

## マダイおよびクロダイ仔稚魚の卵黄吸収と消化管での 栄養摂取に関する組織学的研究

宮崎 照雄・藤原 和恵\*

三重大学生物資源学部, \*富士生物科学研究所

## Histological Studies on Yolk Utilization and Digestive Function in Larvae and Juvenile of Red Sea Bream and Black Sea Bream

Teruo MIYAZAKI and Kazue FUJIWARA

Faculty of Bioresources, Mie University

### Summary

Histological and histochemical studies were carried out on the yolk utilization and digestive function of larval and juvenile red sea bream, *Pagrus major*, (from 0 to 40 or 46 days old) and black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, (from 0 to 40 days old) reared with rotifers, *Artemia* nauplii and commercial diets in hatcheries. Yolk-sac larvae of red sea bream and black sea bream absorbed glycogen from the yolk through the vitelline membrane by the age of 3 days and treated the lipoprotein of yolk altered to hyaline droplets and the oil globule through the action of vitelline membranous cells by the age of 7 days.

Postlarval red sea bream started feeding at 5 days old, and fat absorption by epithelia in the mid- and posterior intestinal regions and ingestion of water-soluble materials and albuminous granules by rectal cells were apparent in 6 or 7-day-old individuals. The ingestion of protein by rectal cells became more active with age. Fine albuminous granules were ingested in the apical edges and albuminous droplets were contained, digested within supranuclear vacuoles by 34 or 35 days old. Postlarvae at 28 days showed gastric gland differentiation and 35-day juvenile had formed pyloric ceca. Subsequently supranuclear vacuoles of rectal cells contained fine albuminous particles in individuals from 34 through 46 days old. Fat absorption in mid- and posterior intestinal epithelia lasted until 33 days old. The fat absorption in posterior intestinal epithelium was marked in individuals from 26 to 33 days old that had been fed on *Artemia* nauplii. Rectal cells also carried out fat (lipoprotein) absorption from 11 to 28 days old.

On the other hand, larval black sea bream started feeding at 5 days old and ingested water-soluble materials and protein into rectal cells. Active protein ingestion by rectal cells was observed in the form of fine granules at the apical edges and droplets in the supranuclear vacuoles from 9 to 17 days old. Then, fine granules at the apical edges and colloidal materials in the supranuclear vacuoles appeared from 18 to 33 days old, and fine granules were evident at the apical edges by 37 days old. 29-day juvenile had formed gastric glands and pyloric ceca. Fat absorption was carried out by rectal

cells in individuals from 9 to 17 days old and in the epithelium of the posterior intestinal region in individuals from 24 to 33 days old that had been fed on *Artemia* nauplii.

**Key words:** red sea bream, black sea bream, yolk utilization, fat absorption, protein ingestion

マダイ、クロダイは重要な人工種苗生産対象魚種であり、その種苗生産は多くの県で行なわれている。これらの魚種の仔稚魚の飼育方法はほぼ完成しているようであるが<sup>1-3)</sup>、仔稚魚の減耗は依然として問題となっている。仔稚魚の減耗には栄養摂取状況が関係すると考えられる。仔稚魚の消化系の形態、組織および栄養摂取機能に関してはこれまでに種々の魚種で研究され<sup>4-22,25)</sup>、また総説<sup>23,24)</sup>も発表されている。人工種苗生産では、投与餌料の種類の変化が仔稚魚の消化系における栄養摂取にどのように影響するかは重要な問題である。しかし、人工種苗生産過程における仔稚魚の栄養摂取状況の日変化はまだ充分に明らかになっていない。本研究では人工種苗生産された健康なマダイ (*Pagrus major*) およびクロダイ (*Acanthopagrus schlegelii*) の仔稚魚における卵黄の吸収および消化系での栄養摂取状態の日変化について組織学的に検討した。

## 材料および方法

マダイの仔稚魚は1987年静岡県栽培漁業センターにおいて人工孵化し、飼育されていた魚群から4月下旬～6月中旬(飼育水温:16～23℃)にかけて毎日採取した0日齢から46日齢までの仔稚魚(平均体長:2.8mm～18mm)を用いた。また、1985年三重県水産技術センターにおいて人工孵化し、飼育されていた魚群から4月～6月(飼育水温:15～16℃)にかけて毎日採取した2日齢から40日齢までのマダイ仔稚魚(平均体長:2.2mm～13mm)を参考観察した。クロダイ仔稚魚は1987年香川県水産試験場において人工孵化し、飼育していた第1産卵群から、4月上旬～5月中旬(飼育水温:18～22℃)にかけて採取された0日齢から40日齢までの仔稚魚(平均体長:2.6mm～12mm)を用いた。いずれも10%中性ホルマリン水とブアン液で全身固定した。常法に従って、パラフィン切片を作製し、マイヤー氏ヘマトキシリン・エオジン染色、PAS 反応、アルデヒドフクシン染色、

ワイゲルト氏線維素染色、ズダンⅢ染色、ズダン黒B染色を施して検鏡した。脂蛋白の観察のため蛍光顕微鏡観察を行なった。また、脂肪の検出のため、ホルマリン水固定標本の一部を2%四酸化オスミウム酸の2時間再固定を行ない、パラフィン切片を作製後アゾカーミンG染色を施して観察した。また、クロダイ仔魚の一部からエボン極薄切片を作製し、定法に従って電子顕微鏡観察を行なった。

消化管の分類は田中<sup>23)</sup>に従ったが、腸管での栄養物吸収をより詳細に把握するため、胃の直後の腸管入口部で幽門垂が付く部位を前腸部(anterior intestinal region)、旋回部を中腸部(mid-intestinal region)、旋回が終わり直腸弁までの直線区間を後腸部(posterior intestinal region)、その後肛門までの区間を直腸(rectal intestine)とした。また、腸管での栄養物の吸収状況の観察は摂餌の良い状態の標本で行なった。

## 結 果

### 1. マダイ仔魚の卵黄吸収

0日齢では腸管、心臓、体側筋組織、眼球、脳・脊髄、脊索などの原基が既に形成されていた。その卵黄嚢は大きく、腹部の大半を占め、扁平な卵黄膜で卵黄と油球が分割されていた。1日齢ではさらに腸管内腔の形成、直腸部の屈曲、膀胱の形成、鰓、脾細胞、腎臓尿管の分化が起こっていた。卵黄嚢は縮小して球形化し、卵黄はコロイド状になっていた(Plate I-1)。卵黄はエオジン好染、PAS 反応弱陽性、ズダンⅢおよびズダン黒B染色などの脂肪染色陽性であり、糖原、蛋白および脂肪を含んでいることが確認された。

2日齢では腸管内腔の拡大と旋回、直腸の発達、肝臓肝細胞の形成と糖原貯蔵の他、胆嚢、脾臓脾細胞とランゲルハンス島の形成が起こっていた。卵黄嚢は縮小し、コロイド状の卵黄内には蛋白密度の低い空胞が多数現わ

れていた。卵黄膜は厚くなり、膜細胞中には糖原の沈着が観察され、卵黄膜での糖原吸収が確認された (Plate I-2)。ただし、油球およびその被膜に変化は見られなかった。

3日齢では口が開口し、脾臓脾細胞のチモーゲン顆粒の形成、腎臓糸球体形成、頭腎造血細胞の分化、噴門部の膨大、鰓の形成が起こっていた。4日齢では肛門の開口、腸管上皮の微絨毛の発達、甲状腺の形成が起こっていた。3、4日齢では卵黄嚢は更に縮小し、油球が大半を占めるに至っていた。卵黄は好酸性硝子滴状塊に変化していた。そのなかには卵黄膜細胞が浸潤して卵黄を貪食しており、細胞内にはエオジン好性微小顆粒が観察された (Plate I-3)。油球は卵黄膜に囲まれて残存していた。硝子滴状の卵黄は PAS 反応陰性で、アルデヒドフクシン染色性およびズダン黒 B 染色性が増し、一部自家蛍光を発するなどの染色性から脂蛋白と判断された。4日齢では、肝臓肝細胞の貯蔵糖原が消失していた。卵黄膜細胞の卵黄貪食と肝臓肝細胞での貯蔵糖原の消失はシオミズツボワムシ (以下ワムシ) 摂食を始めた5日齢まで続いた。

6日齢ではワムシ摂食が活発になり、直腸では直腸弁が形成されるとともに上皮細胞で水溶物の吸収や蛋白顆粒の吸収が始まり、肝細胞の糖原貯蔵も顕著になっていた。また、卵黄はほぼ消失し、卵黄膜細胞は小型化した油球のみを被包していた (Plate I-4)。個体によっては卵黄膜細胞は減数し小集塊として肝臓のそばに観察された。7日齢では卵黄膜細胞は崩壊して細胞残渣となり肝細胞の浸潤を受けていた (Plate I-5)。

## 2. マダイ仔魚の栄養摂取

マダイ仔魚は摂餌開始の5日齢後期仔魚までに口と肛門の開口、腸管と直腸の発達、脾臓での脾細胞チモーゲン顆粒とランゲルハンス氏島の形成、肝細胞、腎実質および甲状腺の分化発達など栄養物の摂取、消化、吸収および代謝に関わる組織器官は一通り揃っていた。

6、7日齢ではワムシ摂食が活発になり、腸管がワムシで満たされることもある。食道直後の噴門部は絨毛を形成して膨大し、単層立方上皮で覆われていた。中腸部上皮は微絨毛の発達した円柱細胞からなり、後腸部上皮および直腸上皮は微絨毛の発達した背の低い円柱から立方形の細胞より構成されていた。オスミウム酸処理標本

では、中腸部から後腸部のワムシ体内には脂肪球の存在が確認された。中腸部上皮と後腸部上皮には脂肪の吸収が始まっていた。吸収脂肪は、H-E 染色では細胞内微小空胞として観察されるが、オスミウム酸処理で微小顆粒として観察された (Plate II-1)。また、オスミウム酸処理標本では中腸部の基底膜周囲にも脂肪の存在が確認された。直腸上皮には水溶性低分子物質と一部蛋白顆粒の吸収が起こっていた (Plate II-2)。直腸上皮細胞内の水溶物吸収小胞は空胞あるいはエオジン弱染色性、PAS 反応陰性、オスミウム酸処理および脂肪染色陰性、アルデヒドフクシン染色弱陽性の微粒子を容れており、核の直上に出現していた。それに対して蛋白顆粒は細胞上部の小胞内に存在し、エオジンとアゾカーミン G に好染、アルデヒドフクシン染色とワイゲルト氏線維素染色に陽性、PAS 反応陰性であった。肝細胞の糖原貯蔵は顕著になっていた。腎臓尿管上皮細胞には細胞内に充満するエオジン好染の硝子滴の出現も観察された。

8~10日齢では中腸部上皮に脂肪の吸収とともに微小蛋白顆粒の吸収も起こっていた (Plate II-3)。また、直腸上皮では硝子滴状の粗大蛋白顆粒および微小蛋白顆粒の吸収が活発になり、逆に水溶物吸収空胞は減少していた (Plate II-4)。微小蛋白顆粒は上皮細胞の微絨毛直下に分散する微小胞内に存在していた。粗大蛋白顆粒は硝子滴あるいは微小滴集塊で、細胞の核上部に存在する小胞内に充満していた。粗大蛋白顆粒は顆粒によってはエオジン、アゾカーミン G、アルデヒドフクシンに対する染色性が低下していた。また、肝細胞には糖原に混じってエオジン弱染色性、ワイゲルト氏線維素染色陽性、PAS 反応とアルデヒドフクシン染色陰性の微小顆粒も出現していた。

その後、直腸上皮における水溶物吸収空胞の形成は日齢が増すとともに減数し、16、17日齢の仔魚で観察され難くなった。同じく直腸上皮では粗大蛋白顆粒とともに微小蛋白顆粒の吸収も顕著になり、微小顆粒は微絨毛直下の細胞上部にまた粗大顆粒は細胞の核上部に充満するようになっていた (Plate II-5, 6)。こうした直腸上皮での蛋白吸収は32、33日齢まで観察された。11日齢以降の仔魚では直腸上皮内の蛋白粗大顆粒の一部が脂肪染色に弱陽性およびオスミウム酸処理陽性を示すようになり、直腸上皮が僅かに脂肪も吸収し、脂蛋白として上皮細胞内に存在することがうかがえた (Plate III-1)。直

腸上皮内の脂蛋白は24日齢から始まったアルテミア幼生の摂食によっても特に変化せず28日齢まで観察された。他方、中腸部と後腸部の円柱上皮細胞での脂肪吸収は引き続いており、いずれもオスミウム酸処理で微小顆粒として観察された。26日齢からは後腸部上皮で顕著な脂肪の吸収が観察されるようになった。吸収脂肪はオスミウム酸処理で大型球状を呈していた(Plate III-2, 3)。この後腸部上皮の顕著な脂肪吸収には個体差があった。また、中腸部上皮での微小蛋白顆粒の吸収は24日齢から始まったアルテミア幼生の摂食によっても特に変化せず28日齢まで観察された。この間、24日齢以降26日齢までは、摂食されたアルテミア幼生は一部未消化のまま直腸に達していたが、その後は腸管および直腸で外殻以外消化されていた。肝細胞は増数し、微小顆粒と糖原の貯蔵も顕著であった。また、時々、腎臓尿管上皮細胞にエオジン好染の硝子滴の形成が観察された。

28、29日齢では胃腺細胞が確認された。その胃上皮は単層円柱上皮で粘液形成はなく、腺細胞に酵素原顆粒の形成もなかった。31日齢からアルテミア幼生に加えて、魚粉を主成分とする配合飼料の摂食が始まった。32、33日齢になると胃腺細胞が増加し、胃の摂食食物貯溜能も発達してきていた。その後、35日齢で幽門垂が形成され、37日齢で胃粘膜上皮の形成と胃腺組織の発達が観察された。胃腺細胞が増加する32、33日齢でも直腸上皮での粗大蛋白顆粒および微小蛋白顆粒の吸収が観察された。また、26日齢以降33日齢まで中腸部と後腸部上皮で小球状の脂肪の活発な吸収が観察されたが、脂肪吸収は個体差が顕著であり、その後は顕著な脂肪吸収は観察されなかった。34、35日齢の前期稚魚の直腸上皮ではエオジン弱染性、アルデヒドフクシン陰性、PAS 反応陰性の微粒子で充満した小胞が細胞内の核上部を占めるようになっていた(Plate III-4)。微粒子を容れた小胞は増加し、かわりに粗大蛋白顆粒や微小蛋白顆粒が減少していた。こうした直腸上皮の蛋白質吸収像は、本研究の最大観察日齢である46日齢まで観察された。34日齢から細胞内の微小顆粒を含まず、糖原の貯蔵が顕著な肝細胞が増加していた。ただし、三重県水産技術センターの飼育魚は28日齢からアルテミア幼生と配合飼料を摂食し始めていた。29日齢に胃腺細胞の形成が、35日齢に幽門垂の形成がそれぞれ観察された。中腸部上皮での小球状の脂肪吸収は33日齢以降37日齢まで、また、直腸上皮での粗大

蛋白顆粒や微小蛋白顆粒の吸収は34日齢まで観察された。

### 3. クロダイの卵黄吸収

0日齢の孵化仔魚では腸管、心臓、体側筋組織、眼球、脳・脊髄、脊索および腎臓実質などの原基が既に形成されていた。その卵黄膜で隔壁された油球を含む卵黄嚢は大きく、腹部の大半を占めていた。卵黄はエオジン好染、PAS 反応弱陽性、ズダンⅢおよびズダン黒B染色などの脂肪染色陽性であり、糖原、蛋白および脂肪を含んでいることが確認された。

1日齢では腎臓尿管、肝細胞と脾細胞の原基が分化していた。卵黄嚢は縮小し、卵黄はコロイド状になり、内には蛋白密度の低い空胞が多数現われていた。2日齢では口の開口、腸管内腔の拡大と旋回、直腸の発達、糖原貯蔵を示す肝臓肝細胞、胆嚢、チモーゲン顆粒の形成を示す脾臓脾細胞、ランゲルハンス島、膵、膀胱、腎臓糸球体と造血細胞などの形成がそれぞれ観察された。卵黄嚢はさらに縮小し、卵黄は無構造の滴状塊からなり、そのなかには卵黄膜細胞が浸潤して卵黄を貪食していた。ただし、油球に変化は見られなかった。

3日齢では、食道後端の噴門部の拡張、中腸部上皮細胞の微絨毛の発達、直腸弁の発達、鰾の形成が起こり、卵黄嚢は更に縮小し、油球が大半を占めるに至っていた。卵黄は硝子滴状になり、アルデヒドフクシン染色性とズダン黒B染色性が増し、一部自家蛍光を発するなど、脂蛋白をその成分としていると判断された。そのなかには卵黄膜細胞が浸潤して貪食していた。油球被包部を含め卵黄膜細胞はPAS 弱陽性になっていた。肝臓肝細胞は顕著な糖原貯蔵を示していた(Plate III-5)。4日齢では卵黄と油球の縮小が進み、卵黄は多数の硝子滴からなり、その卵黄膜細胞の浸潤と卵黄貪食が顕著になっていた。肝細胞は貯蔵糖原を消失していた。

5日齢では摂餌が始まり、直腸上皮の水溶物吸収、肛門の開口が起こっていた。卵黄はほぼ吸収され、油球のみが卵黄膜細胞に被包されて残存していた(Plate III-6)。肝細胞の貯蔵糖原は顕著になっていた。6日齢では少量の油球を被包した卵黄膜細胞あるいは卵黄膜細胞の小集塊が残存し、肝細胞に取り囲まれていた。脾臓の形成が始まっていた。7日齢では卵黄膜細胞はほぼ消失していたが、個体によっては6日齢と同様に少量の油球を被包した卵黄膜細胞あるいは卵黄膜細胞の小集塊が残

存していた。また、肝細胞の糖原貯蔵は顕著であるが、細胞内には微小顆粒が出現していた。

#### 4. クロダイの栄養摂取

前述したように、摂餌が始まる5日齢までに、消化系の組織・器官はほぼ形成されていた。

5日齢の後期仔魚がワムシを摂食し始めた頃から、直腸上皮に水溶性低分子物質吸収空胞が現われていた。6、7日齢では、食道直後の噴門部が既に膨大し、直腸上皮には水溶物吸収空胞の他、エオジン・アルデヒドフクシン弱染色性の微粒子あるいはエオジン好染色性の粗大蛋白顆粒や微小蛋白顆粒を容れた吸収胞が現われていた。その直腸上皮の細胞上部にはエオジン好染色性微小蛋白顆粒を容れた微小吸収胞も観察された。その後、9日齢から17日齢にかけて、直腸上皮の細胞上部で微小蛋白顆粒の吸収が顕著になり、その核上部には粗大蛋白顆粒を容れた小胞の形成が顕著になっていた(Plate IV-1)。蛋白顆粒はアルデヒドフクシン染色陽性、ワイゲルト氏線維素染色陽性、PAS 反応陰性であった。これら蛋白物質を容れ吸収空胞のなかには、全体がオスミウム酸処理で陽性になるものもあり(Plate IV-2)、その染色性から蛋白質とともに脂肪が吸収されているか、脂蛋白が吸収されていると判断された。なお、腸管内に摂餌物を含まない個体では直腸上皮の核上部小胞は蛋白顆粒をほとんど含まず、かわりにエオジン弱染色性の微粒子を容れていた。また、中腸部と後腸部の上皮にはオスミウム酸処理で微小な脂肪球の弱い吸収像が観察されたが、脂肪吸収には個体差があった。その中腸部と後腸部の上皮には多数の微小空胞が形成されていたが、そこにオスミウム酸処理で脂肪球を認めることは出来なかった。肝細胞の糖原貯蔵も顕著になり、その細胞内にはエオジン弱染色性微小顆粒が出現していた。

18日齢から直腸上皮は細胞上部でのエオジン好染色性微小蛋白顆粒の吸収を示すが、核上部の小胞の多くはエオジン弱染色性のコロイド様物質を容れるようになっており、エオジン好染色性粗大蛋白顆粒は激減していた(Plate IV-3)。21日齢からワムシに加えてアルテミア幼生と配合飼料が摂食され始めた。22、23日齢以降、腸管および直腸内でアルテミア幼生は外殻を残し消化されていたが、配合飼料の魚筋肉片は一部未消化のまま直腸に達していた。直腸上皮は細胞上部にエオジン好染色性微小蛋白顆粒

の吸収を示すが、核上部のコロイド様物質を容れた小胞は減少していた(Plate IV-4)。その間、24日齢では胃の盲嚢が形成され、後腸部上皮に大型球状の脂肪吸収が観察されるようになった(Plate IV-5)。後腸部上皮の脂肪吸収の顕著な個体では直腸上皮の核直下にも脂肪吸収胞が多数出現していた。29日齢になると噴門部壁に胃腺細胞が確認され、あわせて1~2個の幽門垂も形成されていた。30、31日齢の前期稚魚になると胃の腺細胞は増加するが、その胃上皮は単層円柱上皮で、粘液形成はなかった。中腸部の後半から後腸部にかけて上皮での脂肪吸収が顕著になっていた。33日齢頃から直腸上皮は細胞上部でのエオジン好染色性微小蛋白顆粒の吸収を示すが、核上部のコロイド様物質を容れた小胞は激減し、消失していた。34、35日齢では中腸部の後半から後腸部にかけての上皮での脂肪吸収は観察されなくなった。また、直腸上皮の細胞上部での顕著な微小蛋白顆粒の吸収像も37日齢以降観察されなくなった。37日齢で胃粘膜上皮が形成され、胃がほぼ完成していた。18日齢から38日齢の間、肝細胞は顕著な糖原貯蔵を呈していた。

摂餌の始まった5日齢以降38日齢まで、光学顕微鏡では中腸部上皮の微小蛋白顆粒の吸収像および脂肪吸収空胞は観察困難であった。しかし、27日齢の仔魚の中腸部上皮の電子顕微鏡観察では、微小な脂肪球の微絨毛附着像および細胞間隙への移行像がそれぞれ観察された。

#### 考 察

本研究の材料となったマダイおよびクロダイ仔稚魚はそれぞれ、三重県、静岡県および香川県の水産試験場でほぼ標準的な方法で飼育されたものである。マダイ仔稚魚では三重県と静岡県では飼育水温が異なっていたため魚の成長に差が見られたが、器官分化の日時に大差は見られなかった。本研究のマダイとクロダイの仔稚魚における形態変化は田中<sup>9-13)</sup>、山口<sup>1)</sup>およびHOTOS<sup>25)</sup>の研究と比較して、器官分化の日時に若干の差が認められた。

卵黄成分と卵黄吸収については、サケ・マスで検討されており、卵黄成分は炭水化物、脂質および蛋白質からなるとされている<sup>26)</sup>。組織化学的検討の結果、マダイ、クロダイでも初期の卵黄は糖原、脂質および蛋白質を含むが、その後は脂蛋白が主成分となることが確認された。

孵化直後はまず糖原が卵黄膜から吸収され、その一部は肝細胞に貯蔵され、エネルギーとして利用されるようである。3～5日齢になると卵黄中の糖原や低分子の蛋白質と脂質は消化され、残りの脂蛋白が卵黄膜細胞の貪食により処理される。この間、肝細胞の貯蔵糖原の消失が起こり、エネルギー不足に陥ることが推察された。その後、6、7日齢で卵黄を貪食し、油球を吸収し尽くした卵黄膜細胞は肝細胞の間で崩壊していた。卵黄膜細胞は崩壊し、その細胞残渣は肝臓の血管に吸収され、消失すると考えられた。こうした卵黄吸収に際して、油球はかなり遅くまで、つまり鰾が発達してくる頃まで残存していた。このことは、油球が孵化仔魚の栄養としての利用される他、鰾が発達してくるまでの間浮力をつけるために利用されていると考えられた。

マダイとクロダイとも5、6日齢後期仔魚でワムシを摂食するようになると、まず直腸上皮に吸収空胞が形成され始めた。組織化学的検討の結果、その空胞は低分子水溶物の吸収胞と判断された。この日齢で肝細胞に再度貯蔵糖原が現われることから、直腸上皮の吸収空胞ではブドウ糖も吸収されていると推察された。

まず、消化管での管内消化については、後期仔魚は既に睪細胞にチモーゲン顆粒の形成を示していることから、消化酵素による消化管内消化を行なっていると考えられる。川合によればクロダイ後期仔魚はトリブシン様酵素活性を示し、日齢と共にその活性が上昇すること、およびペプシン様酵素活性は30日齢前後から急上昇することが報告されている<sup>24)</sup>。初期餌料であるワムシでは消化状態を把握することは出来なかったが、アルテミア幼生では体内器官が明瞭であるため消化の状態を検討することが可能であった。その結果、クロダイ仔魚では胃腺形成の約1週間前の22、23日齢でアルテミア幼生を完全に消化管内消化していた。それに対して、マダイ仔魚では胃腺形成の約3日前の26日齢以降アルテミア幼生の完全な消化管内消化が起こっていた。以上のことから、ワムシはそれ以前に完全な消化管内消化を受けていることは確かであろう。また、マダイ、クロダイの後期仔魚はともに胃腺分化以前に、摂餌物の消化管内消化を十分に遂行しており、それはトリブシン様酵素によると判断された。

腸上皮と直腸上皮での消化物吸収と吸収物の細胞内消化は仔稚魚の重要な栄養摂取方法であり<sup>6-8,12,13,15-19,22,23)</sup>、無胃魚では成魚<sup>27,28)</sup>でも行なわれている。マ

ダイ後期仔魚では、蛋白質は微小顆粒、粗大顆粒あるいは微粒子として吸収されており、吸収像は直腸上皮を主体にしていたが、その他、中腸部(腸旋回部)上皮でも軽微ながら観察された。クロダイ後期仔魚では蛋白質吸収は直腸上皮を主体に起こっており、微小顆粒、粗大顆粒あるいはコロイド様物質として吸収されていたが、その粗大蛋白顆粒を容れた小胞の出現期間はやや短めであった。二魚種とも、直腸上皮では細胞上部にエオジンとアルデヒドフクシン好染性の微小顆粒を容れた微小胞が分布し、核上部に粗大蛋白顆粒やコロイド様物質を容れた小胞が分布していた。核上部小胞内の蛋白顆粒はエオジンとアルデヒドフクシン好染性のものから弱染性のものまでであった。後期仔魚では蛋白質は直腸上皮細胞の貪食作用で微絨毛下に摂取され、ライソゾームの作用で細胞内消化されると考えられており<sup>16-18,23)</sup>、その細胞内消化は核上部の小胞内で行なわれるようである<sup>19,20)</sup>。直腸上皮細胞の核上部の小胞内に見られたエオジンとアルデヒドフクシン弱染性の物質やコロイド様物質はその染色性から処理の進んだ蛋白質と考えられた。後期仔魚の肝細胞には蛋白質と考えられる顆粒が出現していたが、これは肝細胞も蛋白質の代謝に関与していることを示唆している。マダイ前期稚魚期の直腸上皮には微小顆粒を容れた小胞が増加し、また、クロダイ前期稚魚期の直腸上皮はその上部で微小顆粒のみを吸収していた。これは胃腺細胞が発達してペプシン様酵素による蛋白質の消化管内消化が進展し<sup>24)</sup>、より低分子の蛋白かアミノ酸が吸収されるようになったことを示唆していると考えられた。

それに対して、脂肪は直腸部と前腸部以外の腸上皮で吸収される傾向がある<sup>4-8,12,17,22,23)</sup>。本研究では、マダイ、クロダイ仔稚魚では脂肪は中腸部や後腸部に比べて直腸の上皮で吸収されていることが観察された。マダイ後期仔魚では中腸部上皮の微小脂肪吸収はほぼ共通して観察されたが、クロダイ後期仔魚では中腸部上皮の脂肪吸収は非常に軽微な傾向にあった。マダイ、クロダイともに直腸直前の後腸部上皮での脂肪球吸収は個体差が顕著であり、アルテミア幼生を摂食後に出現する傾向があった。後腸部上皮での脂肪吸収はアルテミア幼生の摂食と関連すると推察された。このように明確な脂肪吸収は後期仔魚期の間に行なわれており、前期稚魚期には観察が困難になった。これは前期稚魚期になるとリパーゼの活性が高まるためと推察される。しかし、消化酵素の

活性が高いと考えられる若魚や成魚でも、脂肪の含有量の高いイワシ類やイカナゴなどのミンチ肉を摂食している養殖マダイでは後腸部上皮に明瞭な脂肪球の吸収像が観察される(未発表)。脂肪吸収に関しては、飼餌料中の脂肪の寡多によるところが大きいと考えられる。

上述したように、マダイ、クロダイの仔稚魚はともに腸管および直腸のほぼ全体で蛋白質や脂肪などの栄養を吸収していると言えた。

本研究を進めるにあたり、資料採取に多大の御協力を賜った三重県水産技術センター、静岡県水産試験場および香川県水産試験場の研究員各位に篤くお礼を申し述べます。また、電子顕微鏡観察に御助力賜った本学部神原淳博士に篤くお礼を申し述べ。本研究は水産庁の受託研究費により行なった。

#### 文 献

- 1) 山口正男：マダイの養殖，(恒星社厚生閣)，pp. 114 (1971).
- 2) 伏見 徹：餌料，稚魚の摂餌と発育(日本水産学会編，恒星社厚生閣)，pp. 67-83 (1985).
- 3) 藤田矢郎：稚魚の大量飼育，稚魚の摂餌と発育(日本水産学会編，恒星社厚生閣)，pp. 100-113 (1985).
- 4) IWAI, T. The comparative study of the digestive tracts of teleost larvae-I. Fine structure of the gut epithelium in larvae of ayu. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 33 (6): 489-496 (1967).
- 5) IWAI, T. and M. TANAKA. The comparative study of the digestive tracts of teleost larvae-III. Epithelial cells in the posterior gut of halfbeak larvae. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 34 (1): 44-48 (1968).
- 6) IWAI, T. and M. TANAKA. The comparative study of the digestive tracts of teleost larvae-IV. Absorption of fat by the gut of halfbeak larvae. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 34 (10): 871-875 (1968).
- 7) IWAI, T. The comparative study of the digestive tracts of teleost larvae-V. Fat absorptions in the gut epithelium of goldfish larvae. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 34 (11): 973-978 (1968).
- 8) IWAI, T. Fine structure of gut epithelial cells of larval and juvenile carp during absorption of fat and protein. *Arch. Histol. Jap.*, 30 (2): 183-199 (1969).
- 9) 田中 克：仔魚の消化系の構造と機能に関する研究-I，前期仔魚の消化系の発達，魚類学会誌，16 (1): 1-9 (1969).
- 10) 田中 克：仔魚の消化系の構造と機能に関する研究-II，摂餌開始時の仔魚の消化系の特徴，魚類学会誌，16 (2): 41-49 (1969).
- 11) 田中 克：仔魚の消化系の構造と機能に関する研究-III，後期仔魚の消化系の発達，魚類学会誌，18 (4): 164-174 (1971).
- 12) 田中 克：仔魚の消化系の構造と機能に関する研究-IV，摂餌にともなう腸前部および中部上皮層の変化と脂肪の吸収，魚類学会誌，19 (1): 15-25 (1972).
- 13) 田中 克：仔魚の消化系の構造と機能に関する研究-V，後部腸管上皮層の変化と蛋白質の摂取，魚類学会誌，19 (3): 172-180 (1972).
- 14) 田中 克・川合真一郎・山本章造：アユ仔魚の消化系の発達と消化酵素活性について，日本水産学会誌，38 (10): 1143-1152 (1972).
- 15) 椋田 晋・落合 明：仔稚魚におけるブリの消化管の構造と機能の発達について，日本水産学会誌，39 (9): 923-930 (1973).
- 16) STROBAND, H. W. J., H. MEER, and L. P. M. TIMMERMANS. Regional functional differentiation in the gut of the grasscarp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). *Histochem.*, 64: 235-249 (1979).
- 17) STROBAND, H. W. J. and A. G. KROOM. The development of the stomach in *Clarias lazera* and the intestinal absorption of protein macromolecules. *Cell. Tiss. Res.*, 215: 397-415 (1981).
- 18) WATANABE, Y. Ingestion of horseradish peroxidase by the intestinal cells in larvae or juveniles of some teleosts. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 47 (10): 1299-1307 (1981).
- 19) WATANABE, Y. Intracellular digestion of horseradish peroxidase by the intestinal cells of teleost larvae and juveniles. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 48 (1): 27-42 (1982).
- 20) 渡部良朗：硬骨魚類仔稚魚の前中腸および直腸上皮細胞の微細構造，北大水産彙報，33 (4): 217-228 (1982).
- 21) ECKMANN, R. Histopathological alterations in the intestine of whitefish (*Coregonus* sp.) larvae reared on zooplankton from Lake Constance. *Disea. Aqua. Orga.*, 1 (1): 11-17 (1985).
- 22) SEGNER, H., P. BURKHARDT, E. M. AVILA, J. V. JUARIO and V. STORCH. Nutrition-related histopathology of the intestine of milkfish *Chanos chanos*

- fry. *Diseas. Aqua. Orga.*, 2 (2): 99-107 (1987).
- 23) 田中 克: 消化器官, 稚魚の摂餌と発育 (日本水産学会編, 恒星社厚生閣), pp. 7-23 (1985).
- 24) 川合真一郎: 消化酵素, 稚魚の摂餌と発育 (日本水産学会編, 恒星社厚生閣), pp. 30-40 (1985).
- 25) HOROS, J. N. Studies on embryogenesis and morphogenesis of black sea bream, and diseases of sparid fishes in larval production. Master thesis, Mie Univ., Fac. Fish., (1983).
- 26) BLAXTER, J. H. S. Development: eggs and larvae. in *Fish Physiology* (ed. by W. S. HOAR and D. J. RANDALL, Academic Press, New York) pp. 178-241 (1969).
- 27) NOAILLAC-DEPEYRE, J. and N. GAS. Absorption of protein macromolecules by the enterocytes of the carp (*Cyprinus carpio* L.): Ultrastructural and cytochemical study. *Z. Zellforsch.*, 146: 525-541 (1973).
- 28) NOAILLAC-DEPEYRE, J. and N. GAS. Electron microscopic study on gut epithelium of the tench (*Tinca tinca* L.) with respect to its absorptive functions. *Tissue & Cell*, 8 (3): 511-530 (1976).

### Explanation of Plate I

- Fig. 1. Two-day larval red sea bream. This has the colloidal yolk (Y) and a big oil globule (O) which were walled off by thin vitelline membranes, the intestine with lumen (I) and the membranous ventricle (H). PAS, X 80.
- Fig. 2. Vitellicle of two-day larval red sea bream. The yolk (Y) made vacuoles and the vitelline membrane showed deposition of PAS positive granules indicating glycogen absorption. PAS, X 320.
- Fig. 3. Three-day larval red sea bream. The yolk (Y) markedly decreased in the amount, was made up of many hyaline droplets and phagocytosed by cells of the membrane. The oil globule (O) slightly decreased in size. The cardiac region (C) was swollen and lined with cuboidal epithelial cells forming projections. G: gall bladder. L: liver. M: mid-intestinal region lined with columnar cells with microvilli. P: pancreatic cells containing zymogen granules. S: swim-bladder. H-E, X 200.
- Fig. 4. Six-day postlarval red sea bream. The yolk (Y) mostly disappeared, was granulated and treated by membranous cells which walled off a small oil globule (O). G: gall bladder. M: mid-intestinal region containing food items (rotifer). P: pancreas. S: sinus venosus. H-E, X 320.
- Fig. 5. Seven-day postlarval red sea bream. Vitelline membranous cells (V) were granulated and disappeared in the liver (L). G: gall bladder. M: mid-intestinal region containing rotifers. H-E, X 320.

### Explanation of Plate II

- Fig. 1. Mid-intestinal region of 7-day postlarval red sea bream. Columnar epithelial cells ingested small fat droplets at the apical edges. Arrows pointed representative fat droplets (osmio-philic). Inside rotifers (R) contained many osmiophilic fat globules in the body. Post-treatment with osmium tetroxide and azocarmine G. X320.
- Fig. 2. Rectal intestine of 7-day postlarval red sea bream. Cuboidal epithelial cells mostly showed large supranuclear vacuoles which would ingest low molecular substances and a small number of cells ingested albuminous granules (arrows) in the apical edges. H-E, X320.
- Fig. 3. Mid-intestinal region (M) of 10-day postlarval red sea bream. Epithelial cells ingested fine albuminous granules which were positive with the aldehyde fuchsin stain, in the apical edges. Hepatic cells of liver (L) contained fine granules. Aldehyde fuchsin, X320.
- Fig. 4. Rectal intestine of 10-day postlarval red sea bream. Rectal cells mostly ingested fine albuminous granules in the apical edges and albuminous droplets within the supranuclear vacuoles. A small number of rectal cells still showed supranuclear vacuoles that would contain low molecular substances. Aldehyde fuchsin, X320.
- Fig. 5. Rectal intestine of 24-day postlarval red sea bream. Epithelial cells mostly ingested fine albuminous granules in the apical edges and albuminous droplets in the supranuclear vacuoles. Weigert's fibrin stain, X300.
- Fig. 6. Rectal intestine of 28-day postlarval red sea bream. All epithelial cells ingested fine albuminous granules in the apical edges and albuminous droplets in the supranuclear vacuoles. Weigert's fibrin stain, X320.



### Explanation of Plate III

- Fig. 1.** Rectal intestine of 17-day postlarval red sea bream. Columnar epithelial cells ingested small osmio-philic droplets which were represented by arrow points and suggested lipoprotein, as well as fine albuminous granules in the apical edges and albuminous droplets in the supranuclear regions. Post-treatment with osmium tetroxide and azocarmine G. X200.
- Fig. 2.** Posterior intestinal region of 27-day postlarval red sea bream. Columnar epithelial cells showed vacuoles in various locations of the cytoplasm. The lumen contained well digested food items. H-E, X200.
- Fig. 3.** Posterior intestinal region of 26-day postlarval red sea bream. Post-treatment with osmium tetroxide revealed fat droplets within epithelial cells, which were observed as vacuoles in Fig.2. Post-treatment with osmium tetroxide and azocarmine G. X200.
- Fig. 4.** Rectal intestine of 35-day juvenile of red sea bream. All epithelial cells included particles within their supranuclear vacuoles. This indicated more advanced intracytoplasmic digestion of ingested protein. H-E, X160.
- Fig. 5.** Three-day larval black sea bream. The yolk (Y) was hyaline droplets and phagocytosed by cells of the vitelline membrane which also walled off oil globule (O). Hepatic cells of the liver (L) contained much glycogen stained PAS reaction. H: ventricle of heart. PAS, X320.
- Fig. 6.** Five-day larval black sea bream. The yolk disappeared and the vitelline membrane walled off the oil globule (O). Hepatic cells of the liver (L) included amount of glycogen. G: gall bladder. P: pancreatic cells including zymogen granules. PAS, X320.

### Explanation of Plate IV

- Fig. 1.** Rectal intestine of 9-day postlarval black sea bream. Rectal cells mostly showed ingestion of fine albuminous granules in the apical edges, and albuminous granules and droplets within their supranuclear vacuoles, which were stained with aldehyde fuchsin. Some rectal cells also showed supranuclear vacuoles that would contain low molecular substances. M: mid-intestinal region. Aldehyde fuchsin, X320.
- Fig. 2.** Rectal intestine of 17-day postlarval black sea bream. Columnar rectal cells included osmiophilic droplets (arrows) suggesting lipoprotein as well as fine albuminous granules in the apical edges and albuminous droplets in the supranuclear regions. Post-treatment with osmium tetroxide and azocarmine G. X320.
- Fig. 3.** Rectal intestine of 19-day postlarval black sea bream. Rectal cells included fine albuminous granules in the apical edges and mostly included colloidal substances within the supranuclear vacuoles. H-E, X320.
- Fig. 4.** Rectal intestine of 26-day postlarval black sea bream. Rectal cells extensively ingested fine albuminous granules in the apical edges and their supranuclear vacuoles disappeared. Aldehyde fuchsin, X320.
- Fig. 5.** Posterior intestinal region of 24-day black sea bream. Epithelial cells extensively showed fat absorption. Inside food items (*Artemia* nauplii) were well digested. H-E, X160.









