〒238-0200 神奈川県三浦市三崎町城ヶ島養老子 神奈川県水産総合研究所

(2002年1月28日受付；2003年6月1日改訂；2003年6月15日受理)

キーワード：キンメダイ，卵，卵膜，微細構造

魚類学雑誌

Japanese Journal of
Ichthyology

© The Ichthyological Society of Japan 2003

Masako Hara* and Isamu Mitani. 2003. Fine structures of the egg chorion of alfonsino *Beryx splendens*. Japan. J. Ichthyol., 50(2): 141–146.

Abstract Fine structures on the egg membranes of alfonsino (*Beryx splendens*) were examined under SEM to assist in egg identification. Alfonsino, spawn small spherical eggs, which have needle/petal-like projections over the entire egg surface (chorion). The projections of unfertilized eggs occurred at a density of 4.9 per $100\text{ }\mu\text{m}^2$, the length of each “petal” being from 0.3 to $4.9\text{ }\mu\text{m}$, whereas those of fertilized eggs occurred at reduced densities (0.9 per $100\text{ }\mu\text{m}^2$) with shorter “petals”, from 0.6 to $3.4\text{ }\mu\text{m}$ in length. These structures may play an important role in the attachment of the eggs to one another, and may improve fertilization efficiency during spawning.

*Corresponding author: Ocean Research Institute, University of Tokyo, 1-15-1, Minamidai, Nakano, Tokyo 164-8639, Japan (e-mail: mhara@ori.u-tokyo.ac.jp)

キンメダイ *Beryx splendens* の資源量は減少しているため、東京都と神奈川県、千葉県、静岡県は、資源管理を共同で推進している。しかし、資源管理の基礎資料となるキンメダイの生態や生活史は不明の点が多い。特に卵から稚魚に至る初期発育段階については、断片的な知見しか得られていない。これまでに本種の仔稚魚は土佐沖 (Ishida and Hirota, 1998) や Hancock 海山 (Mundy, 1990) で採集され、伊豆諸島周辺海域では、1995年に卵と前期仔魚の分布が確認されたが (久保島, 1995)，発育の進んだ仔稚魚は採集されていない。

キンメダイ仔稚魚の形態は Mundy (1990) によって詳しく記載され、キンメダイ科またはキンメダイ属の知見は Konishi (1999), Miskiewicz and Trnski (2000) が総述している。一方、キンメダイ卵は、卵の形状や油球数などの基本的な分類形質の他に、この魚種特有の鮮桃色の油球と低倍率の光学顕微鏡下で観察される卵膜上の網目模様によって同定可能とされている (大西, 1966; 1968)。これら卵の特徴による同定には、フォルマリン固定

した場合に油球の色が数日で退色し、受精卵では網目模様を確認しにくくなるという難点があった。

近年、卵膜の微細構造が種によって異なることに着目して、光学顕微鏡下では特徴的な構造がみとめられない魚卵について種を同定する試みがなされている (平井, 1991)。そこで、今回人工受精によって得られたキンメダイ卵の卵膜微細構造を走査型電子顕微鏡 (SEM) によって観察したところ、卵膜表面にこれまで報告されたことのない突起構造がみとめられたので、それらの記載を行うとともに機能的役割を検討した。

材料と方法

2001年7月21日御蔵島北西の通称インバ漁場において、神奈川県水産総合研究所調査船江ノ島丸 (99トン) によって漁獲されたキンメダイ雌雄の成魚を採集した。卵膜の微細構造の観察には、①雌の腹部を圧して採取した未受精卵、②海水に接触させた未受精卵、③人工受精卵の3種類を用いた。②は、腹部を圧して得られた成熟卵をシャーレに

採取し、海水をはり、1分経過後に薬匙を用いて卵をすくい、前固定液を入れた瓶に移した。③は、シャーレ中に腹部を圧して得られた成熟卵を採取し、その上に精液を絞り出し、ただちに海水を張り、10分経過後に薬匙を用いて卵をすくい、前固定液を入れた瓶に移した。これらの卵は船上で0.5%パラフォルムアルデヒド、2%グルタールアルデヒドと0.1Mカコジル酸緩衝液(pH 7.4)の混合液で前固定し、冷蔵庫に保存して3日後に研究室に持ち帰った。その後0.1Mカコジル酸緩衝液(pH 7.4)で液を3回交換して洗浄し、4°Cで1晩浸漬した。後固定は0.1Mカコジル酸緩衝液(pH 7.4)で調整した1%四酸化オスミウムの混合液で2時間(室温)行った。脱水は、50%, 70%, 80%, 90%, 95%エタノール系列で各5分間ずつ2回と99%エタノールに15分間ずつ2回浸漬した後、酢酸イソアミルを通して、液化二酸化炭素で臨界点乾燥後、カーボンテープを用いて試料台に載せ、白金パラジウムを蒸着して走査型電子顕微鏡(日立製作所製S-4500)で観察した。

卵微細構造の各部の名称は、基本的には高野(1989)に従ったが、本種に特異な構造については新しい名称を用いた。卵膜上の突起の分布密度は、2個の電子顕微鏡写真からランダムに縦横1片18 μmの四角形を3カ所設定し、その中の突起数の平均値を求めた。

結 果

未受精卵の形態 生体から採取した直後の卵は、鮮桃色の油球が1個観察され、個々に分離することなく互いに粘着した卵塊状を呈する。SEM用に臨界点乾燥した卵は、卵径0.9 mmの球形で、光学顕微鏡で表面を観察すると、白い小班点が不規則に分布するのみで、大西(1966, 1968)によつて報告された網目構造はみとめられなかった。

SEMを用いて卵膜表面を観察すると、大小の針状突起が砂粒をちりばめたように全体に分布する(Fig. 1A-C)。この針状突起は、線香花火のような形態で、1つの突起は細長く尖った多数の花弁が放射状に配列して構成されており、ここでは針状花弁様突起(needle/petal-like projection), 以下nppと呼称する(Fig. 1B, C)。

卵膜は約1.6 μmの厚さを持ち、約0.3 μmの薄い外層と6層からなる約1.3 μmの厚い内層で構成され、外層と内層の間には間隙を持つ(Fig. 1D)。卵膜の破断面を観察すると、間隙は不均一で、狭い箇所と広い箇所があり、後者はすり鉢状を呈する

(Fig. 1D)。卵膜表面には他の魚類の卵と同じように、直径約0.2 μmの小孔が観察され(Fig. 1C), これらは卵膜の外層を貫通しているが、内層には到達していない。卵膜の上に特異なnppが位置する(Fig. 1C, E)。卵膜の最外層における破損部の性状から、nppの基部は卵膜の内層と外層の間に位置していることが示唆される(Fig. 1E, F)。nppを構成する花弁の長さは0.3–4.9 μmで、それぞれは細長く尖り、表面に綿状の付着物が観察される(Fig. 1C, E)。1つのnppを構成する花弁の数は1–50本以上と変異が大きいために、nppの大きさは一定しない(Fig. 1B)。nppの分布密度は4.9/100 μm²である。卵門構造は、今回の観察では確認できなかつた。

海水に接触させた未受精卵の形態 卵径約0.9 mmの球形で、数個が粘着して塊を形成する物と単離した物が混在する(Fig. 2A)。卵膜表面のnppは全域に観察されるが、海水に接触しない未受精卵と比べ、1つのnppが小型化する傾向がみられる(Fig. 2B)。nppを構成する花弁の長さは0.9–3.0 μmで、個々の花弁は膨んで針状を呈するものが減少し、外縁部の花弁には、細長いへら状を呈したものが混在する(Fig. 2D, E)。またnppを構成する花弁の数は2, 3本が最も多く、30本以上の花弁で構成される物は僅かである(Fig. 2D)。nppの分布密度は1.5/100 μm²で、卵膜表面に分布する小孔径は0.2–0.7 μmであるが、比較的大きなものが目立つ(Fig. 2E)。

卵門は動物極の直径約33 μmの隆起した所に位置し、その中央に直径約5 μmのロート状の浅い窪みがあり、更にその底部に直径約3 μmの卵門が開口し、卵門管は内部に向かって螺旋状に細くなる(Fig. 2B, C)。

受精卵の形態 卵径約1 mmの球形で、個々に分離して卵塊状をなさない(Fig. 3A)。卵膜表面のnppは、全体的に小型化し、nppを構成する花弁の長さは0.6–3.4 μmで、中心部の花弁は短く、外縁部の花弁は、膨らんでへら状を呈した物が混在する(Fig. 3C, D)。またnppを構成する花弁の数は、2, 3本から最大30本以上と変異が大きい(Fig. 3B)。nppの分布密度は0.9/100 μm²で、卵膜表面に分布する小孔径は0.2–1.0 μmである(Fig. 3C)。卵門は動物極の直径約18 μmの隆起した所に位置し、その中央に直径約7 μmのロート状の浅い窪みがあり、更にその底部に直径約5 μmの卵門が開口する(Fig. 3B)。

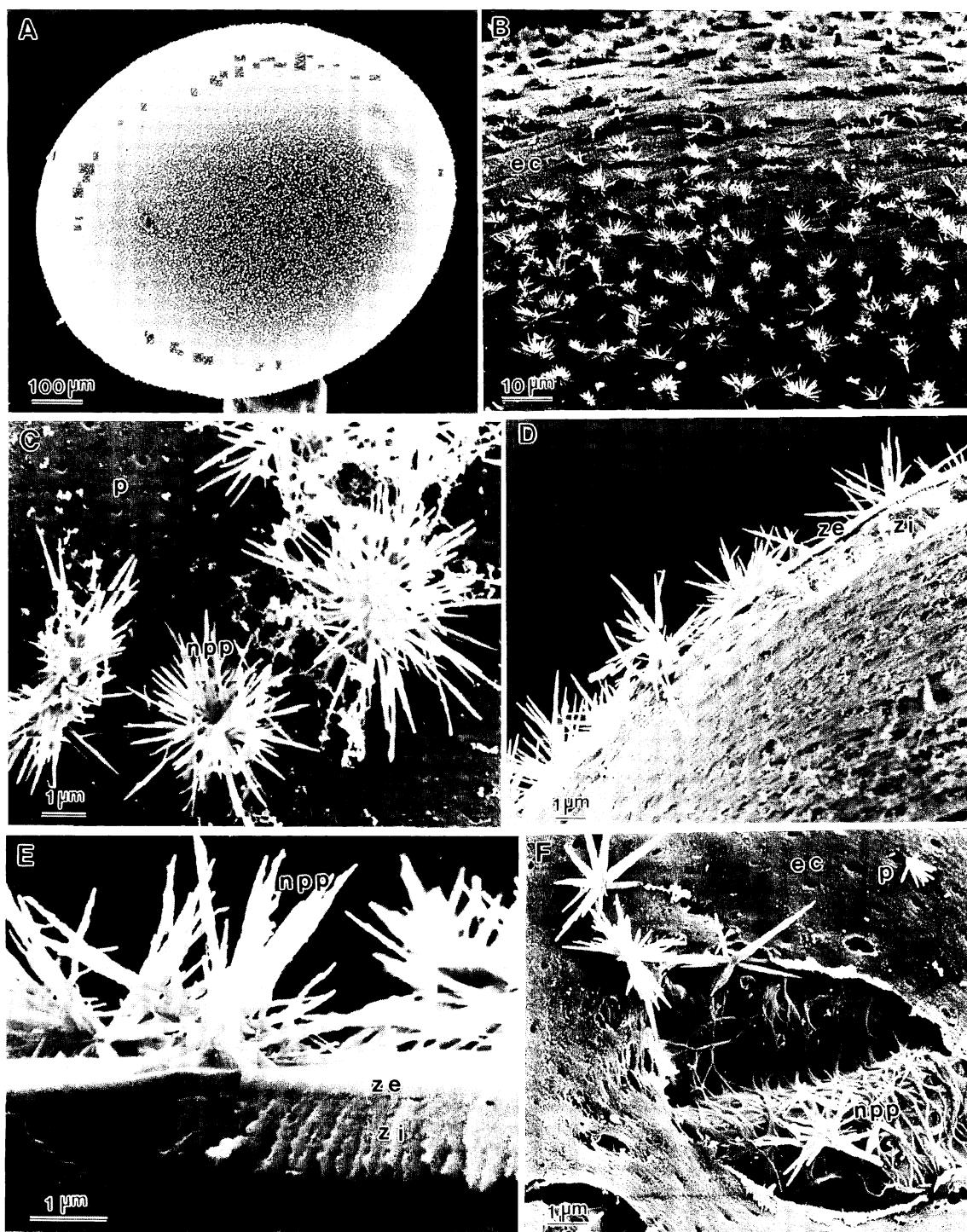


Fig. 1. SEM photographs of unfertilized eggs of *Beryx splendens*. ec: egg chorion, ze: zona radiata externa, zi: zona radiata interna, npp: needle/petal-like projection, p: pit. A) Egg at low magnification; B) Egg surface; C) Needle/petal-like projections; D) Fractured egg chorion comprising two layers: zona radiata externa with npp and zona radiata interna; E) Fractured egg chorion with npp; F) Surface of broken zona radiata externa (Note basal body of npp rooted deep between the two layers).

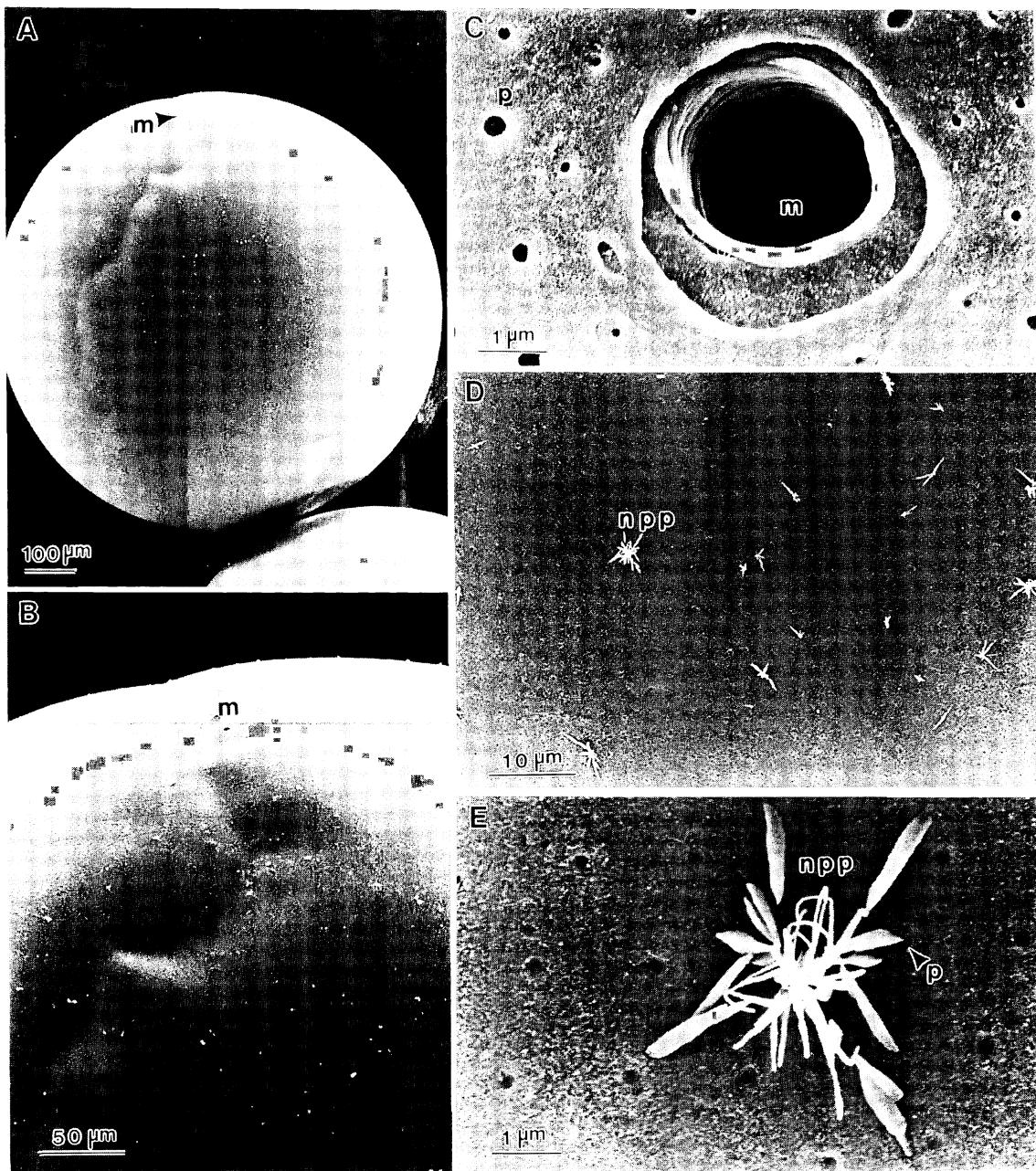


Fig. 2. SEM photographs of unfertilized eggs of *Beryx splendens* after exposure to seawater. npp: needle/petal-like projection, p: pit, m: micropyle. A) Egg at low magnification (Arrow indicates micropyle); B) Egg surface with slightly raised portion around micropyle; C) Micropylar region (Note spiraling micropylar canal); D) Egg surface; E) Needle/petal-like projection.

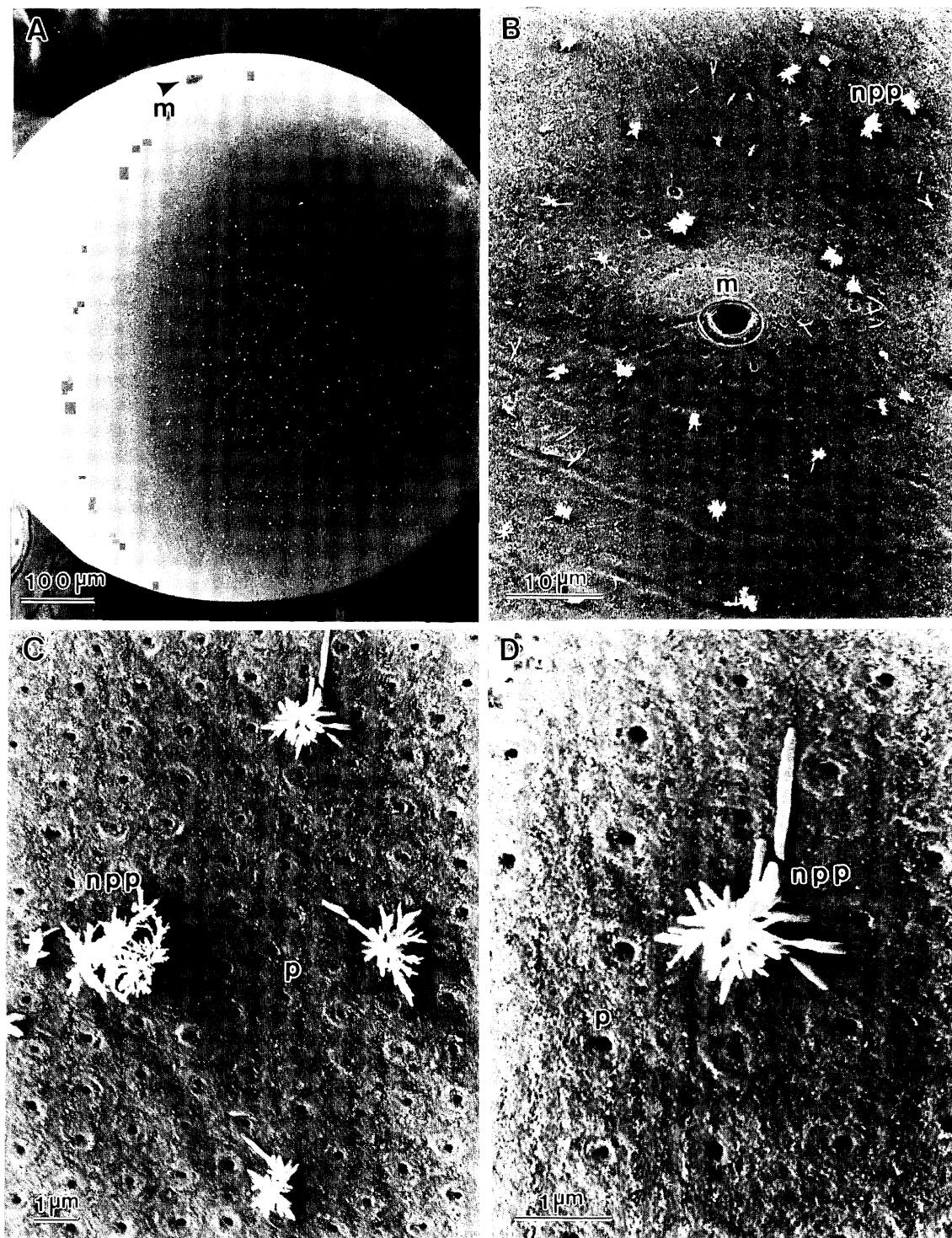


Fig. 3. SEM photographs of fertilized eggs of *Beryx splendens*. npp: needle/petal-like projection, p: pit, m: micropyle. A) Egg at low magnification (Arrow indicates micropyle); B) Micropylar region; C) Egg surface; D) Needle/petal-like projection .

考 察

キンメダイの卵は、大西(1966, 1968)により、卵膜上に網目様構造が発達するとされているが、本研究において、SEM用に乾燥した未受精卵と受精卵を光学顕微鏡下で観察すると、卵膜表面に白色の小斑点が不規則に分布するのみで、網目様構造はみとめられない。この小斑点をSEMで観察すると、卵膜上に位置する特殊な形態のnppであることが判明した。nppは、細長い針状を呈した多数の花弁が放射状に配列した構造で、以下のように整理される。①nppの基部は卵膜の外層と内層の間の不均一な間隙にあり、卵膜の小孔を通って形成されると考えられる。②nppの基本構造は共通であるが、花弁の数と大きさの変異が大きい。③未受精卵と受精卵では花弁数の減少と花弁形態が大きく相異する。特に①の形態的特徴はこれまでに報告がなく、卵膜の機能分化の面からも注目される。

nppを構成する花弁の数と大きさに差異が生ずる原因是、海水に接触するとnppを構成する花弁の表面が溶解して縮小することや、膨張してへら状を呈することが考えられる。

卵膜上の特殊な構造物の機能について、Robertson(1981)は、呼吸のためのガス交換、代謝の促進、防御、粘着、上昇速度への影響などをあげ、そのなかでも産卵場所と海面との間を卵が浮上する速度に大きな関わりを持っているとする。

人工受精直後のキンメダイ卵が、互いに粘着して卵塊を作る性状は、海水に接触させた未受精卵の観察からも確認される。本種の卵は、産卵直後から分離していると考えられていたが(大西, 1968), 今回の観察によって産卵直後は一時的に粘着性を持つことが判明した。未受精卵のnpp表面に観察される綿状の物質は、nppの粘着力に関係しているものと推測される。奥村(1999)はアカアマダイの産卵直後の卵は、粘液に包まれた卵塊をなすが、受精すると徐々に崩れて水面に浮かび、数時間後には分離浮遊卵になることを報告している。キンメダイにおいても産出直後の未受精卵は卵塊を形成し、卵の拡散を防止して受精効率を高めているものと推定され、受精後にnppの分布密度が低下することからも、nppには卵塊を形成して効率的な受精を補助する役割があると考えられる。又、受精後にnppが脱落した場合、卵の内部構造への影響は考えられず、nppの減少によって卵発生が促進される可能性が考えられる。天然に

おいてキンメダイ卵は、水深100m以深に多く分布し、それより浅い場所では湧昇域を除いて殆ど採集されず、発生の進んだ卵は底層で多く採集されている(久保島, 1995)。キンメダイ卵は分離浮性卵と言われているが、産出卵のnppが時間的脱落にともない、卵の鉛直的な分布に何らかの影響を与えていているのではないかと推測される。

謝 辞

本研究を行うにあたり、試料の採集に多大なご尽力を頂いた神奈川県水産総合研究所の江ノ島丸の皆さんに厚く御礼申し上げる。また、この論文を進めるに当たり有益なご助言を頂いた渡邊良朗教授(東京大学海洋研究所), Dhugal J. Lindsay博士(財・海洋科学技術センター), Chris B. Clarke博士(東京大学海洋研究所)並びに査読者に感謝の意を表する。

引 用 文 献

- 平井明夫. 1991. 浮游性魚卵の同定のための卵膜微細構造の研究. 長崎大学学位論文. 69 pp., 41 pls.
- Ishida, M. and Y. Hirota. 1998. Young of pelagic fishes transported by the Kuroshio, joint symposium on cooperative study of subtropical circulation system, 298–294.
- Konishi, Y. 1999. Developmental and comparative morphology of Beryciformes larvae (Teleostei: Acanthomorpha), with comments on trachichthyid relationships. Bull. Seikai Natl. Fish. Res. Inst., 77: 29–92.
- 久保島康子. 1995. 伊豆諸島周辺海域におけるキンメダイ *Boryx splendens* 卵の分布. 日本水産学会誌, 61: 187–192.
- Miskiewicz, A. G. and T. Trnski. 2000. Berycidae. Pages 170–175 in J. M. Leis and B. M. Carson-Ewart, eds. Larvae of Indo-Pacific coastal fishes: an identification guide to marine fish larvae. Brill, Leiden.
- Mundy B. C. 1990. Development of larvae and juveniles of the alfonsis, *Beryx splendens* and *B. deraecladylus* (Berycidae, Beryciformes). Bull. Mar. Sci., 46: 257–273.
- 大西慶一. 1966. キンメダイ人工孵化についての試み. 魚類学雑誌, 14: 27–33, 3–4 pls.
- 大西慶一. 1968. キンメダイの初期生活史に関する研究—I. 人工ふ化によって得られた卵, 仔魚の形態及び特性について. 静岡県水産試研場研究報告, 1: 17–26.
- 奥村重信. 1999. アカアマダイの親魚養成と種苗生産に関する研究. 日本栽培漁業協会特別研究報, 16: 1–43.
- Robertson, D. A. 1981. Possible functions of surface structure and size in some planktonic eggs of marine fishes. New Zealand J. Mar. Freshw. Res., 15: 47–153.
- 高野和則. 1989. 卵巣の構造と配偶子形成. 隆島史夫・羽生功(編), pp. 3–34. 水族繁殖学. 緑書房, 東京.