

ハゼ亜目魚類精子の微細構造の多様性

原 政子

〒164-8639 東京都中野区南台1-15-1 東京大学海洋研究所

(2002年5月23日受付；2003年8月10日改訂；2003年8月31日受理)

キーワード：ハゼ亜目魚類，精子，微細構造，多様性

魚類学雑誌

Japanese Journal of
Ichthyology

© The Ichthyological Society of Japan 2004

Masako Hara. 2004. Diversity of the sperm morphology in gobioid fishes. *Japan. J. Ichthyol.*, 51(1): 1–32.

Abstract The fine structures of mature spermatozoa were studied using TEM and SEM for 38 gobioid species, representing six families. Spermatogenesis was observed for three species. Gobioid spermatozoa were found to be exceptionally diversified, comprising most of the known teleostean sperm morphs. They were classified into 6 types based on a combination of morphological characters: Type I (20 species, including *Rhyacichthys aspro*)—Nucleus ovoidal to spherical, with distinct or indistinct hiatus in chromatin on lateral surface; single mitochondrion, located opposite chromatin in all but one species; single flagellum. Type II (8 species, including *Sicyopterus japonicus*)—Spherical nucleus without hiatus in chromatin; mitochondria numerous, in several longitudinal columns around base of flagellum; single flagellum. Type III (3 species of Odontobutidae and 4 species of Gobionellinae)—Nucleus spherical to cone-shaped; numerous, multilayered mitochondria; single flagellum. Type IV (*Leucopsarion petersi*)—Spherical nucleus with special anterior accessory; numerous irregularly-shaped mitochondria, around base of flagellum; two flagella. Type V (*Ptereleotris hanae*)—Nucleus bell-shaped, anteriorly attenuated; mitochondria numerous, spherical, around base of flagellum; single flagellum. Type VI (*Schindleria* sp.)—Nucleus elongate, cylindrical, penetrated by flagellum to well beyond anterior tip; single mitochondrion enclosing flagellum at base; single flagellum. Comparison between these types and current gobioid systematics revealed the following points: (1) Rhyacichthyidae and the two subfamilies of Eleotridae shared uniform sperm morphology within Type I. (2) Types IV, V and VI were distinct in having exceptional features. (3) Of six families of Gobioidei, Gobiidae has the most diversified sperm morphology. In addition, present grouping of sperm morphs was compared with gobioid phylogenies derived from molecular evidence. Results suggested that spermatozoa are potentially useful in evaluating the relationships within the Gobioidei.

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

近年、魚類精子の形態的多様性が注目され、系統分類形質としての精子の重要性が強調されている。Jamieson (1991)と Mattei (1991)は、魚類における分類体系の既往の知見を総括する中で、下位分類群よりも上位分類群において、精子形態が単純化する傾向がみとめられること、および上位分類群中の最大分類群であるスズキ目魚類では、特に精子形態が多様化していることを指摘

した。

Hara and Okiyama (1998)は、日本周辺に出現する海産魚類70種について、完成した精子の比較形態学的研究を行い、左右不相称のいわゆる「スズキ型精子」(Mattei, 1970)の存在が、スズキ目魚類精子の多様化に関係していると考えられる多くの事例を報告した。その中でも全世界に約2000種が生息すると言われるハゼ亜目魚類(ハゼ類)(Nel-

Table 1. Collection data and methods of fixation of materials examined

Family	Subfamily	Species	Location/Date	Fixatives*
Rhyacichthyidae		<i>Rhyacichthys aspro</i>	Urauchi River, Iriomote Is., Okinawa Pref. July, 1993	A
Odontobutidae		<i>Odontobutis obscura</i>	Kibitani River, Kaizuka City, Oosaka Pref. July, 1999	B
		<i>Odontobutis interrupta</i>	Korea May, 1999	A
		<i>Odontobutis platycephala</i>	Korea May, 1999	A
Eleotridae	Eleotrinae	<i>Eleotris fusca</i>	Nishiyabe River, Okinawa Pref. August, 1997	A
		<i>Eleotris acanthopoma</i>	Teima River, Okinawa Pref. July, 1998	B
		<i>Eleotris melanosoma</i>	Nakama River, Iriomote Is., Okinawa Pref. June, 1982	A
	Butinae	<i>Butis butis</i>	The Philippines April, 1981	A
		<i>Butis amboinensis</i>	Iriomote Is., Okinawa Pref. July, 1993	A
		<i>Bostrychus sinensis</i>	Yonada River, Iriomote Is., Okinawa Pref. August, 1978	A
Gobiidae	Oxudercinae	<i>Periophthalmus modestus</i>	Man Lake, Okinawa Pref. March, 1999	A
		<i>Scartelaos histophorus</i>	Nakagusuku Bay, Okinawa Pref. June, 1999	C
		<i>Boleophthalmus pectinirostris</i>	Ariake Sound, Saga Pref. June, 2001	B
	Sicydiinae	<i>Sicyopterus japonicus</i>	Tonta River, Wakayama Pref. September, 2002	B
		<i>Odontamblyopus lacepedii</i>	Ariake Sound, Saga Pref. August, 2001	B
	Gobionellinae	<i>Acanthogobius flavimanus</i>	Hayama Inshore, Kanagawa Pref. February, 1999	B
		<i>Rhinogobius</i> sp. CB	Genka River, Okinawa Pref. March, 1996	B
		<i>Rhinogobius</i> sp. DA	Genka River, Okinawa Pref. March, 1996	B
		<i>Tridentiger kuroiwae</i>	Genka River, Okinawa Pref. February, 1997	B
		<i>Tridentiger brevispinis</i>	Oota River, Shizuoka Pref. April, 2001	B
		<i>Gymnogobius breunigii</i>	Orikasa River, Iwate Pref. March, 1999	B
		<i>Gymnogobius urotaenia</i>	Orikawa River, Iwate Pref. May, 2001	B
		<i>Gymnogobius petschiliensis</i>	Orikasa River, Iwate Pref. May, 2001	B
		<i>Luciogobius guttatus</i>	Kawachi River, Shizuoka Pref. April, 1998	B

Table 1. (Continued)

Family	Subfamily	Species	Location/Date	Fixatives*
		<i>Leucopsarion petersii</i>	Hatauchi River, Shizuoka Pref. April, 1998	
Gobiidae	Gobiinae	<i>Eviota prasina</i>	Sata Cape, Kagoshima Pref. September, 1982	B
		<i>Amblygobius phalaena</i>	Sesoko Is. Inshore, Okinawa Pref. August, 1998	B
		<i>Acentrogobius viridipunctatus</i>	Nakagusuku Bay, Okinawa Pref. April, 1999	B
		<i>Acentrogobius pflaumii</i>	Oota River, Shizuoka Pref. May, 2001	B
		<i>Pleuroscyia muscarum</i>	Sesoko Is. Inshore, Okinawa Pref. July, 1998	B
		<i>Valenciennea longipinnis</i>	Sesoko Is. Inshore, Okinawa Pref. August, 1998	B
		<i>Paragobiodon echinocephalus</i>	Sesoko Is. Inshore, Okinawa Pref. January, 1997	B
		<i>Cryptocentrus caeruleomaculatus</i>	Sesoko Is. Inshore, Okinawa Pref. August, 1998	B
		<i>Bryaninops yongei</i>	Sesoko Is. Inshore, Okinawa Pref. June, 1996	B
		<i>Fusigobius humeralis</i>	Sesoko Is. Inshore, Okinawa Pref. June, 1996	B
		<i>Favonigobius gymnauchen</i>	Oota River, Shizuoka Pref. June, 2001	B
Microdesmidae	Ptereoleotrinae	<i>Ptereoleotris hanae</i>	Awashima Port, Shizuoka Pref. August. 1998	B
Schindleriidae		<i>Schindleria sp.</i>	Motobu New Port, Okinawa Pref. December, 1998	B

* A Testes were dissected from formalin-fixed specimens and re-fixed with 8% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer. B. 2% paraformaldehyde-2% glutaraldehyde in 0.1 M cacodylate buffer. C. 8% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer.

son, 1994)において、「スズキ型精子」の多様性が注目された。

これまで、種多様性の著しいハゼ類の精子微細構造に関する知見は極めて少なく、Hara and Okiyama (1998)による5種(シマヨシノボリ, クロヨシノボリ, ナガノボリ, ナンヨウミドリハゼ, シラスウオ)以外に、トビハゼ属の1種 *Periophthalmus papilio* (Mattei, 1970), マハゼ(Morisawa, 1982), *Knipowitchia* 属の1種 (Baccetti et al., 1989), およびタナゴモドキ属の1種 *Hypseleotris galii* (Jamieson, 1991)に関する報告があるにすぎない。これらの限られた種の観察結果からも、精子の微

細形態が著しく多様化していることが推測され、ハゼ類が精子形態の分化と系統をめぐる問題を考察するための、良い研究対象になると考えられた。本研究では、主に岩手県沿岸から南西諸島のサンゴ礁域や島嶼河川までのハゼ類38種を採集し、基本的には生体から採取した完成した精子の微細構造を透過型電子顕微鏡(TEM)と走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した。しかし、生体の採集ができなかった数種については、フォルマリンまたはアルコール液浸標本から採取した精巣をTEMで観察した。これらの観察に基づいてハゼ類精子の微細構造の多様性を明らかにし、既往の分類体系との

比較によって、精子形態の系統分類学的な考察を行った。

材 料 と 方 法

ハゼ類38種の種名、採集地、固定方法をTable 1に、記載に用いた精子の構成部位の名称をFig. 1に示す。学名は、明仁他(2000)に従ったが一部Stevenson(2002)を採用した。

精子の走査型電子顕微鏡試料作製 生体から採取した精液の固定は、0.1 M カコジル酸緩衝液(pH7.4)で調整した2%パラフォルムアルデヒドと2%グルタールアルデヒドの混合液中で2時間から1晩4°Cで行った。精巣が小さい個体や魚体数が少ない場合には、精巣を細切して固定をするときに切断面から固定液中に流れ出した精子を遠心分離によって集めて用いた。固定した精子は2500 rpmで15分間遠心分離し、上清みの固定液を捨てた後に、0.1 M カコジル酸緩衝液(pH7.4)を10 ml添加して精子を再懸濁させて洗浄した。さらに同じ条件で遠心分離して、上清みを捨て、0.1 M カコジル酸緩衝液(pH7.4)を10 ml添加して精子の懸濁液を得た。カバーガラスの小片をエタノールで洗浄し、片面に0.1%ポリ-L-リジン水溶液を滴下して5分間静置後、0.1 M カコジル酸緩衝液(pH7.4)でこの面を洗浄した。このカバーガラス上面に精子の懸濁液を1滴のせて、15分間静置してガラス面に精子を付着させた。これをエタノール系列の50%, 70%, 80%, 90%, 95%に各3分間1回ずつと99%を3分間2回漬浸して脱水した。さらに酢酸イソアミルに置換して、液化二酸化炭素で臨界点乾燥後、試料台に木工用ボンドを用いてカバーガラスを張り付け、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)で精子を観察した。

精巣の透過型電子顕微鏡試料 生体から採取した精巣：精巣の細切片の前固定は、0.1 M カコジル酸緩衝液(pH7.4)で調整した2%パラフォルムアルデヒドと2%グルタールアルデヒドの混合液中で2時間から1晩4°Cで行った。その後0.1 M カコジル酸緩衝液(pH7.4)で液を数回交換して洗浄し、この緩衝液中に4°Cで1晩漬浸した。後固定は、0.1 M カコジル酸緩衝液(pH7.4)で調整した1%四酸化オスミウムの混合液中で2時間(室温)行った。脱水は50%, 70%, 80%, 90%, 95%のエタノール系列に5分間ずつ各2回と99%エタノールに15分間ずつ2回漬浸して行った。そして酸化プロピレンに10分間ずつ2回漬浸した後、酸化プロピ

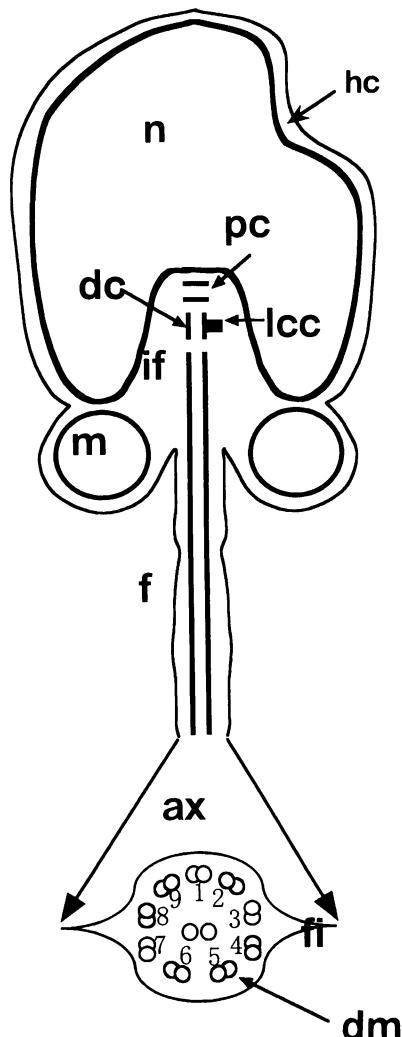


Fig. 1. Fundamental structure of gobioid fish spermatozoon. n: nucleus; hc: hiatus in chromatin; if: implantation fossa; pc: proximal centriole; dc: distal centriole; lcc: lateral centriolar connection; m: mitochondrion; f: flagellum; fi: fin; ax: axoneme; dm: doublet microtubule.

レンとエポン812の等量混合液中で1晩置換した。翌日ローターを使用して5時間エポン812を浸透させた後、新しく調整したエポン812に包埋して60°Cの恒温器で2晩重合させた。ウルトラトームV(LKB社製)でダイヤモンドナイフを使用して超薄切片を作製し、5%酢酸ウラン水溶液15分間と0.1%クエン酸鉛水溶液5分間の二重染色を室温で施し、JEM100CX(日本電子社製)透過型電子顕微鏡で観察した。

フォルマリン固定標本から採取した精巣：10%フォルマリン水溶液固定、または10%フォルマリ

ン水溶液に固定した後に80%エタノールに置換して保存した標本から精巣を取り出して細切した後、0.1Mリン酸緩衝液(PH7.4)と8%パラフォルムアルデヒドの混合液中(室温)で2時間から1晩再固定した。次に0.1Mカコジル酸緩衝液(PH7.4)で数回液を交換して洗浄し、この緩衝液中で、4°Cで1晩漬浸した。後固定以後は生体の精巣と同じように処理を行って観察した。

結 果

完成精子の形態

ツバサハゼ *Rhyacichthys aspro* (Fig. 2A)
精子の核は、長さ1.3 μm、幅1.2 μmのほぼ球形であり、核の側面に幅0.4 μm、深さ0.3 μmの窪みを持つ。核の中央に円錐形の鞭毛陷入域が形成される。核内のクロマチンは、均一な顆粒状に濃縮(核の顆粒層)して全体の電子密度は高い。核の顆粒層は、窪みの部分が薄い。核の鞭毛陷入域の最深部に中心小体が位置し、このうちの遠位中心子から1本の鞭毛が伸長する。単一のミトコンドリアは直径0.6 μmの球形をなし、核の側面の窪みとは反対側に位置し、核の基底部と鞭毛に接する。中心小体とミトコンドリアの最大径を通る面をみると、核の先端から後端までの長さは、ミトコンドリアが位置する側(ミトコンドリア側)が短い。

ドンコ *Odontobutis obscura* (Fig. 2B, C)
精子の全長は30 μm、核は長さ1.6 μm、幅1.3 μmの卵円形である。SEM像では、核の全表面に不規則な凹凸がある(Fig. 2B)。核内のクロマチンは塊状に濃縮し、所々に空胞を含むが、全体の電子密度は高い(Fig. 2C)。核の基底部に円柱形の浅い鞭毛陷入域が形成され、そこに近位中心子が位置する。これと直交する遠位中心子は鞭毛陷入域の外に位置し、ここから1本の鞭毛が伸長する(Fig. 2C)。複数のミトコンドリアは、直径0.5–0.8 μmの球形で、鞭毛の基部を取り巻く(Fig. 2B, C)。ミトコンドリアのクリステはさまざまな形の小管状や櫛状に良く発達し、基質には微細顆粒が詰まっている。鞭毛の軸糸構造の周囲に波動膜が観察され、その両端は長く伸びている(Fig. 2B, C)。

セマダラドンコ *Odontobutis interrupta* (Fig. 2D)
精子の核は長さ5.5 μm、基底部の幅が1.7 μmの円柱形である。核は基底部から先端部に向かう途中でくびれて細い箇所があるが、先端は約0.4 μm盛りあがる。核内のクロマチンは、大きく不均一な塊状に濃縮しているために核の全表面に凹凸があり、所々に空胞も含むが、全体の電

子密度は高い。核の基底部に円柱形の浅い鞭毛陷入域が形成され、ここに近位中心子が位置する。これと直交する遠位中心子は鞭毛陷入域の外に位置し、ここから1本の鞭毛が伸長する。複数のミトコンドリアは、いずれも直径1.0 μm前後の球形で、鞭毛の基部を複層に取り巻く。鞭毛の軸糸構造の周囲に波動膜が観察される。

コウライドンコ *Odontobutis platycephala* (Fig. 2E, F)
精子の核は長さ2.5 μm、基底部の幅が1.3 μmの円柱状である。核は先端部近くで幅0.8 μmに括れて細くなるが、先端は約0.4 μm盛りあがる(Fig. 2E)。核内のクロマチンは大きく不均一な塊状に濃縮しているために核の表面に凹凸があり、所々に空胞も含むが全体の電子密度は高い(Fig. 2E)。核の基底部に円柱形の浅い鞭毛陷入域が形成され、ここに近位中心子が位置する。これと直交する遠位中心子は鞭毛陷入域の外に位置し、ここから1本の鞭毛が伸長する(Fig. 2F)。複数のミトコンドリアは、それぞれが直径0.5–1 μmの球形で、1本の鞭毛の基部を取り巻く(Fig. 2E)。

テンジクカワアナゴ *Eleotris fusca* (Fig. 3A)
精子の核は長さ2.3 μm、幅1.9 μmの卵円形であり、核の側面に幅1 μm、深さ0.3 μmのロート状の窪みを持つ。核の中央に、広くて深い円錐形の鞭毛陷入域が形成される。核内のクロマチンは大きな塊状に濃縮しているため、核の表面には凹凸があるが、全体の電子密度は高い。核の顆粒層は、側面の広い窪みの部分で薄くなる。核の鞭毛陷入域の最深部に近位中心子が位置し、これと直交する遠位中心子から1本の鞭毛が伸長する。単一のミトコンドリアは直径1.1 μmの球形で、核の側面の窪みとは反対側に位置し、核の基底部と鞭毛に接する。中心小体とミトコンドリアの最大径を通る面をみると、核の先端から後端までの長さは、ミトコンドリア側が短い。

チチブモドキ *Eleotris acanthopoma* (Fig. 3B–D)
精子の全長は30 μmで、核は長さ2.3 μm、幅1.9 μmの卵円形である(Fig. 3B, C)。SEM像では、核の全表面に不規則な凹凸があり、先端の中心からずれた位置に幅0.2 μm、高さ0.1 μmの小さな穴を持つ(Fig. 3C)。核の中央に広い円錐形の鞭毛陷入域が形成される。核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮して電子密度は高い。核の顆粒層は、先端部付近において幅0.2 μmにわたって観察されず、鞭毛陷入域に突き抜ける核の穴を核膜と細胞膜が覆う(Fig. 3D)。核の鞭毛陷入域の最深部に近位中心子が位置し、これと直交する遠位中心

子から1本の鞭毛が伸長する。単一のミトコンドリアは直径 $0.9\text{ }\mu\text{m}$ の球形で、核の先端部付近の穴とは反対側に位置し、核の基底部と鞭毛に接する(Fig. 3C, D)。ミトコンドリアのクリステはさまざまな形の小管状や櫛状に良く発達し、基質には微細顆粒が詰まっている(Fig. 3D)。鞭毛の軸糸構造は9+2型で、その周囲に波動膜が観察される(Fig. 3B, D)。中心小体とミトコンドリアの最大径を通る面をみると、核の先端から後端までの長さは、ミトコンドリア側と核の穴が位置する側(核の穴側)で同じである(Fig. 3D)。

オカメハゼ *Eleotris melanosoma* (Fig. 3E)
精子の核は長さ $1.4\text{ }\mu\text{m}$ 、幅 $1.4\text{ }\mu\text{m}$ の球形で、核の側面に幅 $0.4\text{ }\mu\text{m}$ 、深さ $0.2\text{ }\mu\text{m}$ の窪みを持つ。核の中央に深い円錐形の鞭毛陷入域が形成される。核内のクロマチンは、均一な顆粒状に濃縮して電子密度は高い。核の顆粒層は、側面の窪み部分が薄い。核の鞭毛陷入域の最深部に近位中心子が位置し、これと直交する遠位中心子から1本の鞭毛が伸長する。単一のミトコンドリアは長さ $0.9\text{ }\mu\text{m}$ 、幅 $0.7\text{ }\mu\text{m}$ の楕円形で、核の側面の窪みとは反対側に位置し、核の基底部と1本の鞭毛に接する。中心小体とミトコンドリアの最大径を通る面をみると、核の先端から後端までは、ミトコンドリア側の幅が著しく広いが、長さはほぼ同じである。

ノコギリハゼ *Butis butis* (Fig. 3F)
精子の核は長さ $1.3\text{ }\mu\text{m}$ 、幅 $1.2\text{ }\mu\text{m}$ のほぼ球形で、核の側面に幅 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 、深さ $0.1\text{ }\mu\text{m}$ の浅い窪みを持つ。核の中央に形成される深い円錐形の鞭毛陷入域に、空洞部が分岐している。核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し、所々に空胞を含むが、全体の電子密度は高い。核の顆粒層は、側面の窪み部分が薄い。核の鞭毛陷入域の最深部に近位中心子が位置し、これと直交する遠位中心子から1本の鞭毛が伸長する。単一のミトコンドリアは直径 $0.7\text{ }\mu\text{m}$ の球形で、核の窪みとは反対側に位置し、核の基底部と鞭毛に接する。中心小体とミトコンドリアの最大径を通る面をみると、核の先端から後端までは、ミトコンドリア側の幅が広いが、長さはほぼ同じである。

ヤエヤマノコギリハゼ *Butis amboinensis* (Fig. 3G)
精子の核は長さ $0.9\text{ }\mu\text{m}$ 、幅 $0.7\text{ }\mu\text{m}$ のほぼ球形で、核の側面に幅 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 、深さ $0.1\text{ }\mu\text{m}$ の浅い窪みを持つ。核の中央に、深い円錐形の鞭毛陷入域が形成される。核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮して電子密度は高い。核の顆粒層は側面の浅い窪み部分が薄い。核の鞭毛陷入域の最

深部に近位中心子が位置し、これと直交する遠位中心子から1本の鞭毛が伸長する。単一のミトコンドリアは直径 $0.6\text{ }\mu\text{m}$ の球形で、核の窪みとは反対側に位置し、核の基底部と鞭毛に接する。中心小体とミトコンドリアの最大径を通る面をみると、核の先端から後端までの長さは、ほぼ同じである。

ジャノメハゼ *Bostrychus sinensis* (Fig. 3H)
精子の核は長さ $1.2\text{ }\mu\text{m}$ 、幅 $1.2\text{ }\mu\text{m}$ の球形で、核の側面に幅 $0.8\text{ }\mu\text{m}$ 、深さ $0.2\text{ }\mu\text{m}$ のロート状の窪みを持つ。核の中央に円柱形の鞭毛陷入域が形成される。核内のクロマチンは不均一な塊状に濃縮し、所々に空胞を含むが、全体の電子密度は高い。核の顆粒層は、側面の窪み部分で薄い。核の鞭毛陷入域の最深部に近位中心子が位置し、これと直交する遠位中心子から1本の鞭毛が伸長する。単一のミトコンドリアは直径 $1\text{ }\mu\text{m}$ の球形で、核の側面の窪みとは反対側に位置し、核の基底部と鞭毛に接する。中心小体とミトコンドリアの最大径を通る面をみると、核の先端から後端までは、ミトコンドリア側の幅が広くて短い。

トビハゼ *Periophthalmus modestus* (Fig. 4A)
精子の核は長さ $1.25\text{ }\mu\text{m}$ 、幅 $1.25\text{ }\mu\text{m}$ の球形である。核の中央に円柱形の浅い鞭毛陷入域が形成される。核内のクロマチンは、塊状に濃縮して所々に空胞を含むが、全体の電子密度は高い。核の鞭毛陷入域の最深部に、近位中心子と遠位中心子が約45度の角度で位置し、遠位中心子から1本の鞭毛が伸長する。単一のミトコンドリアは長さ $0.8\text{ }\mu\text{m}$ 、幅 $1\text{ }\mu\text{m}$ の楕円形で、核の基底部と鞭毛に接する。ミトコンドリアのクリステは櫛状に発達する。中心小体とミトコンドリアの最大径を通る面をみると、核の先端から後端までの長さは、ミトコンドリア側が著しく短い。

トカゲハゼ *Scartelaos histophorus* (Fig. 4B, C)
精子の全長は $32\text{ }\mu\text{m}$ で、核は直径 $1.3\text{ }\mu\text{m}$ の球形である。SEM像では、核の全表面に不規則な凹凸があり、核の側面に幅 $0.5\text{ }\mu\text{m}$ の窪みを持つ(Fig. 4B)。核の中央に大きな円柱形の鞭毛陷入域が形成される。核内のクロマチンは大きな塊状に濃縮して粗いが、電子密度は高い。核の顆粒層は全体的に薄く、先端部付近の幅 $0.3\text{ }\mu\text{m}$ 、深さ $0.3\text{ }\mu\text{m}$ の範囲で認められず、この部分で鞭毛陷入域に突き抜ける穴を核膜と細胞膜が覆う(Fig. 4C)。核の鞭毛陷入域の最深部に、近位中心子と遠位中心子が約45度の角度で位置し、遠位中心子から1本の鞭毛が伸長する。単一のミトコンドリアは直径 $1.2\text{ }\mu\text{m}$ の球形で、核の穴とは反対側に位置し、

核の基底部と鞭毛に接する (Fig. 4B, C). ミトコンドリアのクリステはさまざまな形の小管状や櫛状に良く発達し、基質には微細顆粒が詰まっている (Fig. 4C). 鞭毛の軸糸構造は9+2型で、その周囲に波動膜があり、膜の両端は鰓状に伸びる (Fig. 4C). 中心小体とミトコンドリアの最大径を通る面をみると、核の先端から後端までの長さは、ミトコンドリア側が短い (Fig. 4C).

ムツゴロウ *Boleophthalmus pectinirostris* (Fig. 4D, E) 精子の全長は20 μmで、核は長さ1.7 μm、幅1.3 μmの卵円形である (Fig. 4D). SEM像では、核の全表面に不規則な凹凸がある (Fig. 4D). 核の基底部から先端部に向かって斜めに円柱形の鞭毛陷入域が形成される。核内のクロマチンは塊状に濃縮し、所々に空胞を含むが全体的な電子密度は高い。核の鞭毛陷入の最深部に、近位中心子と遠位中心子が約45度の角度で位置し、遠位中心子から1本の鞭毛が伸長する (Fig. 4E). 単一のミトコンドリアは直径1.5 μmの球形で、核の基底部と鞭毛に接する。ミトコンドリアのクリステはさまざまな形の小管状や櫛状に発達し、基質には微細顆粒が詰まっている (Fig. 4E). 鞭毛の周囲に波動膜が認められ、膜の両端は長く伸びる (Fig. 4D). 中心小体とミトコンドリアの最大径を通る面をみると、核の先端から後端までの長さは、ミトコンドリア側が短い (Fig. 4E).

ボウズハゼ *Sicyopterus japonicus* (Fig. 4F, G) 精子の全長は20 μmで、核は直径1.6 μmの球形である (Fig. 4F). SEM像では、核の全表面に不規則な凹凸が観察される (Fig. 4F). 核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し、わずかな空胞を含むが全体的な電子密度は高い (Fig. 4G). 核に鞭毛陷入域は形成されず、核の基底部の外に近位中心子と遠位中心子が直列して位置し、遠位中心子から1本の鞭毛が伸長する (Fig. 4G). 鞭毛の周囲に波動膜が確認され、その両端は長く伸びる (Fig. 4G). ミトコンドリアは棒状で、複数が核の赤道部から鞭毛の基部までを複層に取り巻く (Fig. 4F, G). ミトコンドリアのクリステはさまざまな形の小管状や櫛状に良く発達し、基質には微細顆粒が詰まっている (Fig. 4G).

ワラスボ *Odontamblyopus lacepedii* (Fig. 5A-D) 精子の全長は33 μmで、核は長さ1.5 μm、幅1.7 μmのほぼ球形である (Fig. 5A, B). SEM像では、核の全表面に細かい凹凸がある (Fig. 5B). 核内のクロマチンは均一な顆粒状に濃縮し全

体的な電子密度は中程度である (Fig. 5C). 核の基底部に浅く小さな鞭毛陷入域が形成され、そこに近位中心子が位置する。これと直交する遠位中心子は鞭毛陷入域の外に位置し、ここから1本の鞭毛が伸長する。約30個のミトコンドリアは直径0.3 μmの小さな球形で、それらが核の赤道部から鞭毛の基部までを取り巻いている (Fig. 5B, D). ミトコンドリアのクリステはさまざまな形の小管状や櫛状に良く発達し、基質には微細顆粒が詰まっている (Fig. 5D). 鞭毛の周囲に波動膜が観察される (Fig. 5B, C).

マハゼ *Acanthogobius flavimanus* (Fig. 5E-H) 精子の全長は50 μmと長く、核は直径1.6 μmの球形である。SEM像では、核の全表面に細かい凹凸がある (Fig. 5E). 核内のクロマチンは小さな塊状に濃縮し、所々に空胞も含むが、全体的な電子密度は中程度である (Fig. 5F, G). 核の基底部にダルマ型の小さな鞭毛陷入域が形成され、上段に近位中心子が位置する。これと直行する遠位中心子は下段に位置し、ここから1本の鞭毛が伸長する (Fig. 5G). 約8個のミトコンドリアは、それぞれが直径0.8 μm前後の卵円形で、鞭毛の基部を取り巻く。ミトコンドリアのクリステは、櫛状、小管状、小胞状などの形状を示し、基質には微細顆粒が詰まっている (Fig. 5H). 鞭毛の軸糸構造は9+2型で、その周囲に波動膜が観察される (Fig. 5F, H).

シマヨシノボリ *Rhinogobius sp. CB* (Fig. 6A-C) 精子の全長は28 μmで、核は直径1.5 μmの球形である。SEM像では、核の全表面に不規則な凹凸があり、先端部に小さく浅い窪みを持つ (Fig. 6A). 単一のミトコンドリアは直径1 μmの球形で、核の小さな窪みと反対側の核の直下に位置し、核の基底部と鞭毛に接する (Fig. 6B). このため浅い円柱形の鞭毛陷入域は、核の基底部から先端部に向かって斜めに形成される。核内のクロマチンは塊状に濃縮し、所々に空胞も含むが、全体的な電子密度は高い。核の顆粒層は先端部に浅い窪みがあるほかは、全体的に厚い (Fig. 6B). 核の小さい鞭毛陷入域に、近位中心子が位置する。これと直交する遠位中心子は鞭毛陷入域の外に位置し、ここから1本の鞭毛が伸長する。ミトコンドリアのクリステは、さまざまな形の小管状や櫛状に良く発達し、基質には微細顆粒が詰まっている (Fig. 6B). 鞭毛の軸糸構造は9+2型で、ダブルレット微小管の5と6に面して波動膜が観察される。波動膜の左右の両端は長く伸び、先端はうちわ状に

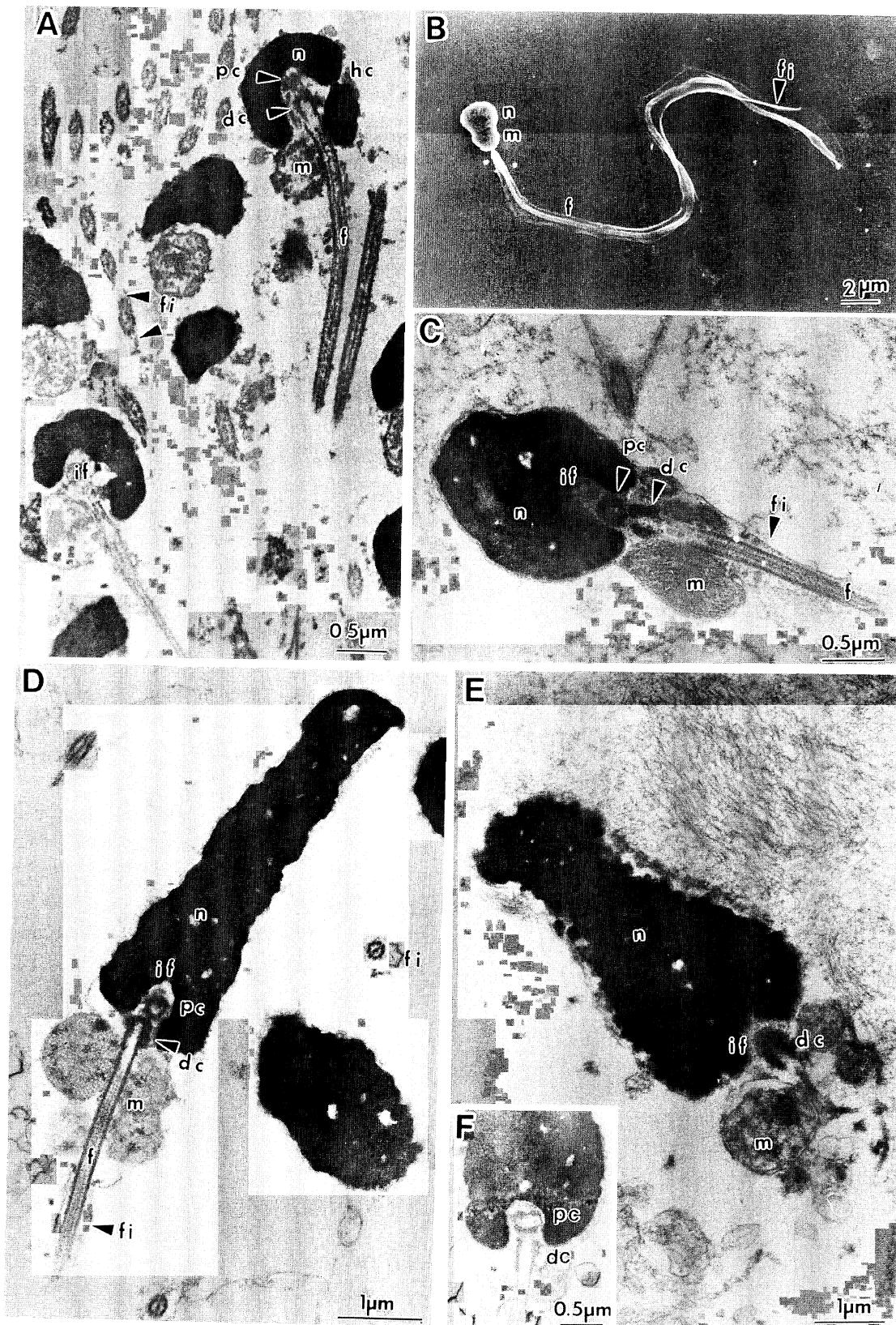


Fig. 2. TEM and SEM of spermatozoa. Abbreviations as in Fig. 1. *Rhyacichthys aspro* (A), *Odontobutis obscura* (B, C), *Odontobutis interrupta* (D), *Odontobutis platycephala* (E, F).