

スナヤツメの人工受精と初期発生

岡山大学医学部解剖学教室（主任：浦 前教授）

藤 本 十 四 秋

防衛庁陸上幕僚監部衛生課

高 岡 要

〔昭和35年12月20日受稿〕

本邦に於けるスナヤツメ (*Lampetra planeri*) の人工孵化や初期発生については、八田 (1893, 1897, 1907, 1923) の研究をはじめ、工藤と浅田 (1936), 市川 (1941), 川島 (1945) 及び山田 (1951) 等の報告があつてかなり詳しく調べられているが、受精以後初期発生の時間的経過については未だ十分明らかにされていない。われわれは血管に注入したスナヤツメの幼生を得る目的で、1950年から1953年の4ヶ年にわたつて人工孵化を行い、その間1952年に行つたものについては初期発生の時間的経過を追求し、それらをことごとく顕微鏡写真に収めることができたのでその経験を述べる。

人工受精に使用したスナヤツメの成体は、岡山県津市市堀坂を流域とする加茂川で、4月半ばから5月上旬にかけて採集した。この時期には大量の成体が産卵のため遡上していくのでそれを捕えるのである。このとき捕獲した成体は人工受精を行うには未だ性熟が十分でないので、その後しばらく流水中に飼育しその熟するのを待つて受精に使用する。

採集の最初の日付は4月13日でその最後は5月10日頃、また人工受精の最初の実施日は5月19日でその最終日は6月13日であるから、採集可能の時期と人工受精を行い得る期間はいづれもほぼ1ヶ月と見做され、この巾はまた採集後十分な性熟に要する日数に当る。

性熟の度合は外観などからほぼ見当がつく。即ち採集直後で性熟の十分でない卵は帶青淡黄色で小さく、腹壁を通して明らかには透見できない。また指腹にてその腹部を圧するも容易に排出されない。性熟が十分になると、卵は帶白淡黄色でやや大きく、密集した卵をその腹壁を通して透見できるようになり、また腹部を軽く圧すると容易に自然に排出される。これは人工受精に適した状態である。雄の場合も同様、その腹部を軽く圧して容易に精液が搾出さ

れるものが受精に適している。これらが人工受精に使用される。

人工受精の方法—大型シャーレでその底部を軽く湿したものを用意し、まず雌の腹部を指腹で軽く圧して卵をなるべく自然に排出させる。次で同様雄の腹部を圧して精液をその上に搾出させ、このとき精液が均等に卵に配分されるように、また卵がなるべく重なり合わないように、卵の粘着力が失われないうちに速かに羽毛をもつて軽くならす。そのまま暫く(10~20分)静置した後、このシャーレに水を注ぎ入れ卵の周囲に附着した余分の精液などを取り除いて清掃し、卵を別の清浄な容器にうつす。その後は水生菌の発生を防ぎ、また換水を十分に行って飼育すればよい。

以上は主として現地から性熟の十分な成体を岡山市の教室に持ち帰つて行つた方法であるが、そのほか棕櫚の毛に受精卵を粘着させることを目的とした鍊早、市川或は山田などの方法も試みたが必ずしもよい成績をうることができなかつた。また感光色素が受精率を昂めるという理由から、イルミノールRⅡの稀釀溶液で処理したものもあるが、その効果については何ともいえない。人工受精の実施例は17例であつたが、そのうち孵化に成功したのは6例であつて、その他では原腸期まで発育した1例のほかは、桑実期或は胞胚期以前に死滅したものが多い(別表)。

以下に上記6例の孵化例における観察に基づいて卵割及びそれに続く初期発生の時間的経過を述べる。

未受精卵は帶白淡黄色で不透明、ほぼ球形を示し、卵膜は卵表面と接していて余り明瞭でない(附図1)。卵と精子の混合し終ったときを受精時と見做すと、受精後3分では卵の動物極中心附近が突起状に変形し、この部の卵膜は卵表面より剥れて所謂受精膜の形成がはじまつている。これは次第に均等に

例	実施日	天候	水温	場所	時間	使用成体		イルミノール RII 使用	結果
						♀	♂		
1	5/19	晴		現地	14.00	1	2	2000倍 15分	一部 Morula
2	5/22	晴		現地	14.30~15.00	1	2	20000倍 30分	Morula, 一部 Blastula
3	5/22	晴		教室	19.00	1	1		孵化
4	5/22	晴		現地	14.30~15.00	1	2	20000倍 30分	Morula, 一部 Blastula
5	5/30	晴		現地	14.00~14.30	1	1	20000倍 10分	孵化
6	5/30	晴		現地及び教室	14.00	1	1		(教室で実施)
7	5/30	晴		現地	15.00	1	1		
8	6/2	晴		現地	14.00~15.00	1	2	2000倍 15分	孵化
9	6/2	21.5°C~23°C		教室	19.00	1	1		
10	6/4	曇	18.8°C	現地	14.00~15.00	1	1		
11	6/7	晴	21.0°C	現地	13.45~13.55	1	1		
12	6/7	晴	26.3°C(室温)	教室	19.00	1	3		孵化
13	6/10			教室	0.30	(頻死)	(頻死)		
14	6/10			教室	0.30	(頻死)	(頻死)		
15	6/13			教室	19.35	1	1		Gastrula
16	6/13		22°C	教室	21.50	1	1		孵化
17	6/13			教室	22.55	1	1		孵化

植物極側に拡がり、30分後では卵の全周囲に及んで完成している。また動物極附近に於ける突起状変形ももとに復している(附図2参照)。このとき動物極でその中心をわざかに離れた部位に小孔が認められ、のちこれが第1分裂溝の起点となるので恐らく精子貫入点と思われる。その後数時間は外観上その形態に著しい変化を示さない。受精後5時間~5時間30分では上記の動物極における小孔を中心に浅い凹みが現われ、これが漸次縦の溝にかわる。のち卵を二等分して縦に走る第1分裂溝に発展するのであるが、30分くらいののちこの第1分裂溝が動物極に明らかとなり、つづく1時間の間に植物極に進んでこれが完成、ここに2分割卵を生ずる(附図3)。第1分裂にひき続き、受精後6時間30分くらいから、第2分裂溝が動物極で第1分裂溝がはじまつた部位にこれと直交する浅い溝としてあらわれ、その後1時間30分から2時間くらいの間に次第に植物極に、既に第1分裂でき上つてある2分割卵に更に縦に二等分するごとくに進む。その結果ここに所謂4分割卵を生ずる(附図4)。引き続き第3分裂に入るが、受精後8時間くらいから、第3分裂溝が水平溝として赤道よりやや動物極により現われる。はじめ第1或は第2分裂溝上に浅い凹みとして現われ、のちこれらと直交する浅い溝に成長し、その後約2時

間の経過で卵の全周をとりまいて完成する。そして動物極側には4個の等大の小球(Micromere)と植物極側には同様4個の等大の大球(Macromere)ができる(附図5)。次で第3分裂が終るか終らないうちに次の分割期となるが、受精後10時間以後から縦の第4分裂溝が、第1と第2分裂溝の間に二条あらわれ、はじめ小球の各々を縦に二分しつつ続いて同様大球の各々も二分して植物極に進む。この間およそ1時間余を要する。かくしてここに所謂16分割卵が形成される(附図6)。続いて、即ち受精後11時間30分頃から次の分裂溝が第3分裂と同様水平に、第3分裂溝を挟んで動物極と植物極側に各一条あらわれ、その後1時間余りの間に既に8個となつている小球と大球をそれぞれ水平に二等分しつつ卵の全周を囲るとここに第5分裂が完了して所謂32分割卵を生ずる(附図7)。これを経て受精後13時間以後から卵は64分割期に入るが、この期の分裂溝は縦に既に完了している他の分裂溝と同様、既に形成されている各分割卵を二等分して動物極から植物極に進み、この間約1時間30分を費して所謂64分割卵となる(附図8)

分裂は前に起つた分裂溝が完全に形成し終るか終らないうちに次の分裂溝が生じて進行する傾向をもつているが、64分割期以後からはようやくこれが顕

著となり、動物極に始まつた分裂溝が植物極に達しない前に、動物極では既に次の分割をはじめているので、植物極の分割が動物極のそれにおくれ、分裂が不完全不規則となる傾向を示していく。更に一つの分裂に要する時間が次第に短縮され、その時間的追求が困難となる。

かくして受精後20時間以後から多細胞期となり桑実胚(Morula)となる(附図9)。この桑実期は受精卵が発育して孵化に至る迄の一つの重要な時期を示すものの如く、孵化例ではすべてこの期まで発育が順調であつたが、孵化に至らなかつた他の多くの例ではこの期以前に発育をやめ死滅した。

さて桑実期はほぼ1日くらい続き、受精後1日半以後から次の胞胚期に入る。胞胚(Blastula)は外観上やや大きな球形となり受精膜のもり上りがやや不明瞭となつて、一見未受精卵を大きくした形を思わせるが(附図10)、その後12時間を経ると赤道より植物極より浅いくびれができて卵が西洋梨型に近くなる(附図11)。これは次の原腸期への移行期と見做すことができるが、受精後2日10時間くらいから上記のくびれに当る部分から、動物極に向う浅い三ヶ月形の陷入が始まり(附図12)初期の原腸胚(Gastrula)となる。原腸の陷入はその後次第に深くなり凡そ12時間くらいで噴火口状を示す時期(附図13)を経て、更に12時間経過すればはじめの原腸陷入口、即ち原口は小さく狭められて小孔となる(附図14)。また原口の部分がやや突出して卵は西洋梨型を呈し、また卵表面と卵膜の間の間隙が大きくなり卵が小さくひきしまつた感じを与える(附図15)。原腸期がおよそ1日から1日半くらい続いて、受精後4日以後から原口の反対側から臍板及び臍溝があらわれ、次第に原口側に発達して神経胚(Neurula)となる(附図16)。またこの時期から将来の頭部と尾部が明らかに区別されて認められる。外観だけからはつきりしたことはいえないが、その後1日くらいの経過で臍板の形成が終りこれが棒状となつてのち臍管が作られるが、この時期は両棲類で臍板が頭方から尾方に閉鎖して臍管を形成する時期に当つている(附図17)。その後胚はその形を変え卵黄も減少して幼生に似た形に近づく。即ち以後1日以内受精後6日目には頭部が発達して他の体部と区別されて明らかとなる(附図18)。その後1日足らずで頸部が明らかとなり(附図19)、更に12時間後には頸部は伸長して(附図20)その運動がみられる。体はなお強く屈曲してゼリー膜内にあるが、頭頸部の発

達とその運動が目立つ(附図21)。このような状態から更に1日を経過すれば、即ち受精後8日乃至9日目には孵化が始まり、ゼリーが徐々に融解して幼生があらわとなつて外に出る(附図22)。孵化した幼生はその後体をやや屈曲したままで余り動かないが(附図23)次第に体を伸展し(附図24)、孵化後5日から6日、受精後2週間くらいで游泳をはじめ(附図25)。その後もかなりあとまで飼育することができたが時間的な追求はここで打切つた。

以上は水温20°C前後の条件で観察したものであるが、水温や季節的な変化で発生の時間的な経過は多少変動し得る。

ここで文献にあらわれたスナヤツメの初期発生の時間的経過を調べてみると、受精膜の形成では最近Kille(1960)が、受精後2秒で動物極にできはじめて2分後には上部1/3に、6分後には植物極附近を残して殆ど全部に受精膜が認められるといい、卵割の受精後の時間的な経過では、Schultze(1855)は第1分裂のはじまりが6時間、第2分裂のそれは8½時間であると述べ、Kupffer(1890)は温度8~10°Cで第1分裂が7時間、第3分裂が12時間、Morulaが30時間、後期のNeurulaが4日、頭部と頸部の発達は夫々6日と7日であるとし、八田(1897)は後期のGastulaは3日、Neurulaは4日以後から、そして孵化は12日を要したと述べている。またVeit(1957)のModellによれば、第1分裂の始めは5¾時間、2細胞期が6¼時間、4~8細胞期が14時間、そして8細胞期は10½時間であることが示されている。

孵化に要する受精後の日数では、八田(1923)は水温11°Cで気温が17°Cのときが14日、15°Cのときが12日13時間であつたが、一般には上記の12日であるとしている。また工藤と浅田(1936)は4週間で7.1mmの幼生を、市川(1941)は2~3月に人工受精を行い18~26日で孵化幼生を、また川島(1945)は5月13日に受精させたもので14~16日で3~4mmの幼生を、そして山田(1951)は5月29日に実施した1例で、10日目に3mmの幼生をそれぞれ得ている。

以上、季節や水温などの関係から発育にはかなりの遅速があり、また詳しく発生の時間的経過を追求したものが少いため、直接われわれの所見と比較することはできないが、以上の時間的な変動の中からみてそれほど大きな差があるとは考えられない。

(本論文の要旨は第9回日本解剖学会、中四国地方会(1954)に於いて発表した)

文

S. Hatta : On the formation of the germinal Layers in Petromyzon. J. Coll. Sci. Univ. Tokyo., 5, 1893.

S. Hatta : Contributions to the morphology of Cyclostomata. I. On the formation of the Heart in Petromyzon. J. Coll. Sci. Univ. Tokyo., 10, 1897.

S. Hatta : On the gastrulation on Petromyzon. J. Coll. Sci. Univ., Tokyo., 21, 1907

S. Hatta : Ueber das Entwicklung des Gefäßsystems des Neunauges, *Lampetra mitsukurii* Hatta. Zool. Jahrb. Anat., 44, 1923.

Hertwig's Handbuch der vorgleichenden und experimentellen Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere. Bd. I, Tl. I, Hft. I, 1906.

Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs.

献

Bd. 6, Ab. I, 1924.

鍊早 : 八ツ目鰻の習性と人工孵化法, 北海道水試事業旬報., 241, 1934.

工藤, 浅田 : ヤツメの双態に就て, 動物誌., 48, 1936.

市川 : 円口類(スナヤツメ) *Lamp. plan.* (Bloch) の膜様迷路に関する研究, 解剖誌., 17, 1941.

川島 : スナヤツメ覚書, 動物誌., 56, 1945.

山田 : スナヤツメの生活史, 採集と飼育., 13, 1951.

Klaus Veit : Einige Beobachtungen über die ersten Furchungsschritte bei *Petromyzon planeri*. Morph. Jahrb., 98, 1957.

R. A. Kille : Fertilization of the lamprey egg. Exp. Cell. Res., 20, 1960.

附 図 説 明

1. 未受精卵, ×60
2. 受精後 1 時間, ×60
3. 受精後 5 時間50分, 2 分割, 側面, ×60
4. 受精後 7 時間30分, 4 分割, 上面, ×60
5. 受精後 9 時間30分, 8 分割, 上面, ×60
6. 受精後11時間10分, 16分割, 側面, ×60
7. 受精後12時間30分, 32分割, 側面, ×60
8. 受精後14時間, 64分割, 上面, ×60
9. 受精後20時間, 桑実胚, 側面, ×60
10. 受精後 1 日12時間, 胚胎前期, 側面, ×60
11. 受精後 2 日, 胚胎後期, 側上面, ×60
12. 受精後 2 日10時間, 原腸胚前期, 下面, ×60
13. 受精後 3 日, 原腸胚中期, 下面, ×60
14. 受精後 3 日15時間, 原腸胚後期, 側面, ×60
15. 受精後 4 日, 原腸胚と神経胚の移行型, 側面, ×60
16. 受精後 4 日18時間, 神經胚前期, 上面, ×60
17. 受精後 5 日12時間, 神經胚後期, 側面, ×60
18. 受精後 6 日 6 時間, 頭部の発達, 上面, ×60
19. 受精後 7 日, 頸部の発達, 側面, ×60
20. 受精後 7 日12時間, 頭頸部の運動, 側面, ×60
21. 受精後 7 日20時間, 孵化前, 上側面, ×60
22. 受精後 8 日12時間, 孵化中, 側面, ×48
23. 受精後 9 日, 孵化後10時間, 側面, ×36
24. 受精後10日, 孵化後2日, 側面, ×36
25. 受精後12日, 孵化後4日, 側面, ×20

Artificial Insemination and the Early Development of the
Planeri Lamprey

By

Toyoaki Fujimoto & K. Takaoka

Department of Anatomy, Okayama University Medical School
(Ex-Director: Prof. R. Ura)

Artificial insemination of the planeri lamprey was tried every Spring in the years from 1950 to 1953. In 6 cases of 17 cases many hatched larvae were obtained. On the change of the appearance the early development of the fertilized eggs was observed in each time with the microphotography. In the following the time of the beginning of each developmental stage was shown.

The 1st cleavage: 5~5½ hours after insemination

The 2nd cleavage: 6½ hours "

Tte 8-cell stage; 8 hours "

The 16-cell stage; 10 hours "

The 32-cell stage: 11½ hours "

The 64-cell stage: 13 hours "

The Morula-stage: 20 hours "

The Blastula-stage: 36 hours "

The Gastrula-stage: 58 hours "

The Neurula-stage: 4 days "

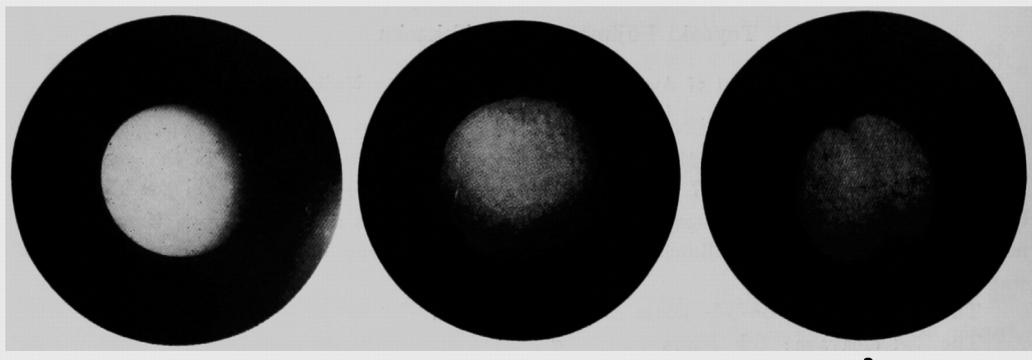
Appearance of the head,

Strengthening of the Neck: 6~7 days "

Hatching: 8~9 days "

Wandering: 2 weeks "

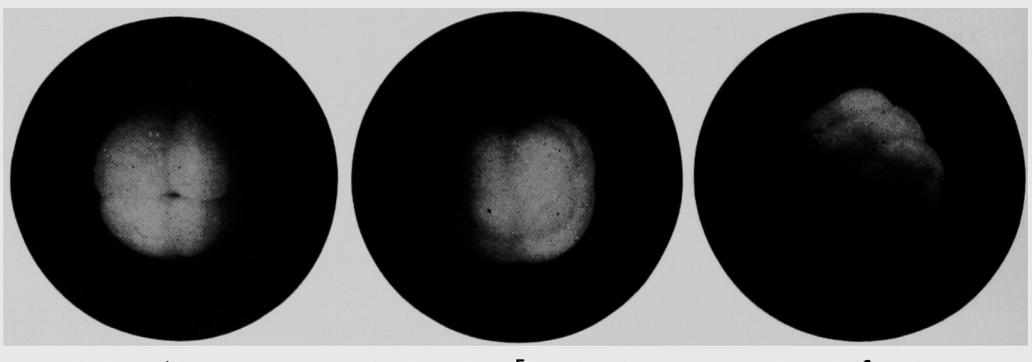
藤本・高岡論文附図



1

2

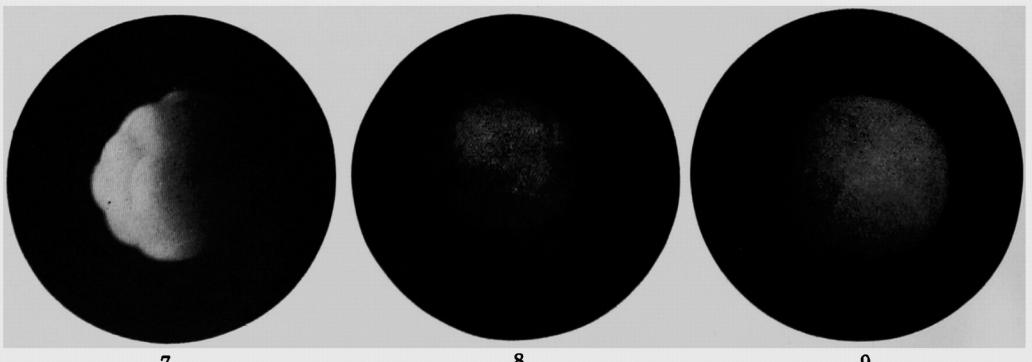
3



4

5

6

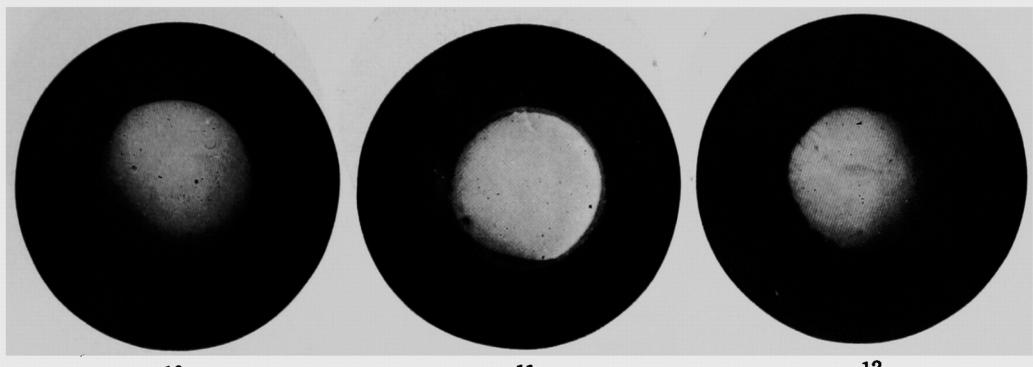


7

8

9

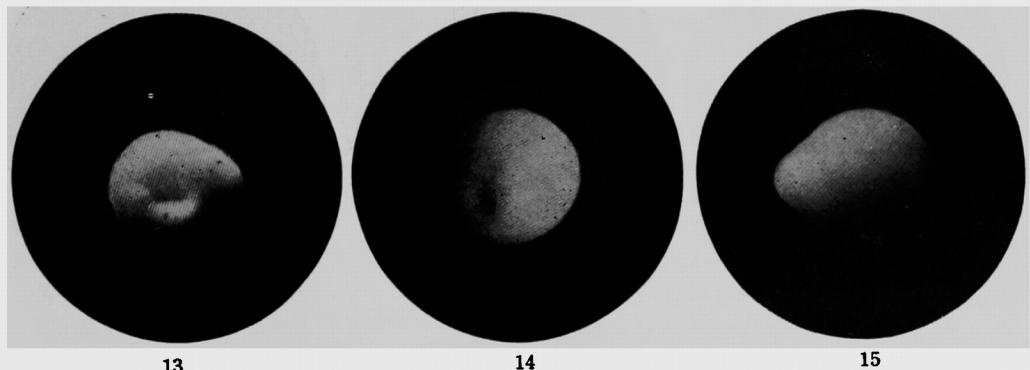
藤本・高岡論文附図



10

11

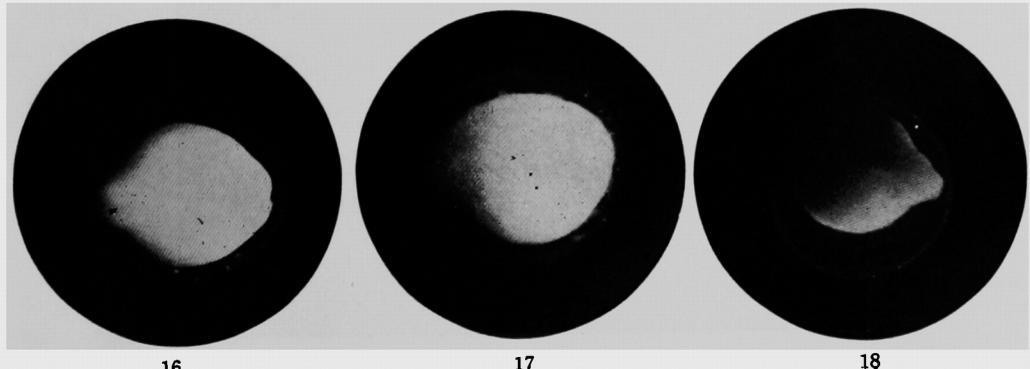
12



13

14

15

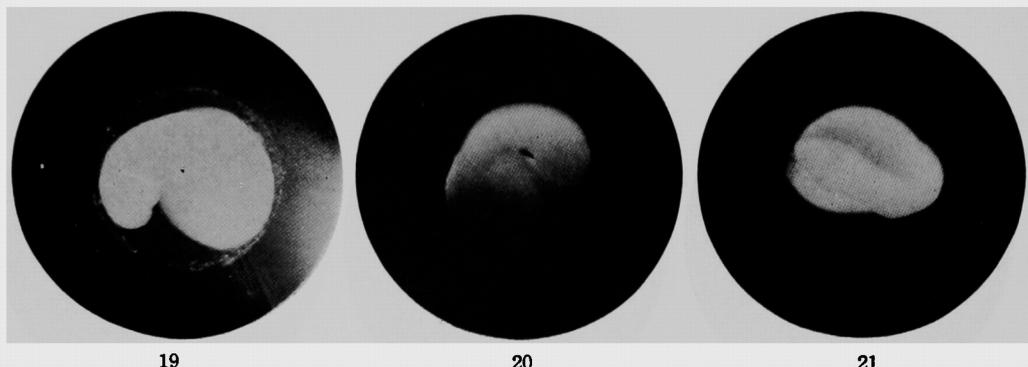


16

17

18

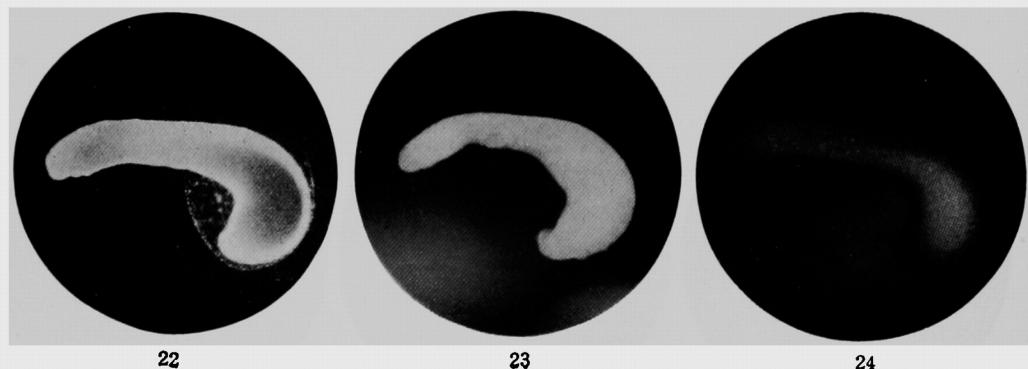
藤本・高岡論文附図



19

20

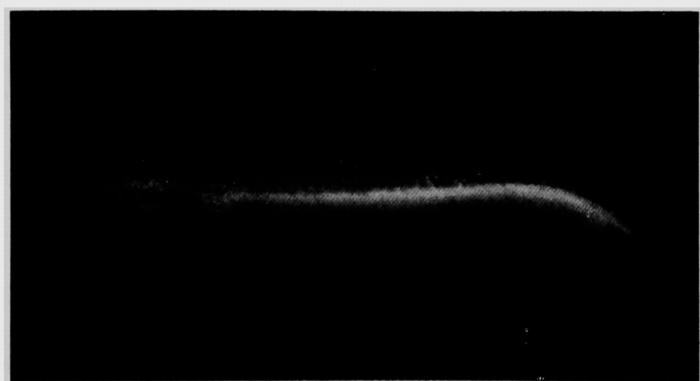
21



22

23

24



25