

淡水産硬骨魚類 *Macropodus opercularis* と *Betta splendens* 胚における孵化腺細胞の分布について

大 氏 正 己・小 笠 原 靖 子*

(島根大学・文理学部・生物学教室)

(1970.9.12受理)

On the Distribution of the Hatching Gland Cells of the Two Species
of Fresh-water Teleosts, *Macropodus opercularis* and *Betta splendens*.

Masami OUJI and Yasuko OGASAWARA*

(Department of Biology, Shimane University, Matsue, Japan)

Abstract

The distribution and developmental changes of hatching gland cells during phylogenesis have a subject of great interest to embryologists. Our knowledge on the hatching gland cells in the Class Osteichthyes is very limited at present, and our investigations on them having been less progressed.

Here the present authors have undertaken, with the above view in mind, a comparative study on the development of the hatching gland cells in embryos of two species of fresh-water teleosts, *Macropodus opercularis* and *Betta splendens*. There may be a expectancy of this study contributes something to the morphological aspects of development.

In embryos just before hatching of the two species, the distribution of hatching gland cells was observed. In embryos of *Macropodus opercularis*, the number of the hatching gland cells approximates 370 in total. The cells are found in the epithelium covering the surface of the upper region of the head. In embryos of *Betta splendens*, the hatching gland cells numbering about 180 in total. They appear in the epithelium covering the surface of the highest region of the head.

* Present adress : Retina Foundation 20, Stanfort Street, Boston, Massachusetts, U. S. A.

硬骨魚類，スズキ目 (percida)，キノボリウオ亜目 (Anabantina)，キノボリウオ科 (Anabantidae) に属する魚類は一般に闘争性を帯びるものも多く，呼吸方法も他の科に属する魚類と著しく異なり，鰓呼吸のほか，水面に顔を出して直接空気を呼吸する方法もとる。そのため普通の魚が生息できない酸素の欠乏した水中でも生きていられる。また繁殖方法や産卵習性も変っており，その交尾姿勢や産卵した卵を泡巣につけて発生させること等は他のものではみられない習性といえる。上記の習性をもつ2種の魚類のうち，*Macropodus opercularis* (LINNAEUS) は中国大陸・台湾・琉球・朝鮮を産地とし，その分布は広く，低水温にも強い適応性を持つ。他方，*Betta splendens* REGAN はタイ国を産地とし低水温下では生活できない。このように習性が似て生息条件の異なる両種の胚を28°~29°Cの水温下で発生させると，前者は約18時間，後者は約30時間で孵化する。本報では両種の胚を切片標本とし，その孵化腺細胞の形態，発生ならびに分布の様式について両属間で類似する点があるかを調べた。

材 料 と 方 法

材料には自然産卵による*Macropodus opercularis* (LINNAEUS) 胚と*Betta Splendens* REGAN 胚を用い28°~29°Cの水温のもとで，前者は18時間以上，後者は30時間以上発生を続けさせた。これら両種の胚に現れる孵化腺細胞はこれまでに観察した魚胚に出現するものと較べ著しく小型で，生まの材料での観察が困難であったため，すべて卵殻膜を取り除き，ブアン液で固定し，8 μ のパラフィン切片としたのち，アザン染色を施して顕微鏡観察を行なった。観察は胚に孵化腺母細胞が認められる時期から孵化期までを，*Macropodus opercularis* 胚では5段階に，*Betta Splendens* 胚では8段階に分けて行った。

観 察 結 果

Macropodus opercularis 胚について

1. 受精後約4時間目の胚 (Fig. 1)。

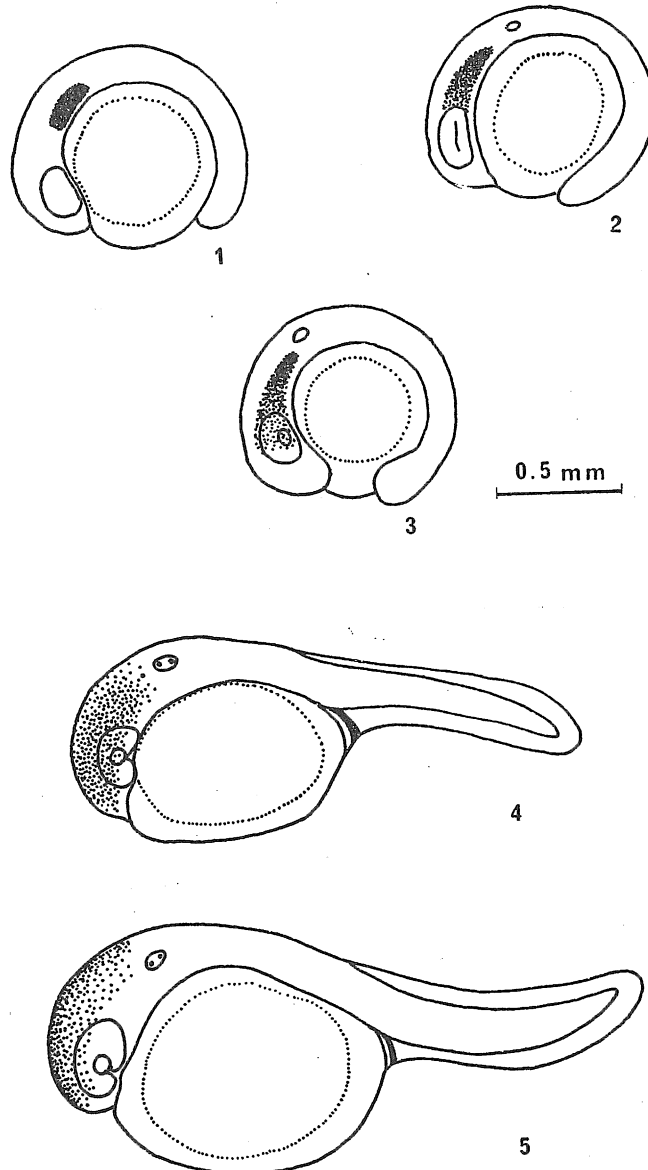
胚体の尾端が卵黄囊に沿って伸び，その約 $\frac{1}{4}$ に達し眼胞も明瞭になった頃，各々の眼胞直後の体側下方の表皮下に，大型核をもつ球形をした大型の孵化腺母細胞が集団をなして肥厚部をつくるのがみられる。この時期の孵化腺母細胞の細胞質中にはアザン染色に反応する分泌顆粒は全く認められない。

2. 受精後約7時間目の胚 (Fig. 2)。

発生にともない，眼胞が眼杯へと変化し，耳胞も現れ，体節は15をかぞえる頃，孵化腺細胞は母細胞の出現した位置を離れて Fig. 2 に示されるように眼杯後縁に向かって移動し分布の範囲が広がる。移動を行なっているこの時期の腺細胞をみると，細胞は球形から長楕円に形を変え，腺分化も開始されて，細胞質中には2~3の分泌顆粒が出現し，これらの分泌顆粒は淡くアニリン青に反応している。

3. 受精後約11時間目の胚 (Fig. 3) 。

胚の尾端が卵黄囊から離れ、その約 $\frac{7}{8}$ 附近に達した頃、耳の部分に近い胚体部と卵黄囊上皮の一部に少数の色素胞が出現する。また血液の輸送はなされていなが、心臓はゆるやかに搏動し始めた頃、 孵化腺細胞は急速にアニリン青に紫色に強く染まる分泌顆粒の数を増しながら、胚体の伸長とともに、頭部表皮中を頭部の上方と前方とに移動してますます分布の範囲は拡がり、前方に移動した孵化腺細胞は眼の $\frac{3}{8}$ を覆うような分布型をとる。この時期の個々の細胞中に認められる分泌顆粒の数は約20個をかぞえる。顆粒数の増加とともに、アニリン青に対



Figs. 1-5. Pattern of distribution of hatching gland cells at different stages of development in *Macropodus opercularis*.

する染色性も増し、細胞は丸く膨れた形となる。核は分泌顆粒の増加に伴って細胞の一端に移る。

4. 受精後約15時間目の胚 (Fig. 4)。

胚体部および卵黄囊上皮中の色素胞も数を増し、血管中の血液も循環を始め、胚は卵殻内で盛んに筋肉運動を始めた頃、胚の孵化腺細胞は、頭部表皮中を更に前方と上方とに移動し、母細胞の出現した位置からは全く離れて、その分布範囲は、眼レンズの水準を下限としてこれより上方の Fig. 4 に示した範囲に移動してくる。個々の孵化腺細胞中の分泌顆粒の数は、多いものでは約30個に達する。分泌顆粒のアニリン青に対する染色性はこの時期が最も強く、孵化腺細胞の形態も分泌顆粒が充満した状態となる。その長径は約 7.5μ 、短径は約 5μ となり、個々の顆粒はおよそ 0.7μ の直径を有するものとなる。この時期が腺分化の頂点といえる。

5. 受精後約18時間目 (孵化直前) の胚 (Fig. 5)。

孵化直前の胚における孵化腺細胞の最終分布は、その下限を眼の上縁の附近に置いた、それより上方の頭部で、前端は鼻の上部、後端は耳の附近の範囲におよぶ。この時期の胚全体に分布する孵化腺細胞の総数は平均 370 をかぞえ、その多くは細胞質の一端を表皮表層に出している。この時期になると分泌顆粒は溶解を始める。また、溶解していない個々の分泌顆粒の染色性も変化し、アザン染色のアニリン青に対して弱く反応するようになる。分泌顆粒が溶解された状態から以後分泌物は短時間の間に排出され、空胞化した腺細胞の数が増してくる。分泌物の排出の結果卵殻膜は軟化し、激しい胚の卵殻外への脱出運動、特に尾部の運動によって胚は尾端から卵殻膜を脱出して孵化する。

Betta splendens 胚について

1. 受精後約14時間目の胚 (Fig. 6)。

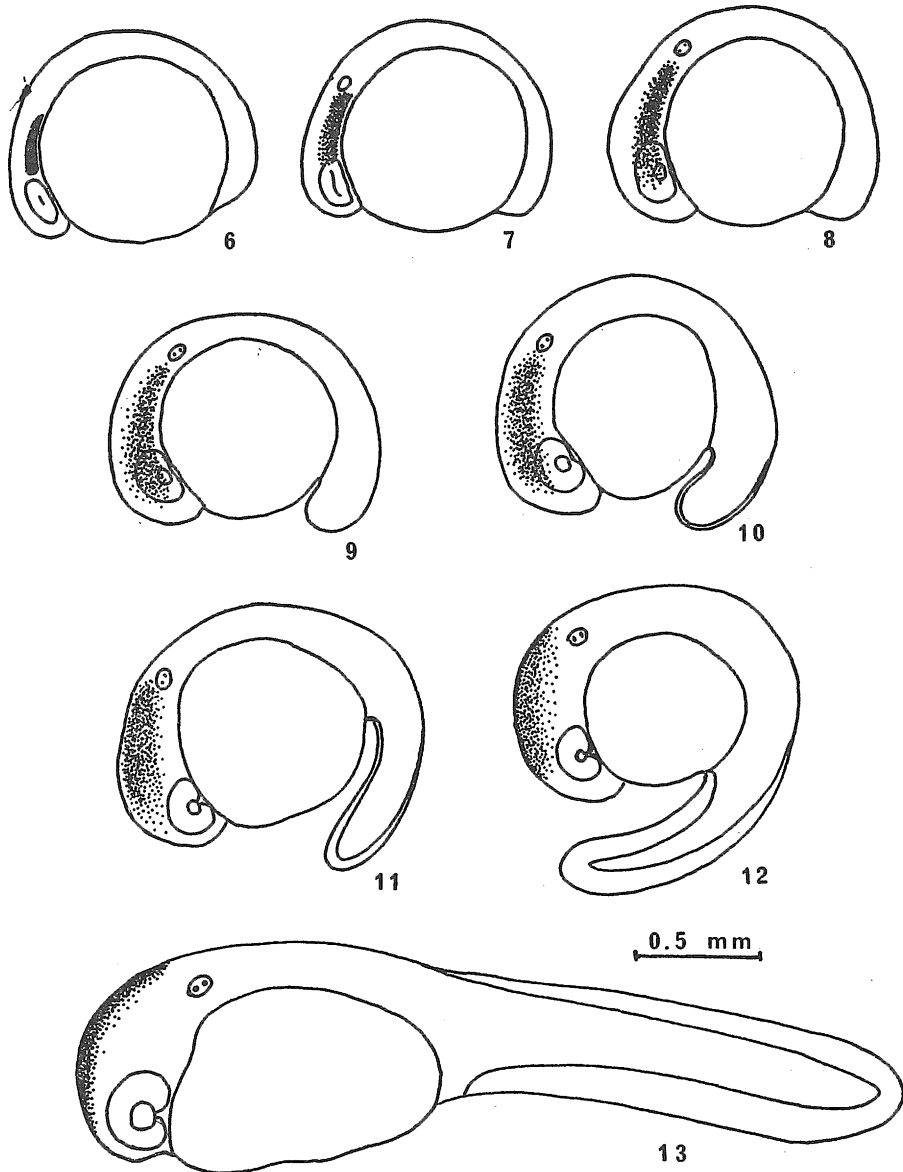
胚の尾端が卵黄囊に沿って、その約 $\frac{3}{4}$ に達し、胚には眼胞が明瞭となり 5 体節をかぞえる頃、頭部両側の眼胞直後の体側下方の表皮下に、後方に向かって帯状に伸びた領域には球形の大型細胞が集団をなして数層からなる肥厚部分をつくる。この領域が孵化腺母細胞の出現域で、ここの細胞は表皮細胞に較べ大型であることから明瞭に区別される。この時期の孵化腺母細胞はその細胞質中にアニリン青に染まる分泌顆粒はまだ出現していない。孵化腺母細胞の長径は約 7μ 、短径は 6.5μ である。

2. 受精後約15時間目の胚 (Fig. 7)。

孵化腺母細胞が現れてから 1 時間を経過すると耳胞が現れる。この時期の孵化腺細胞は腺分化も余り進まないまま母細胞が現れた位置から一部の細胞がわずかに頭部表皮中を移動してその分布範囲を拡げる。移動は前方と上方とに起こる。従って孵化腺母細胞が出現した表皮下の肥厚部分の細胞層の状態も 1 時間前のものと較べて大した変化は見られないが肥厚部分の範囲が幾分狭くなっていることに気づく。肥厚部分にある細胞は母細胞として出現した特と同様の形態を示し、その長径短径共に変わらない。

3. 受精後約17時間目の胚 (Fig. 8)。

眼と耳に水晶体と耳石が形成され、体節が15体節をかぞえる頃になると孵化腺細胞の腺分化は進み、母細胞の生じた原位置から離れ表皮層の中に移動した細胞から順に分泌顆粒が現われてくる。移動は腺分化を始めたものから始まるように観察される。移動が急速に始まったため、肥厚部分を形成していた細胞層もその厚さを減じてくる。移動によって孵化腺細胞の分布範囲は、一番前端に位するものは眼の前縁におよび、上端が眼の上縁の水準、後端は耳の直前



Figs. 6-13. Pattern of distribution of hatching gland cells at different stages of development in *Betta splendens*.

まで広がっている。移動中の腺細胞の形態は扁平な長楕円形をなし、細胞質中には6~10個の分泌顆粒が認められ、それらの顆粒はアザン染色のアニリン青に淡青色に反応する。

4. 受精後18時間目の胚 (Fig. 9)。

体節数が20に達し、胚の尾部が卵黄嚢から離れ、卵黄嚢上皮中に少数の色素胞が出現し、心臓もゆるやかに搏動を始めた頃、孵化腺細胞内には急速にアニリン青に紫色に好染する分泌顆粒の数が増し、顆粒の数も約15個がかぞえられ、顆粒の増加に伴って細胞質は丸く膨む。胚体の著しい伸長とともに、個々の孵化腺細胞はその分布を上げ、更に前方と上方とに移動し範囲が広がる。その結果、分布は眼の直前を最前端とし、眼の中心部の水準をその直前を最前端とし、眼の中心部の水準をその下限とし、耳の直前を後端とする範囲となる。

5. 受精後約21時間目の胚 (Fig. 10)。

体節数が25となり、卵黄嚢上の色素胞も約20個をかぞえる頃になると、血液循環も開始され、胚は卵殻内で盛んに筋肉運動を行なうようになる。この時期の孵化腺細胞はその分布範囲を更に前方と上方に移し、ほとんどの細胞が眼の上縁の水準より上方に分布するようになる。しかし背側正中部の附近にはまだ移動していない。孵化腺細胞中には約20個の分泌顆粒が存在し、アニリン青には強く紫色に反応する。

6. 受精後約23時間目の胚 (Fig. 11)。

体節数が30となり、色素胞が肛門直前附近までみられる頃、孵化腺細胞は更に移動して最も上方に達したものは、頭部背側正中部に達して散在するのがみられる。孵化腺細胞中には約25個の分泌顆粒が存在し、個々の顆粒はアニリン青に幾分赤味を帯びた反応をする。

7. 受精後約25時間目の胚 (Fig. 12)。

卵黄嚢上皮中の色素胞の数が35~36個かぞえられる頃の孵化腺細胞の分布は、頭部からその正中線に沿って耳の前上方の範囲に認められる。この時期で細胞は移動を終り、腺分化も最高の状態に達する。その細胞質中の分泌顆粒の数も30個に達し、個々の顆粒のアニリン青に対する染色性はこの時期が最も強く、赤紫色に反応する。細胞は充満した分泌顆粒のため丸く膨み、核は細胞の一端に押しつけられた形で存在する。孵化腺細胞の長径は約10 μ 、短径は約8 μ 、楕円形をなす。個々の分泌顆粒は約0.8~1 μ の直径をもつ。

8. 受精後約29時間目(孵化直前)の胚 (Fig. 13)。

孵化直前となると、胚は卵殻膜の内部で活発に運動するようになる。この頃の孵化腺細胞は、頭部正中線附近に密集して分布し、その他の部分には見られない。胚全体に分布する孵化腺細胞の総数は約180個で、表皮細胞間に混在し、細胞質の一端を遊離面に接触させている。この時期になると分泌顆粒は溶解し始め、アザン染色に対してこの溶解した物質の染色性はアニリン青に対して一様に淡青色に反応してくる。その後分泌物質は孵化直前の極めて短時間の間に排出され、その結果、卵殻膜は分解されて軟化し、胚の運動、特に尾部の筋肉運動によって、胚は尾端から先に卵殻膜を破り脱出し、孵化する。

9. 孵化直後の胚

孵化直後の胚における孵化腺細胞は、大多数の細胞が分泌物の排出を終っており、核を細胞底に持つ空胞化した細胞の殻として認められる。然し孵化直後の胚には少数ながら分泌物の排出を行っていない孵化腺細胞が認められる。その後1時間を経過した胚にはもはやこれらの孵化腺細胞の残留したものを見ることはできない。

考 察

以上の観察の結果から *Macropodus opercularis* 胚に発生する孵化腺細胞の総数は約370個、*Betta splendens* 胚では180個で、これらの細胞は眼胞が明瞭に生じた直後に、頭部の眼とその後発生してくる耳の位置との間の部分の表皮下に孵化腺母細胞の集団として現れてくる。その後両種の孵化腺細胞は腺分化が始まると表皮に近いものから順次、表皮中を前方と上方とに移動して頭部正中線上の類似した領域に達し分布を終り、分泌物の排出を行なう。その移動の様式と分布の型とは極めて類似する。このことは系統発生学上の観点からも極めて興味ある事で、両種の近縁であることの一つの証明となる事実といえる。また、この孵化腺母細胞の出現する位置から、その発生学的起源は両種とも外胚葉性のものであることが分った。

魚類の胚にみられる孵化腺細胞の分布の範囲は、種類により非常なちがいがあがあるが、その最終分布型を大別すると、1) 胚体表皮のみに存在するもの(ワカサギ・モツゴ)。2) 卵黄囊上皮のみに存在するもの(フナ・キンギョ・コイ・ウグイ・カワムツ)。3) 口腔内上皮と胚体部表皮とに分れて存在するもの(ニジマス・ヒメマス・サケ)。4) 口腔内上皮に存在するもの(メダカ)。5) 背びれの表皮中に存在するもの(シラウオ)などに区別される。このことは内胚葉起源のものを除いて多くのものは、眼と耳の間の表皮下に外胚葉起源の孵化腺母細胞が出現し、その後の移動の様式によって各種の分布の型がとられるものと考えられる。この区分の下では、*Macropodus opercularis* 胚および *Betta splendens* 胚の孵化腺細胞は第1の型に入り、特に頭部の表皮中に位置することがらはモツゴと同型であることが分かった。また胚体表皮に分布を示すものはこれまでのところ、第二次卵黄囊**を形成しない種類に限られていることは興味ある点である。これに対して第二次卵黄囊を形成する魚種では、第2の型や第3の型などにみられるごとく、卵黄囊上皮中に孵化腺細胞が分布する結果となっていることは非常に興味深い。

またこれら2種の魚類胚に現れる孵化腺分泌顆粒は、その発達に従ってアザン染色によるアニリン青に対する親和性が、3つの段階で変化することを示した。これは、分泌顆粒の化学的性質が、3つの時期で変化することが暗示される。最後に排出された分泌物の含まれる液に若い胚の卵殻膜を浸しておく、卵殻膜の性質が軟化することからも、これらの分泌物の中に孵化酵素の含まれることが推定される。

** 発生中卵黄囊の後部に狭窄部が生ずる種類の、狭窄より後部の卵黄囊をこのような名称で表現した。

文 献

- Brown, M. E., 1957 The physiology of Fishes. I. Academic press.
 ————— 1957 ibid., II. Academic Press.
- 伊賀 哲郎. 1959 島大論集9, 64—68.
- Iga, T., 1960 島大開学十周年記念論文集 106~109.
- 伊賀 哲郎. 1961 島大論集10, 69—74
- 石田 寿老. 1948 孵化酵素 北隆館
- 牧野 信司. 1963 原色熱帯魚図鑑 保育社.
- 大氏 正己. 1955 動雑, 64, 277—279.
- Ouji, M., 1959 Jour. Fac. Sci., Hokkaido univ., IV, 14, 282-285.
- 大氏正己・伊賀哲郎. 1961 動雑, 70, 353—355.
 ————— 1961 ibid, 70, 356-360.
- Ouji, M., 1963 山陰文研紀要 4. (自然科学), 16-38
- YAMAMOTO, M, 1963 Jour. Fac. Sci., Univ. Tokyo, IV, 10, 115-128.
- 柳井 隆一. 1952 動雑, 62, 19-22.
- YANAI, T., M. OUJI, T. IGA, 1956 Annot. Zool. Japon., 29, 202-206.