

マダイ仔稚魚の組織・器官の発達に 関する組織学的研究

宮崎 照雄・藤原 和恵・岡 英夫*・吉川 昌之*
三重大学生物資源学部, *静岡県栽培漁業センター

Histological Studies on Development of Tissues and Organs of Larval and Juvenile Red Sea Bream

Teruo MIYAZAKI, Kazue FUJIWARA, Hideo P. OKA*
and Masayuki YOSHIKAWA*

Faculty of Bioresources, Mie University
*Shizuoka Prefectural Fish Farming Center

Abstract

This paper describes the differentiation and development of systemic organs and tissues of larval and juvenile red sea bream, *Pagrus major*. They were from 0 to 50 days old and reared in Shizuoka Prefectural Fish Farming Center from 1987 to 1988. The larvae that hatched individually formed an esophageal cavity, rudimentary visceral organs, an intestine, an rudimentary heart, eyes with the lens and germinal retina, nasal neuromasts, telencephalon and optic lobes of the brain, spinal cord, cavities of the inner ears, notochord of the mesh work, lateral musculature consisting of myomeres, the epidermis containing alarm substance cells and membranous fins. The rectum, head kidney with nephron and hematopoietic cells, free neuromasts of the skin, and rudimentary gill arches developed on day 1. Pancreatic cells, hepatic cells, a rudimentary swim-bladder and sensory papillae of inner ears were seen, and the retina of eyes showed differentiation on day 2. Granular and molecular layers in the brain such as telencephalon, optic lobes and medulla oblongata began to develop on day 3. In these fish, gill filaments, a swim-bladder with a pneumatic duct, bulbus arteriosus, ventricle, auricle and sinus venosus, pectoral fins also shaped up. The retina of eyes differentiated well on day 4. Erythrocyte production occurred in the head kidney and on the endothelia of heart and sinus venosus when hypothalamic saccus rudiment shaped up on day 5. Thyroid follicles and a splenic rudiment shaped up on day 6. Primitive gas secreting cells differentiated and rate mirabile formed in the swim-bladder, and blood circulation began to obvious on day 7. Pharyngeal teeth and a hypophyseal rudiment developed on day 11. Gill lamellae differentiated on day 12. Vertebral ganglions and pseudobranch formed, and a pneumatic duct closed on day 14. The thymus containing large mononuclear cells and cartilaginous hypurals formed, when the lateral musculature, heart and head kidney developed on day 17. Cartilaginous hemal and neural spines began to grow as well as primitive lepidotrichiae growing in pectoral and caudal fins on day 18. In 21-day-old larvae, their hypophysis differentiated into adeno- and neuro-parts. Pterygiophore and muscle for the dorsal and anal fins, and renal tubules of the anterior kidney developed. The cerebellum mostly composed of a granular layer. Also, splenic arteries, Stannius corpuscles in the posterior kidney and rudimentary gill-raker shaped up around day 23 to 24. Their brain, inner ears, noses, and gills began to develop. Gastric gland cells and oval gland cells of the

swim-bladder formed on day 26. Pyloric caeca and interrenal cells on a renal vein formed in 29-day-old juveniles. When thymus produced small lymphocytes and a thickened chorda sheath began to make articulation, the spines and lepidotrichiae grew long in the dorsal and anal fins on day 30. Scale sacs containing a thin scale appeared in the dermis, and splenic sheathed arteries and pulps differentiated well on day 31. Stomach exhibited gastric gland cells producing zymogen granules and nephron differentiated in the posterior kidney on day 33. Taste buds increased in number in the mouth and vertebrae accompanying the periosteum in the articular region shaped up on day 36. Stomach was lined by mucosa and the liver developed into hepatopancreas on day 37. Then, systemic organs and tissues became to develop well, exhibiting an increase in hematopoietic cells in the anterior kidney on day 47 and in the posterior kidney on day 50.

Key words: Red sea bream, Larva, Juvenile, Differentiation, Development

マダイ (*Pagrus major*) 仔稚魚の人工種苗生産は、公的機関および民間の種苗生産場にて活発に行われている。種苗生産過程で起こる減耗は種苗生産の大きな障害となっている。その減耗の原因究明には病原微生物学からのアプローチのほか、病理組織学的研究も必要である。特に、病理組織学的研究を遂行するためには、健全な仔稚魚の組織・器官の発達状態を明確にしておく必要がある。そのうち仔稚魚の栄養摂取に関する卵黄の吸収および消化系での栄養摂取状態については、筆者らにより既に明らかにされた¹⁾。しかしながら、仔稚魚の運動系、神経系、呼吸系、造血系、排泄系および内分泌系などの組織・器官の経時的な分化・発達を組織学的に検討した例はまだない。本研究では、1987年、1988年の2年間にわたり静岡県栽培漁業センターにおいて4月下旬に人工孵化し、飼育されていた魚群から6月にかけて採取された0日齢から50日齢の仔稚魚の運動系、神経系、呼吸系、造血系、排泄系および内分泌系などの組織・器官の分化・発達について、経時的および総合的に組織学的検討を加えた。

材料および方法

供試したマダイは1987年および1988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より4月下旬から6月にかけて採取された0日齢から50日齢の仔稚魚である。その飼育水温は1987年では0日齢から20日齢では約16~20°C、21日齢から30日齢では約18~22°C、31日齢から50日齢では約21~24°Cであった。1988年では0日齢から20日齢では約16~20°C、21日齢

から40日齢では約18~20°C、41日齢から50日齢では約21~22°Cであった。供試仔稚魚は、静岡県栽培漁業センターにおいて10%中性ホルマリン水とブアン液で全身固定された。常法に従って、各日齢3~15尾のバラフィン切片を作成し、マイヤー氏ヘマトキシリン・エオジン(H-E)染色、PAS反応、アザン染色、トルイジンブルー染色などを施して組織学的および組織化学的に検索した。また、造血系組織の検索のため、マダイ成魚から赤血球を採取してヘモグロビンを分離し、そのヘモグロビンを家兎に注射して家兎ヘモグロビン抗血清(1:25)を得、赤血球および赤血球形成細胞を間接蛍光抗体法(ニコン蛍光顕微鏡, B 励起)で検討した。

結 果

0日齢(全長2.8mm:1987年,以下同)では咽頭腔、腸管、心臓、膀胱、体側筋組織、眼球、脳・脊髄、脊索などが既に形成されていた(Plate I-1, 2)。咽頭腔から腸管までの間には好塩基性細胞が集簇しており、咽頭腔は単層立方上皮で覆われていた。心臓は筒型で、単層の立方細胞と内腔に散在するアミバー形細胞で形成され、咽頭腔の前面の口腔形成細胞層の下に接して出現していた。眼球ではレンズおよび網膜が形成されていた。その網膜では明瞭な区分はないものの脳層および神経層が分化していたが、色素上皮層はまだ形成されていなかった。眼球のレンズは渦状の好酸性水晶体線維塊とそれを被包する単層立方上皮から構成されていた。鼻部では鼻孔は未発達であるが、感覚毛を持つ嗅細胞と支持細胞が分化して嗅上皮を形成していた。脳では嗅上皮の直

後に端脳、視蓋と脳室を形成した視葉が分化しており、神経細胞の有糸分裂像が顕著であった。延髄部の腹側に内耳腔が形成され、扁平から立方形の細胞からなる単層上皮が内張りしていた。体側筋組織は明瞭な筋原線維を含む多核筋線維から構成され、筋隔膜で筋節を形成していた。脊索は網目状で、脊髄の前端の下から尾部まで達していた。皮膚の表皮は単層上皮細胞とその間に分布する多数の警告物質細胞と思われる好酸性物質を含む細胞から構成されていた。膜鱗に鱗条はなく、アザン染色で青染する微細顆粒状物で満たされていた。

1日齢(全長2.9mm)(Plate I-3)では上下口吻部の分化、口腔と咽頭腔の拡大、腸管内腔の拡張、直腸の形成が起こっていた。口腔下部には鰓原基である細胞集塊が4個形成されていた。眼球ではレンズの好酸性水晶体核の増大、網膜の色素上皮層の分化・発達と細胞内での色素形成、視細胞の発達および内網状層の分化がそれぞれ起こっていた。内耳腔はさらに拡大して感覚細胞の分化が起こっており、腔内には嫌色素性の微粒子が出現していた。腎臓では輸尿管が分化し、頭腎部から直腸後部に形成された膀胱まで1本の管を形成していた。また、頭腎部では輸尿管に沿って尿管の原基と大型単核細胞が出現していた。心臓では嚢胞状の心室が分化し、好酸性細胞質を持つ単層扁平細胞からなる内外2層の細胞層で構成されていたが、その中に血液細胞は見られなかった。心室の先端は鰓原基細胞集塊に接続しており、単層扁平細胞の隔壁で腹腔から分画されていた。体側筋組織は発達し始めていた。膜鱗および体表の皮膚の表皮内には感覚細胞の小塊が出現して、クブラを備えた遊離感覚丘を形成していた(Plate I-4)。

2日齢(全長3.0mm)では口腔上下に長円形の核と好塩基性細胞質を持つ顎軟骨芽細胞列が出現していた。咽頭腔下部に4個の鰓弓原基が分化し、長円形の核と好塩基性細胞質を持つ支持軟骨芽細胞とそれを囲む重層扁平細胞で構成されていた。多くの魚で、咽頭腔の後方に噴門部が開口し、好酸性の細胞質を持つ立方上皮で覆われていた。腸管は内腔の拡大、旋回を示し、その背後には鰓原基細胞が出現していた。直腸も発達してきていた。卵黄膜では糖原吸収が確認された。その卵黄膜の背後に肝細胞が形成され、糖原貯蔵を示していた。その肝臓に接して胆嚢が分化し、腸管に接して膵臓の膵細胞とランゲルハンス氏島が分化してきていた。眼球ではレンズの

水晶体核の増大、網膜の色素上皮層の発達と細胞内での色素形成が顕著になり、視細胞の増加、脳層の外網状層と水平細胞の分化、内顆粒層と神経細胞層の発達がそれぞれ起こっていた。内耳を内張りする上皮の2~3箇所感覚細胞の集塊が形成されていた(Plate I-5)。脳では嗅球と嗅葉が増大し、間脳上部には好酸性細胞の塊からなる松果腺の原基が形成されていた。心臓では、心室の外層部細胞の細胞質内に筋原線維が形成され、内層の細胞も増加していた(Plate II-1)。脊索下には背大静脈と思われる血管がスリット状に形成され、薄い単層扁平上皮で覆われていた。その内皮表面には大型単核細胞が散在していたが、赤血球はまだみられなかった(Plate II-2)。皮膚では明瞭な基底膜上に表皮が2層化していたが、その下に真皮の形成はまだなかった。

3日齢(全長3.1mm)(Plate II-3)では口と鰓腔が開口し、食道、噴門部、腸まで開通し、噴門部は膨大して単層立方上皮で覆われていた。噴門部の背後には円形の鰓が形成されていた。その鰓は単層立方上皮とそれを囲む線維細胞様細胞層から成り、鰓底には円柱上皮で内張りされた気道が突起状に付いていた。肝細胞が数を増し、膵細胞では酵素原顆粒の形成が起こっていた。脳では嗅球、嗅葉、視葉および延髄において、多数の有糸分裂像を呈する小円形核細胞からなる顆粒層と分子層が区分されていた。視葉は頂部に顆粒層を持ち、後部で単層立方細胞からなる視蓋がスリット状の脳室で分離していた。延髄では背側に顆粒層、腹側に分子層が分布していた。脊髄は中心管を持ち、ほぼ顆粒層からなり、線維層の分化は軽微であった。眼球ではレンズ水晶体核が結晶化して難染性になり、レンズを支える毛様体や角膜も分化し、動眼筋が眼球背後に形成されていた。内耳は1室であるが、その内腔に単層立方上皮で覆われた突起が1~3個伸長していた。鰓では鰓弓の発達、鰓弓支持軟骨の形成、鰓弁原基の分化が起こっていた。心臓では心室が発達し、その後方に嚢状の心房と静脈洞が、また前方に動脈球と入鰓動脈が分化していた。心房から静脈洞にかけて、その内腔に大型単核細胞が現われていた。また、頭部、背部、腹部の表皮内に遊離感覚丘が出現していた。胸鱗には肩帯軟骨芽細胞および鰭動筋線維芽細胞の分化が起こっていた。脊索では薄い脊索鞘の内側に脊索周辺細胞が形成されていた。

4日齢(全長3.1mm)(Plate II-4)では口が発達し、

食道と噴門部の上皮下には筋層が形成され、噴門部での絨毛突起の形成、腸管上皮の微絨毛の発達、肛門の開口が起こっていた。また、卵黄の吸収・縮小が進み、肝細胞の貯蔵糖原が消失していた。胆嚢およびその周囲の肝細胞の固定状況から、胆嚢内には胆汁がすでに分泌されていると判断された。脾細胞では酵素原顆粒の形成が顕著となり、ランゲルハンス氏島が形成されていた。頭腎では尿管および大型単核細胞の形成が進んでいた。心臓心房が発達し、静脈洞、頸静脈、背大静脈の内皮上で、大型単核細胞の数が増加していた。眼球では、レンズ水晶体核の結晶化が進み、網膜はほぼ完成した構造を呈し、鞏膜の硝子軟骨の分化も起こっていた。内耳では上皮周囲に硝子軟骨が増生して耳殻の形成が始まり、内腔に軟骨性突起が伸長し、耳殻の傍に神経節が分化していた。鰓では中空の血管を持つ鰓弁の分化が起こっていた。鰓腔の後面上皮内には好酸性の細胞質を持つ大型細胞が出現していた。鰓蓋の鰓蓋軟骨が分化し、鰓蓋基部には筋線維が形成されていた。胸鰭では肩帯軟骨および鱗動筋が発達してきていた。

5日齢（全長 3.1 mm）（Plate III-1）では極少量の卵黄が卵黄膜細胞塊とともに肝臓に接して残存するだけとなり、肝細胞は貯蔵糖原を消失して萎縮的になっていた。下顎には舌軟骨が増生して舌が形成されていた。噴門部の膨大が顕著になり、食道から噴門部の筋層が発達してきていた。腸管には絨毛が伸長するとともに内腔には摂食されたワムシが消化状態で存在していた。直腸はよく発達し、直腸弁も伸展していた。脳では間脳上部の松果器の下に上囊体の円柱上皮が嗅葉後端から視葉先端にかけて伸展していた。視床には顆粒層が現われ、視床下部に血囊体が形成されていた。脊髄では中心管を囲む顆粒層の周囲に分子層が発達してきていた。また、延髄部の内耳は拡大し、耳殻が伸展するとともに、内耳内突起の軟骨細胞も増生して分室が進んでいた。鰓の鰓弓には筋線維が形成されていた。頭腎では腎小体の糸球体とボウマン氏嚢の分化が起こり、腎小体と尿管の周囲には造血細胞と判断される大型単核細胞が数を増していた。心房、静脈洞および大静脈内でも造血細胞と判断される大型単核細胞が数を増しており、それらに接して弱好塩基性細胞質を持つ小型紡錘形の赤血球が形成されていた（Plate III-2）。これら造血組織の造血細胞、大静脈、静脈洞および心房の大型単核細胞と赤血球はともにヘモグ

ロビン抗血清・間接蛍光抗体法で細胞質が強い蛍光を発し、ヘモグロビンを持つことが証明された。胸鰭では肩帯の硝子軟骨と鱗動筋線維が発達していた。

6日齢（全長 3.2 mm）（Plate III-3）では摂食が進み、腸管には摂食物が多く詰まり、直腸では直腸弁が発達するとともに上皮細胞で水溶物の吸収が始まっていた。また、肝細胞の糖原貯蔵も顕著になっていた。下顎では甲状腺原基の形成が始まっていた。心室の内膜表面にも大型造血細胞が少数出現していた。心臓および静脈系には長円形の成熟赤血球が多数現われ、造血が顕著となっていた。腸管の旋回部（中腸部）とその傍の脾臓との間に脾臓の原基が出現していた。脾臓原基は円形で、中に好塩基性細胞質を持つ細胞が数個詰まっていた。鰓はやや拡張し、その前半部はガス分泌細胞の未熟形である立方および円柱上皮で内張りされ、その後半部は単層扁平上皮となり、周囲は線維細胞で囲まれていた。鰓腔上部の鰓弓基部には好塩基性大型細胞の集塊が形成されていた。

7日齢（全長 3.3 mm）では直腸上皮で水溶物に加え蛋白顆粒の吸収が始まっていた。頭腎では造血細胞が増数していた。脾臓の好塩基性細胞質を持つ細胞の間には少数の赤血球の移行が見られるようになっていた。心臓の心房と心室は嚢胞状であるが、心筋が発達してきていた。鰓弁動脈には赤血球の流入が始まっていた。鰓は拡大し、前半部上皮に大型卵円形で好酸性の細胞質を持つガス分泌細胞が分化し、その他の部位は扁平上皮で内張りされていた。鰓下側には奇網の毛細血管束が形成されていたが、赤血球の流入はまだなかった。

8日齢（全長 3.5 mm）では鰓の鰓弓の付け根の動鰓筋が発達し、鰓弁の形成も進んでいた。眼球では、硝子軟骨の増生による鞏膜の伸展が進み、その内側に単層の毛細血管より成る脈絡膜が形成されていた。脾臓には赤血球が溜るようになっていた。鰓の奇網の毛細血管束に赤血球の流入が起こっていた。腹腔内の結合織には線維芽細胞や大単核細胞が多数出現しており、腸管と脾臓の間には線維細胞からなる間膜も現われていた。

9, 10日齢（全長 3.5~3.7 mm）では鰓弁が発達してその血管には赤血球が流入するとともに、鰓弓に動鰓筋が増生していた。また、鰓弓や鰓弁の上皮内には塩類分泌細胞が多数出現していた。塩類分泌細胞は好酸性の細胞質を持つ大型細胞で、鰓腔の上皮内に出現していた好酸性大型細胞と酷似していた。食道および噴門部はよ

く発達してきており、上皮下には膠原線維性組織も出現していた。その噴門部背後の鰓では前半部内層のガス分泌細胞が腫大・増生していた。鰓の後端部には単層立方上皮と線維細胞層からなる気道が内腔を拡張し、食道後端の噴門部背面に連結し (Plate III-4)、その内腔は食道の筋層から上皮に達する裂腔へとつながっていた。心臓の心室には筋層が網目状に発達してきており、その内皮上には造血細胞と幼弱な紡錘形赤血球の形成が観察された。

11日齢 (全長 3.8 mm) では咽喉部に1~2個の象牙質を持つ咽頭歯芽が形成されていた。噴門部では筋層に筋原細胞の増生が進んでいた。頭腎の造血細胞の間で幼弱赤血球の形成が明瞭になっていた (Plate III-5)。頭腎の多くの尿管上皮には硝子滴変性が起こっていた。脳では、視葉後部から中心に向かって脳室が広がり、脳室に沿って顆粒層に富む視蓋と視床との分離が進んでいた。視床下部には多数の有糸分裂像を示す顆粒層が発達していた。視葉の後ろには小脳の突出が始まっていた。視床下部の下には脳下垂体の細胞塊と血嚢体が形成されていた。

12, 13日齢 (全長 3.9~4.2 mm) では腸管および直腸に膠原線維を含む粘膜下織が明瞭になっていた。大静脈、静脈洞、心房および心室の内皮表面での造血細胞は数を増し、赤血球形成も顕著であった (Plate IV-1)。肝臓では貯蔵糖原をもつ肝細胞が減少し、細胞内に微小な硝子滴が出現した硝子滴変性様細胞が増加していた。鰓弁には壁柱細胞を備えた鰓薄板の分化が起こっていた。また、鰓腔前部に偽鰓腺が出現し、その上皮は好酸性細胞質を持つ大型細胞からなっていた (Plate IV-2)。

14日齢 (全長 4.2~4.3 mm) の眼球では、鞏膜と脈絡膜はさらに発達していた。内耳では、硝子軟骨の増生が進みほぼ3室に分室され、感覚細胞も発達して円柱状になり、小囊の感覚細胞上には弱好塩基性の小さな耳石が認められるようになった。内耳傍の各神経節も大きく発達し、内耳前部の神経節からは鰓蓋に向かって、また内耳後部の神経節からは鰓に向かって神経線維が伸長していた。脊髄の腹側には大型神経細胞からなる神経節が筋節に対応して分化していた。多くの魚の鰓では、気道と食道との連結が不明瞭になっていた。胸鰭では、肩帯硝子軟骨の形成が進み、鰭動筋線維も発達してきていた。

15日齢 (全長 4.6 mm) では咽喉部から食道の上皮に

は粘液細胞が多数出現していた。鰓弁と鰓薄板の伸展、偽鰓腺の発達、好酸性コロイド物質を含む甲状腺濾胞の増加が観察された。鰓は卵円形に拡張しており、前半部のガス分泌細胞は卵円形になり内面に伸展していた。脳では、視床下部の顆粒層にスリット状の第3脳室が形成されていた。小脳の顆粒層は多数の有糸分裂像を呈していた。延髄ではほぼ中心位に中心管がスリット状に形成されていた。

16, 17日齢 (全長 4.6~4.9 mm) では噴門部の膨大が顕著になり、円柱上皮で覆われるとともに、筋層もよく発達してきており、胃形成の準備が始まっていた (Plate IV-3)。心室では心筋線維が網目構造を形成して発達してきており、動脈球では膠原線維の形成が進んでいた。心房および心室の内皮上には赤血球形成がまだ顕著に観察された。頭腎では造血細胞の増数が顕著になっていた。鰓腔上部には核仁の明瞭な大単核細胞の集塊からなる胸腺が明瞭になっていた (Plate IV-4)。背側膜鰭には線維芽細胞を含む結合織が増殖していた。しかし、頭部や体側部では表皮は基底膜を介して直接体側筋組織に接着しており、真皮の形成はまだ見られなかった。また、体側筋組織ではその周縁部において好塩基性細胞質を持つ筋芽細胞の増殖が顕著であり、体側筋周縁部で筋線維の形成が行われていると判断された。腹鰭では担鰭軟骨の形成と膜状の鰭形成が明瞭になっていた。尾部では下尾軸骨の軟骨芽細胞と鰭条原基が分化していた。

18, 19日齢 (全長 5.1~5.3 mm) では肝臓の類洞に線維網工が発達してきていた。脾臓では、赤血球の貯蔵能が高まって多くの赤血球を容れ、また細網系細胞が増数していたが、莖動脈や大型リンパ球の形成はまだ見られなかった。鰓では完全に閉塞した気道が鰓後部に残り、その内層は好塩基性細胞質をもつ立方上皮からなっていた。また、奇網毛細血管も発達して鰓先端から気道まで達していた。脳では内耳前方の小脳が増大して突出するようになり、その背後基部にも顆粒層からなる小突起が形成されていた。延髄では腹側の分子層にかなりの数の神経細胞が出現していた。また、視床下部の脳下垂体は神経葉と細胞葉を分化していた (Plate IV-5)。内耳の小囊、通囊およびラゲナは硝子軟骨で囲まれ、管も発達していた。脊索の周囲に軟骨細胞の増生が始まり、腹部から尾部の脊索に沿って筋隔膜内に伸長するように硝子軟骨が増生し、血管棘と神経棘の形成が始まっていた

(Plate V-1)。また、脊髄に沿って神経節の発達が進んでいた。胸鰭では鰭条原基の細胞列が形成されていた。尾部では軟骨芽細胞と硝子軟骨細胞の増生により下尾軸骨の形成が明瞭になっていた。その先の尾鰭には鰭条の星型細胞列の分化が進んでいた。

20, 21日齢 (全長 5.6~5.7 mm) では、鰓腔上部皮下の胸腺で好塩基性大型細胞の増生が進んでいた。鼻部では嗅上皮の背後に硝子軟骨性鼻殻が伸展して鼻孔を形成していた。腎臓では後腎部にも尿細管の形成が起こっていた。脳では嗅葉、間脳、視蓋、視床下部、延髄で顆粒層が有糸分裂像を呈して発達していた。小脳も顆粒細胞の増生が進んで増大し、中心部に髄質が形成されているが分子層と顆粒層の区分はまだなかった。視葉と小脳の間には血管が発達し、血流が起こっていた。同様の血管形成は視床部にも散見された。また、延髄では背側顆粒層と中心管周囲の顆粒層との間に分子層が分化していた。その背側顆粒層はおそらく顔面葉と迷走葉の核になるものと思われる (Plate V-2)。脊索では脊索周辺細胞が腫大し、脊索周囲には硝子軟骨の増殖による血管棘と神経棘の伸長が顕著になっていた。神経節の細胞数は増していた。体側筋は軀幹部で横 V 字型の筋節を形成するようになっていた。頭部表皮は 5~6 層に発達し、基底細胞の分化も明瞭になっていたが、体側部の表皮は 3~4 層の線維状の扁平上皮とその間に分布する警告物質細胞から構成されていた。背鰭および臀鰭の基部には軟骨芽細胞の増生が起こって担鰭骨の形成が始まり、その間に鰭動筋芽細胞の分化が起こっていた。尾部では下尾軸骨の硝子軟骨細胞の増生が進んでいた。

22, 23日齢 (全長 6.0~6.4 mm) では第 2, 3 鰓葉の鰓弓に軟骨とそれを囲む芽細胞からなる鰓耙の原基が分化してきていた。食道と腸の間の噴門部の膨大が顕著になって摂食されたワムシが詰まり、摂食物の貯溜の働きが明瞭になってきており、胃形成の準備が進んでいた (Plate V-3)。脾臓では脾動脈の分枝が起こり、脾髄では細網系細胞と大単核細胞の増数が進み、大単核細胞による赤血球貪食も見られた。莢組織の分化はまだなかった (Plate V-4)。鰓の中程に達した奇網毛細血管に沿って神経節の形成が始まっていた。膀胱の前の輸尿管の傍で尾静脈に接してスタニウス小体が分化していた。スタニウス小体は扁平細胞で囲まれた好塩基性細胞の小房を呈していた。脳の各部で顆粒層と分子層がともに増大し、

視床部と延髄の分子層には豊富な細胞質を持つ錐体細胞および紡錘細胞などが数を増していた。視葉の脳室が拡大し、その中に漿液由来と考えられるコロイド物質がたまり、小脳の下部先端の顆粒層が小脳弁として脳室内に突出し始めていた。視床下部の脳下垂体と血囊体腺房も発達・増大していた。鼻部では嗅上皮が軟骨性鼻殻で囲まれた鼻孔内に陥入するようになり、その背後では嗅葉が嗅球と接着し、よく発達していた。内耳では感覚細胞の増生・発達が顕著になり、感覚細胞直上に好塩基性の耳石が乗っていた。頭蓋骨のうち嗅葉前部、視床下部、内耳周囲および延髄周囲に散在する硝子軟骨板を繋ぐようにして骨膜が増殖してきていた。尾部では硝子軟骨細胞の増生による下尾軸骨の伸長が進み、それに続く尾鰭では中心に毛細管を持つ星型細胞列よりなる軟条の形成が進んでいた (Plate V-5)。体側部の表皮には基底細胞の分化も明瞭になり、その上に 3~4 層の線維状の扁平上皮が分布していた。顎では歯芽の形成が進んでいた。

24日齢 (全長 6.5 mm) では、頭腎の腎小体、尿細管および造血組織がよく発達してきていた。鰓では中層の線維性結合組織の増殖が進んでいた。鰓では鰓弁と鰓薄板が発達し、鰓弓の内側に鰓耙の伸長が始まっていた。軀幹部から尾部前半にかけて体側筋は横 V 字型の筋節を形成するようになっていた。背鰭と臀鰭の基部には硝子軟骨性担鰭骨が伸張し、その間に鰭動筋線維の形成が始まっていた。尾鰭では軟骨細胞からなる上尾軸骨の形成が明瞭になっていた。

25, 26日齢 (全長 6.7~7.0 mm) では、第 1, 2, 3 鰓弓に軟骨と芽細胞からなる鰓耙が伸長し、その反対側には味蕾が分化していた。胃の噴門部壁に胃腺細胞の分化が始まっていた。この胃の上皮は単層円柱上皮で粘液形成はなく、また、腺細胞に酵素原顆粒の形成もなかった (Plate VI-1)。鰓後端部背側内層には小型の好酸性細胞質をもつ卵状体細胞が出現していた (Plate VI-1)。輸尿管の傍ではスタニウス小体の小房が分葉していた (Plate VI-2)。頭蓋骨の硝子軟骨板を繋ぐようにして増殖した骨膜には軟骨膜の肥厚が顕著になっていた。背鰭と臀鰭の基部には硝子軟骨性担鰭骨とその間の鰭動筋線維が伸張していた。

27, 28日齢 (全長 8.2~8.6 mm) では、噴門部壁の胃腺は増加していたが、まだ、胃腺細胞の分化が起こっていない個体もあった。鰓では後端内面に卵状体の小型好

酸性細胞が広がっていた。脳の視床部と延髄の錐体細胞および紡錘細胞などの増加が顕著となっていた。小脳では周縁部に狭い分子層が形成されていた。脊索の血管棘と神経棘は硝子軟骨と周囲の骨芽細胞の増生により伸長し、背鰭と臀鰭の担鰭骨との間に不完全な靭帯結合を呈していた。それらの担鰭骨は硝子軟骨と周囲骨芽細胞の増生により伸長していた。担鰭骨の先には骨芽細胞塊で囲まれた軟骨質の棘と中心に毛細管を持つ星型細胞列より構成される軟条が形成されていた。尾鰭では上尾軸骨と下尾軸骨がよく伸長し、その先に軟条の細胞列が伸張していた (Plate VI-3)。

29日齢 (全長 9.5 mm) では、ほぼすべての魚で胃腺細胞の分化と増加が起こり、粘膜下織に膠原線維の増殖が進んでいた。また、胃の筋層も発達してきていた。一部の魚で幽門垂の分化が起こり、前稚魚期に達していた。頭腎では、静脈洞に臨む腎静脈の周囲に弱好酸性の細胞質を持つ間腎腺細胞が明瞭に形成されていた (Plate VI-4)。

30日齢 (全長 9.7 mm) では心臓の心室での髄外造血が終息していたが、心房では髄外造血がまだ見られた。胸腺では、大型芽細胞に混じってリンパ球と判断される小円形細胞が顕著に増生し始めていた (Plate VI-5) が、髄質と皮質の区分は不明瞭であった。脾臓では、細網系細胞と大単核細胞の増進が進んでいたが、莢組織の分化はまだなかった。嗅球、嗅葉、間脳、視蓋、視床下部、延髄の顆粒層では依然有糸分裂像が顕著で、神経細胞の増進が進んでいた。小脳では周縁部の分子層が発達し、顆粒層で小円形核の小顆粒細胞と豊富な細胞質を持つ神経細胞とが分化していた。眼球では脈絡膜の毛細血管が数を増して、複層化していた。脊索では、脊索周囲の骨膜が増殖し、脊索鞘が肥厚してきていた。また、将来個々の脊椎骨の関節が形成される位置において脊索鞘と脊索周辺細胞層の部分的な陥入が起こり、関節の形成が始まっていた。脊索の血管棘と神経棘は硝子軟骨と周囲骨芽細胞の増生により伸張するとともにアザン染色で赤染する鞘を持つようになってきていた。背鰭と臀鰭の担鰭骨は脊索の血管棘と神経棘との間に不完全靭帯結合を呈するとともに伸長し、その先に棘と軟条が伸長していた (Plate VII-1)。尾鰭では軟条の伸張と尾鰭の伸展により軟条の間が拡張するとともに線維芽細胞が増生して結合織を形成していた。

31日齢 (全長 10.2 mm) では咽喉部に複数の咽頭歯芽の形成が明瞭になっていた。歯髓をもつ象牙質の形成が進んでいたが、上皮を突き破って外に突出するには至っていなかった。胃は増大し、その前半部で腺細胞の増進が進んで基底膜をもつ胃腺が形成されていた。ほぼ全ての魚で幽門垂が形成されていた。心臓の心房での髄外造血もほぼ終息していた。脾臓では莢動脈が発達し、脾髄には細網系細胞と大型好塩基性細胞および少数のリンパ球と判断される小円形細胞が分布していた。内耳では感覚細胞がよく発達し、それに接するように好塩基性無構造の耳石も増大していた。背部と尾部腹側を除く体表の広範囲にわたり、表皮下に好塩基性幼弱細胞の集塊あるいは帯状を呈する鱗原基の形成が進み、その一部には薄い鱗の形成が起こっていた。

32日齢 (全長 10.4 mm) では鰓弓の味蕾の感覚細胞が数を増していた。絨毛立方上皮と結合織層からなる胆嚢が、肝臓後部から腸管の背部を後方に向かって伸長し、その周囲には脾小葉が分布していた。小脳では分子層の内側に神経細胞層が形成され、中心部の小顆粒細胞層と区分されていた。小脳の髄膜に血管が形成され、小脳内に分岐侵入していた。小脳の一部には有糸分裂像の豊富な好塩基性細胞の索状構造も散見された。また、上部周縁に立方細胞層および下部周縁に小円形核細胞層を持ち、中心に血管を導入した小脳弁も増大し、視葉脳室内にさらに突出していた。関節部位では骨外膜の骨芽細胞の増進が進むとともに脊索周辺細胞層も発達してきていた。また、背鰭と臀鰭では鰭棘および軟条が伸張し、担鰭骨との間に不完全靭帯結合を呈していた。特に鰭棘に連結する鰭動筋線維束の先端も不完全な靭帯結合をしていた。

33日齢 (全長 10.6 mm) では咽喉部の咽頭歯の象牙質は伸長し、上皮を突き破って外に突出するようになっていた。胃が発達して貯蔵能力も高まり、胃腺の増加、粘膜下織および筋層の発達が進み、腺細胞には酵素原顆粒の形成も起こっていた。また、腸管でも粘膜下結合織が増殖していた。脾臓では莢動脈と莢組織が発達し、脾髄には赤血球の貯溜が顕著になっていて (Plate VII-2)。後腎部では尿管に接して好塩基性細胞からなる腎原基が出現していた。背鰭と臀鰭では脊索の棘と担鰭骨の間、担鰭骨と鰭棘との間の靭帯には膠原線維の増殖により線維性連結が形成されていた。

34日齢 (全長 11.3 mm) では脳の血囊体の腺房構造が

明瞭になり、中に好酸性微小顆粒を容れていた。後腎部の尿管壁に尿管原基が分化していた。スタニウス小体の内分泌細胞は好酸性化し、小房内に毛細血管が侵入していた。腹大動脈の前部には甲状腺濾胞が増加し、その一部には好酸性のコロイドが分泌されていたが、まだコロイドを持たない濾胞も見られた。脊椎の関節部位には脊索鞘と脊索周辺細胞層の間で膠原様物質の産生が進んでいた (Plate VII-4)。

35, 36日齢 (全長 12.1~12.2 mm) では口腔上顎上皮に感覚毛をもつ味蕾が増加していた。胃では胃腺と筋層がさらに発達していたが、上皮にはまだ粘液形成はなかった。小脳の基部背後の第4脳室が拡張し、なかにコロイド様物質を容れていた。小脳弁では下部顆粒層が小顆粒細胞層と神経細胞層とに分化していた。脊索の脊索鞘は好酸性化し、その関節部位において脊索鞘が分断されて結合織による連結となって脊椎骨の形成が起こっていた。その関節部位には関節包を兼ねた骨膜細胞の増生が起こっていた。全身に結合織が発達し、その間にマクロファージ様の大単核細胞が数多く見られるようになっていた。同じ大単核細胞は腹腔内にも出現していた。眼球では、脈絡膜の毛細血管が発達し、鞏膜軟骨の形成も進んでいた。体表のほぼ全面にわたり表皮下に鱗原基が出現し、その多くに薄い鱗の形成が起こるとともに、その下に真皮の密結合織が明瞭になっていた (Plate VII-3)。各鰭の軟条細胞列の中に膠原物質が沈着するとともに硝子様の鞘で覆われるようになっていた。

37日齢 (全長 12.4 mm) では、口腔上顎と下顎の上皮及び鰓弓に感覚毛をもつ味蕾の数が増加していた。一部の魚で胃の上皮上部に粘液形成が起こって粘膜上皮となり、胃がほぼ完成していた。肝臓では、肝門脈の周囲にまだ酵素原顆粒を持たない肝細胞が分化し、いわゆる肝臓の状態になっていた。鼻孔ではその中央で感覚上皮の突出が起こり、鼻孔の分室が始まっていた。脊椎ではその関節部位において脊椎骨の結合織性連結と滑液を容れる関節腔の発達が顕著になっていた。また、同部位の骨膜が増殖し、骨膜細胞の増生と膠原線維形成が顕著となっていた。

38日齢 (全長 12.7 mm) では胃粘膜上皮の形成が胃後半部で進展していた。後腎部では尿管が増加していたが、その間にまだ造血組織は出現していなかった (Plate VII-5)。脾臓では、その間に脂肪細胞がいくつか出現し

ていた。体軀の結合織および血管壁でのマクロファージ様大単核細胞の増生が顕著になっていた。同様の単核細胞が消化管の漿膜および腹膜の組織内でも増生し、膜表面に集簇していた。嗅葉、間脳、視床下部の顆粒層がさらに増加し、分子層の神経線維が太さを増し、その走行も複雑になっていた。視葉の前端基部には顆粒細胞に富む小突起が脳室に突出するようになっていた。小脳の神経細胞層には突起を伸ばしたプルキンエ細胞も出現していた。脳下垂体の腺性部には好酸性細胞が数を増していた。血嚢体周囲には血管が発達し、腺房内に顆粒が充満するようになっていた。皮膚の真皮には薄い鱗をいれた鱗嚢が発達していた。各鰭の軟条では細胞列の中の膠原物質の沈着が顕著となり、硝子様鞘も発達して、軟条はほぼ完成された姿を呈していた。

39日齢 (全長 13.0 mm) では背部腎臓から後腎部での尿管の増加・伸長が顕著で、頭腎部から膀胱へのびる尿管上皮にその一部の尿管が陥入するようになっていた。また、腎小体も数を増していた。しかし、尿管と腎小体の周囲に造血細胞の発生はまだなかった。スタニウス小体の小房が増加していた。

40日齢 (全長 13.3 mm) 以上50日齢 (全長 16.9 mm) の稚魚では、諸組織・器官の発達・充実が進んでいた。その間、42, 43日齢では胃や腸管の粘膜下織が発達し、そこでマクロファージ様大単核細胞が数を増していた。また、それら消化管の粘膜下織および腸間膜には好酸性顆粒細胞が出現してきていた。延髄では第4脳室の下に2個の突起が形成されていた。そのうち1番目の突起は小脳背後に形成され、細胞に乏しかった。1番目と2番目の突起との間は凹んで広い脳室となり、2番目の突起は顆粒細胞と神経細胞からなっていた。46, 47日齢になると背部腎臓の間質に造血細胞が出現し数を増していた。また、視葉の視蓋顆粒層が分葉していた。小脳弁の内側には分子層が発達していた。49日齢では脊椎の関節部の膨大が顕著になり、そこから突起形成が進んでいた。脊椎の中央部はやや凹みを帯びるようになり、一部の脊椎はハバース管様の空隙を持つようになっていた。50日齢では後腎部の尿管や腎小体の間に造血細胞が増生していた。

考 察

以上、静岡県栽培漁業センターで2年間に2度にわたり採取したマダイ仔稚魚の組織・器官の分化を組織学的に観察した。各組織・器官の出現あるいは分化が認められた日齢は、それらが組織学的に明瞭に観察された日にちを示しており、分化の初日と概ね一致するが、若干の日差があることはやむを得ない。つまり組織・器官の分化の厳密な初日の検討は蛍光抗原抗体法か酵素抗体法を導入し、当該組織の原基細胞を特定しなければならないからである。組織学的検討の結果、ほぼ同じ条件で飼育されたマダイ仔稚魚の組織・器官の分化は若干の日差はあるものの、概ね一致していた。ただし、飼育条件が大きく異なる時には、各組織・器官の出現あるいは分化の日齢が異なることがある^{1,2,3)}。水温が高い条件で飼育された仔稚魚では組織・器官の分化がより若齢化する(宮崎未発表)ので、水温などの飼育条件と組織・器官の分化との関連は今後さらに検討されねばならない。

マダイ仔稚魚の器官発生については、総合的に検討したものはない。マダイ仔稚魚の骨格系⁴⁻⁸⁾の発達については解剖学的研究⁶⁻⁸⁾が主で、脊椎変形の関連で一部組織学的検討⁴⁾が行われているにすぎない。脊椎骨、頭骨、尾骨および担鰭骨の分化、発達の状況は解剖学的研究の結果とほぼ同じであった。骨格筋では孵化仔魚の白色筋、桃色筋と血合筋などの発達^{7,9)}について検討されている。その他、眼球の網膜の視細胞の分化¹⁰⁾、塩類細胞¹¹⁾、皮膚の感丘¹²⁾、鰓¹³⁾および鰾¹⁴⁻¹⁵⁾について報告がそれぞれある。そのうち、鰓について、鰓弓、鰓弁、鰓薄板、鰓耙の順次の分化および鰓組織への血流の状況は、上記の報告とほぼ同じであった。鰾は異常膨満¹⁶⁾および変形¹⁴⁾などの疾病との関連が有り、その発生の組織学的検討はよくなされている。本研究で観察された鰾の諸組織の発生と発達、気道の開閉についても他の報告とほぼ同じであった。

仔稚魚の摂餌には骨格系と筋肉系などの運動系^{7,17)}および視覚¹⁰⁾・嗅覚・感覚といった神経系の発達が必要といわれている。本研究の結果、卵黄吸収の進んだ前期仔魚とその吸収後の後期仔魚では、眼球は組織学的にはほぼ発達しており、視葉の発達とともに可視的と考えられる。また、鼻の嗅覚上皮と嗅神経系も発達していた。体表表皮内のクブラを備えた遊離感丘は水の振動を感じるとさ

れており¹²⁾、これも早期に発達していた。鰭では胸鰭の筋組織が早期に発達していた。このことから後期仔魚は、視覚と嗅覚および胸鰭の運動性を利用して摂餌すると考えられる。その後、後期仔魚期の後半から幽門垂を形成した前期稚魚は、胃が発達してワムシに加えて甲殻類幼生など運動性の大きな餌の摂食も行うようになる。また、この時期には胸鰭の発達に加えて、軀幹筋、脊椎、背鰭および尾鰭、視葉・小脳・延髄、内耳、鰾が急速に発達しており、これらの組織・器官に支えられて運動性が増大し、甲殻類など運動性の大きな餌の摂食も容易になると判断される。また、口腔内の味蕾の発達はやや遅れるが、味蕾が発達すると人工配合飼料や魚のミンチ肉の摂食も容易になると考えられる。

本研究は器官発生を総合的に検討したものであるが、次に、造血系などまだ未検討の器官について若干の考察を加える。まず、赤血球造血については5日齢以降、頭腎、心房、心室、静脈洞および大静脈内でも造血細胞と判断される大型単核細胞が数を増しており、それらに接して弱好塩基性細胞質を持つ小型紡錘形の赤血球が形成されていた。そしてそれら造血細胞としての大型単核細胞と赤血球はともにヘモグロビン抗血清・間接蛍光抗体法でヘモグロビンを持つことが証明された。また、日齢が進むとともに頭腎で赤血球の産生が進み、稚魚期には造血の主体をなしていた。後腎部ではようやく50日齢で造血細胞の増生が認められた。以上のことから、仔魚の赤血球造血は、心臓・血管系での髄外造血が重要であるといえよう。こうした髄外造血に関係する造血細胞の由来について、頭腎の造血幹細胞が移行したとも考えられるが、血管・心内膜の間葉細胞由来とも考えられる。ヒトの胎生期第3週では間葉細胞からなる血島から血管内皮と造血幹細胞が分化し、血管内で造血幹細胞が分裂してもっぱら赤血球を形成するとされている¹⁸⁾。マダイ仔魚の赤血球造血も心臓・血管系であり、その造血幹細胞が血管・心内膜の間葉細胞に由来している可能性が高いと考えられる。また、稚魚後期以降、頭腎が赤血球造血の主体であり、漸次後腎部でも造血が行われるようになるかと判断される。ただし、脾臓では赤血球造血の確証が得られなかったが、大単核細胞の赤血球貪食が確認され、仔稚魚でも脾臓が老化赤血球の処理を果たしていることがわかった。リンパ球系では、31日齢以降胸腺で小リンパ球の産生が確認され、ほぼ同時に脾臓でも小リンパ球

が観察された。そのうち、脾臓の小リンパ球が脾臓で産生されたのか、あるいは胸腺か頭腎から移行したのかについてはわからなかった。小リンパ球の同定は難しく、蛍光抗体法を応用した検定が今後の課題である。他方、仔稚魚のマクロファージ系については、8日齢以降、腹腔内、心腔内および結合織に大単核細胞が遊離状態あるいは埋没状態で出現していた。仔稚魚では好中球の形成も弱く、もっぱら大単核細胞が細菌などの病原体の感染防御に携わると考えられる。頭腎の造血細胞の増進が進んだ後に腹腔や結合織に大単核細胞が出現してきていたが、循環血液に単球を認めることは難しく、造血組織の単球にマクロファージ系大単核細胞が由来するとの確証は得られなかった。むしろ、大単核細胞の出現状況から間葉細胞由来とみられる。また、40日齢で腸間膜などの大単核細胞に混じって好酸性顆粒細胞が形成されていた。好酸性顆粒細胞の一部は間葉細胞由来とみられよう。

内分泌器官では、ホルモン産生が当該器官の発達の指標になるので、内分泌器官の分化・発達の検査には蛍光抗体法の応用がどうしても必要であり、この点については今後の課題としたい。

本研究は水産庁受託「健苗育成技術開発事業」研究費を用いて行った。本研究をまとめるに当たり参考文献の紹介を賜わった。京都大学の青海忠久助手および田中克助教授に厚くお礼を申し述べる。

文 献

- 1) 富崎照雄, 藤原和恵. 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研究. 三重大学生物資源学部紀要, 1: 15-27 (1988).
- 2) 山口正男. マダイ養殖, (恒星社厚生閣). pp 114 (1971).
- 3) 山口正男. マダイ養殖の基礎と実際, (恒星社厚生閣). pp 414 (1978).
- 4) 隆島史夫. 人工採苗マダイの椎骨形成異常について. 日本水産学会誌, 44: 435-444 (1978).
- 5) 松岡正信. マダイの脊柱と尾骨の発達. 魚類学雑誌, 29: 285-294 (1982).
- 6) MATSUOKA, M. Osteological development in red sea bream, *Pagrus major*. *Jap. J. Ichthyo.*, 32: 35-51 (1985).
- 7) MATSUOKA, M. Development of the skeletal tissues and skeletal muscles in the red sea bream. *B. Seikai Reg. Fish. Res. Lab.*, 65: 1-114 (1978).
- 8) KOHNO, H., Y. TAKI, Y. OGASAWARA, Y. SHIROJO, M. TAKETOMI and M. INOUE, Development of swimming and feeding functions in larval *Pagrus major*. *Jap. J. Ichthyo.*, 30: 47-60 (1983).
- 9) MATSUOKA, M. and T. IWAI. Development of myotomal musculature in the red sea bream. *B. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 50: 29-35 (1984).
- 10) KAWAMURA, G., R. TSUDA, H. KUMAI and S. OHASHI. The visual cell morphology of *Pagrus major* and its adaptive changes with shift from pelagic to benthic habitats. *B. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 50: 1975-1980 (1984).
- 11) 山下金義. マダイ仔魚の皮膚にみられる塩類細胞について. 魚類学雑誌, 25: 211-215 (1978).
- 12) 山下金義. マダイ前期仔魚の体表に見出された感覚突起 Cupulae. 魚類学雑誌, 29: 279-284 (1982).
- 13) 山下金義. マダイ仔魚の鰓形態の分化について. 魚類学雑誌, 25: 141-148 (1978).
- 14) 隆島史夫, 荒井泰晴, 野村稔. 人工採苗マダイの鰓形成異常について. *J. Tokyo Univ. Fish.*, 67: 67-73 (1980).
- 15) 山下金義. マダイ仔魚の鰓分化. 魚類学雑誌, 29: 193-202 (1982).
- 16) 山下金義. マダイ養殖の基礎的研究—IV. 稚仔の疾病について(2) 鰓の異常膨満. 日本水産学会誌, 32: 1006-1014 (1966).
- 17) 山下金義. マダイ養殖の基礎的研究—I. 稚仔の行動について. 水産増殖, 11: 189-206.
- 18) 嶋井和世ら (訳). ランゲの組織学. (広川書店). 313-314 p. (1986).

Explanation of Plate I

- Fig. 1.** Sagittal section of 0-day-old larva. E: cavity of inner ear. F: membranous fin. L: lens of eye. M: Medulla oblongata. O: optic lobe with a ventricular slit. R: germinal retina of the eye. Y: yolk. Arrows show alarm substance cells in the epidermis. H-E stain, $\times 200$.
- Fig. 2.** Detail of the rudimentary heart (H) of 0-day-old larva. The cylinder-shaped heart is composed of large mononuclear cells and shapes up between the esophageal rudiment (E) and yolk (Y). H-E stain, $\times 320$.
- Fig. 3.** Sagittal section of 1-day-old larva. Rudiments of four gill arches (G) form on an oral cavity. The germinal ventricle of heart (H) is separated by transverse septum (T) from an abdominal cavity containing yolk (Y). The head kidney (K) contains a collecting tube. H-E stain, $\times 160$.
- Fig. 4.** Detail of 1-day-old larva. Free neuromasts (arrow) shape up in the epidermis covering membranous fin. Lateral musculature is composed of immature, striated muscle fibers with central nuclei and forming myomeres. N: notochord of the mesh work. H-E stain, $\times 320$.
- Fig. 5.** Longitudinal section of the head of 2-day-old larva. The lens (L) of eye becomes to dense. The retina (R) develops. The inner ear (E) is lined by the epithelium containing three neuromasts. O: optic lobe. M: medulla oblongata. H-E stain, $\times 160$.

Explanation of Plate II

- Fig. 1.** Sagittal section of 2-day-old larva. The ventricle of heart (H) consists of two layers of myeloblasts and connects with rudimentary gills (G). B: olfactory bulb. E: epidermis with the obvious basement membrane. L: olfactory lobe. M: mouth. N: nasal neuromast. P: rudimentary pineal gland. Y: yolk. H-E stain, $\times 160$.
- Fig. 2.** Sagittal section of the abdominal region of 2-day-old larva. The slit of vein under notochord (N) contains large mononuclear cells (arrows). F: membranous fin. I: intestine. L: hepatic cells. P: pancreatic cells. S: rudimentary swim-bladder. SC: spinal cord. Y: yolk. H-E stain, $\times 320$.
- Fig. 3.** Sagittal section of 3-day-old larva. The heart differentiates into the bulbus arteriosus (B), ventricle (V), auricle (A) and sinus venosus (*). C: cardiac region. E: esophagus. Ep: epidermis. G: rudimentary gill arches. GL: granulation layer of the brain. I: intestine. L: liver. M: molecular layer of the brain. P: pancreas. S: swim-bladder forming a lumen. Y: yolk. H-E stain, $\times 160$.
- Fig. 4.** Sagittal section of 4-day-old larva. The retina of eye differentiates well. The inner ears (E) begin to be separated by extending cartilage. The pectoral girdle and fin (P) shape up. The head kidney (K) consists of renal tubules and hematopoietic cells. Pancreatic cells (arrow) produce zymogen granules and among them germinal Langerhans's islet (I) develops. A swim-bladder is lined by cuboidal cells as gas secreting cells. C: cornea. M: molecular layer of brain. N: notochord. H-E stain, $\times 160$.

Explanation of Plate III

- Fig. 1.** Sagittal section of the head region of 5-day-old larva. B: olfactory bulb. E: inner ear. H: hypothalamus. L: olfactory lobe. M: medulla oblongata. N: nasal neuromast. O: optic lobe. P: pineal organ. R: retina of the eye. H-E stain, $\times 100$.

- Fig. 2. Detail of 5-day-old larva. Around the renal tubules (T) of head kidney and on the endothelium of sinus venosus (S), large mononuclear cells increased in number and produce spindle-shaped erythrocytes (arrows) around them. I: Langerhans's islet. P: pancreas. Y: yolk. H-E stain, $\times 320$.
- Fig. 3. Sagittal section of 6-day-old larva. The swim-bladder is lined by primitive gas secreting cells (G) and the rete mirabile (R) develop along the wall. A splenic rudiments (S) consisting of basophilic large cells forms between intestines (I). The cardiac region (C) expands. H-E stain, $\times 320$.
- Fig. 4. Sagittal section of 10-day-old larva. The gas secreting cells (G) of swim-bladder swell and become acidophilic. The pneumatic duct (P) connecting with a cardiac region (C) has closed. N: notochord and its around cells (arrows). H-E stain, $\times 320$.
- Fig. 5. Sagittal section of 11-day-old larva. The head kidney shows the production of spindle-shaped erythrocytes around hematopoietic cells (*) surrounding renal tubules (T). M: lateral musculature consisting of muscle fibers with obvious striations. P: pancreas. H-E, stain, $\times 320$.

Explanation of Plate IV

- Fig. 1. Fluorescence seen of the heart of 12-day-old larva. Erythrocytes brightly show specific fluorescence in the ventricle (V) and auricle (A). Large mononuclear cells (arrows) on the endocardium of ventricle and auricle exhibit prominent fluorescence in their cytoplasm indicating the presence of hemoglobin. $\times 160$. Window shows details of fluorescent, large mononuclear cells (arrows) and fluorescent erythrocytes around them. $\times 320$.
- Fig. 2. Longitudinal section of the head of 13-day-old larva. Gill filaments with arteries containing erythrocytes and primitive lamellae consisting of the respiratory epithelia and pilaster cells shape up on the gill arches (G). The inner ear is lined by the thin epithelium containing sensory papillae (small arrows), and walled off by cartilage (C). CM: choroidal membrane consisting of capillaries in the eye. S: sclera. A big arrow shows pseudobranch. H-E stain, $\times 100$.
- Fig. 3. Sagittal section of 17-day-old larva. The cardiac region (C) forms folds that are composed of cylindrical epithelial cells and the underlying connective tissue, and its muscle layers become thick. The auricle (A) and ventricle (V) form the mesh work of cardiac muscle fibers. The liver (L), head kidney (K) and pancreas (P) develop well. E: esophagus. G: gas secreting gland. M: lateral musculature. H-E stain, $\times 80$.
- Fig. 4. Detail of 17-day-old larva. The germinal thymus (arrow) consists of large nuclear cells in the branchial cavity. C: cartilage. E: inner ear. G: gill filament. O: operculum. P: pectoral fin. H-E stain, $\times 160$.
- Fig. 5. Sagittal section of the brain of 18-day-old larva. The hypophysis differentiates into neuro- and adeno-regions (small arrow). The saccus vasculosus (big arrow) consisting of coronet cells enlarges and becomes to cystic. H: hypothalamus. T: thalamus with the developed granular (G) and molecular (M) layers. H-E stain, $\times 160$.

Explanation of Plate V

- Fig. 1. Sagittal section of 18-day-old larva. Cartilaginous neural spines (S) and hemal spines develop. Spinal ganglions (arrow) enlarge between neural spines. B: gall bladder. C: cardiac region. G: gas secreting cells of a swim-bladder with the rete mirabile (R) and closed pneumatic duct (P). I: intestine. L: liver. M: lateral musculature. N: notochord. P: pancreas. S: spleen containing erythrocytes. H-E stain, $\times 100$.
- Fig. 2. Sagittal section of the head of 21-day-old larva. Granular layers and molecular layers develop in the olfactory bulb (B), olfactory lobe (L), optic lobe (O), thalamus (T), hypothalamus (H), cerebellum (C) and medulla oblongata (M) of the brain. The sensory epithelium of nostril (N) develop. CM: choroidal membrane. E: inner ear. P: pineal gland. R: retina. S: saccus dorsalis. *: cartilaginous crania. H-E stain, $\times 50$.

- Fig. 3. Longitudinal section of visceral organs of 22-day-old larva. The cardiac region (C) with folds expands well and contains food matter as well as intestines (I). The auricle (A) and ventricle (V) consist of the mesh work of cardiac muscle fibers. Gill lamellae grow in gills (G). L: liver. P: pancreas. H-E stain, $\times 50$.
- Fig. 4. Longitudinal section of the spleen of 23-day-old larva. Spleen (S) forms splenic arteries and pulps consisting of large mononuclear cells and reticular cells. I: intestine. P: pancreas. H-E stain, $\times 320$.
- Fig. 5. Median section of the caudal peduncle of 22-day-old larva. A parhypural bone (P) and 1st and 2nd hypural bones (H) grow under the straight notochord, which are cartilaginous. Lepidotrichiae (L) consisting of the cylindrically arranged, stellar cells around the inner canaliculi develop. N: notochord. H-E stain, $\times 100$.

Explanation of Plate VI

- Fig. 1. Sagittal section of the stomach of 26-day-old larva. The cardiac region has developed into the stomach (S) showing many gland cells (arrow) without zymogen granules under the epithelium. An oval gland (short arrow) consisting of acidophilic round cells develops in the posterior swim-bladder (SB). G: gas secreting cells of the red gland. H-E stain $\times 160$.
- Fig. 2. Sagittal section of 26-day-old larva. Stannius corpuscle (arrow) composed of basophilic cells grows in the connective tissue (C) along ureter (U) and caudal vein (V). UB: urinary bladder. H-E stain, $\times 300$.
- Fig. 3. Median section of the tail of 28-day-old juvenile. In the caudal peduncle, a parhypural bone (P) and from 1st to 4th hypural bones (H) develop. Lepidotrichiae (L) of the caudal fin (CF) form ray-shapes. A: accessory cartilage. HS: hemal spine. NS: neural spine. N: notochord. H-E stain, $\times 50$.
- Fig. 4. Sagittal section of the head kidney of 29-day-old juvenile. The interrenal gland (arrows) consisting of acidophilic cells develops along the renal vein (RV) in the head kidney. Hematopoietic cells increase in number in the hematopoietic tissue (H). G: gal bladder. L: liver. P: pancreas. T: renal tubule. H-E stain, $\times 160$.
- Fig. 5. Section of the thymus of 30-day-old juvenile. The enlarged thymus (T) contains increased small lymphocytes and large mononuclear cells. H-E stain, $\times 160$.

Explanation of Plate VII

- Fig. 1. Median section of the anal fin of 30-day-old juvenile. Lepidotrichiae (L), cartilaginous pterygiophore (P) and muscle (M) motioning rays develop well in the anal fin (A). LM: lateral musculature. N: notochord. S: hemal spine. V: caudal vein. H-E stain, $\times 160$.
- Fig. 2. Longitudinal section of the stomach and spleen of 33-day-old juvenile. Gastric glands (G) develop and the gland cells contain zymogen granules in the stomach (St). The spleen (S) formed sheathed arteries (A) and pulps (P) containing erythrocytes and small lymphocytes. H-E stain, $\times 160$.
- Fig. 3. Longitudinal section of the skin of 35-day-old juvenile. Scale sacs (SS) containing a thin scale (S) develop in the dermal loose connective tissue. The underlying dermal dense connective tissue (D) is composed of thick collagenous fibers. H-E stain, $\times 160$.
- Fig. 4. Longitudinal section of vertebrae of 34-day-old juvenile. Secondary chorda sheath (C) of the centrum becomes to thick. The around cells of notochord sheath (long arrows) and the periosteum (short arrow) produce collagenous matter in the articular regions. N: notochord. NS: neural spine. H-E stain, $\times 160$.
- Fig. 5. Longitudinal section of the anterior kidney of 38-day-old juvenile. Many primitive renal tubules and sinusoids develop along the collecting tube (CT) in the anterior kidney (K). C: connective tissue containing fibrocytes, fibroblasts and capillaries. DV: dorsal vein. LM: lateral musculature. H-E stain, $\times 300$.

Plate I

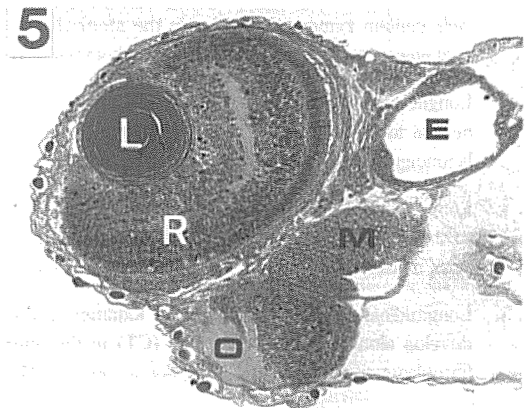
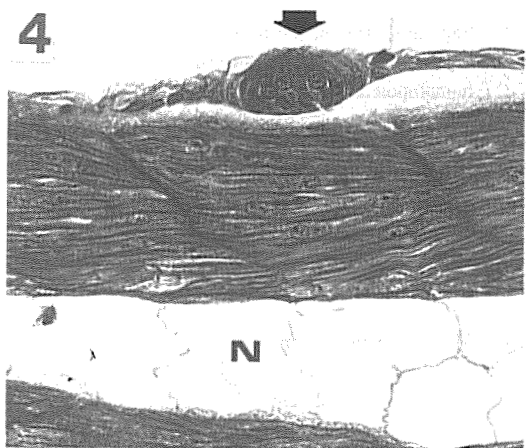
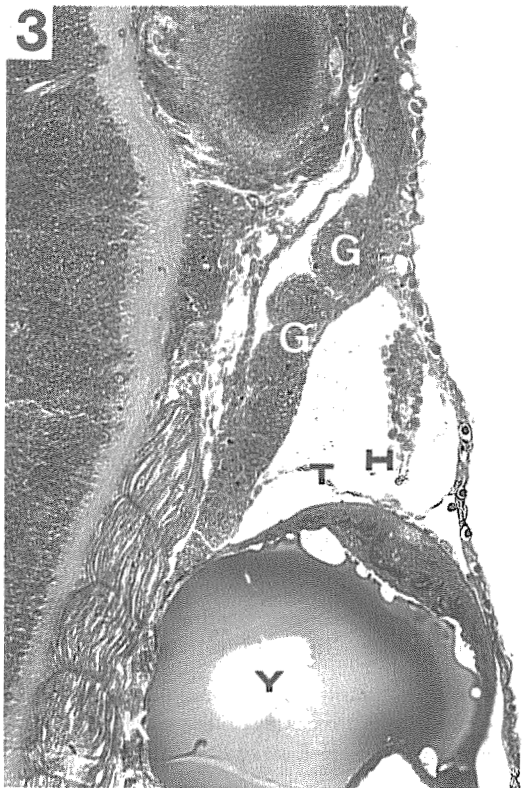
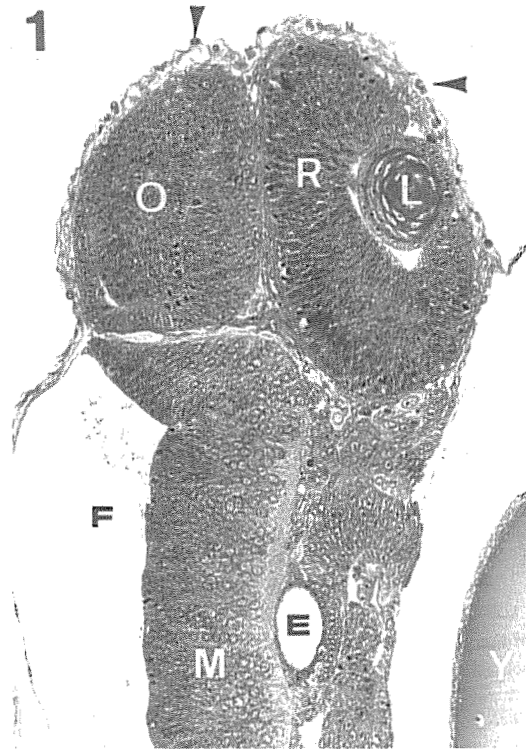


Plate II

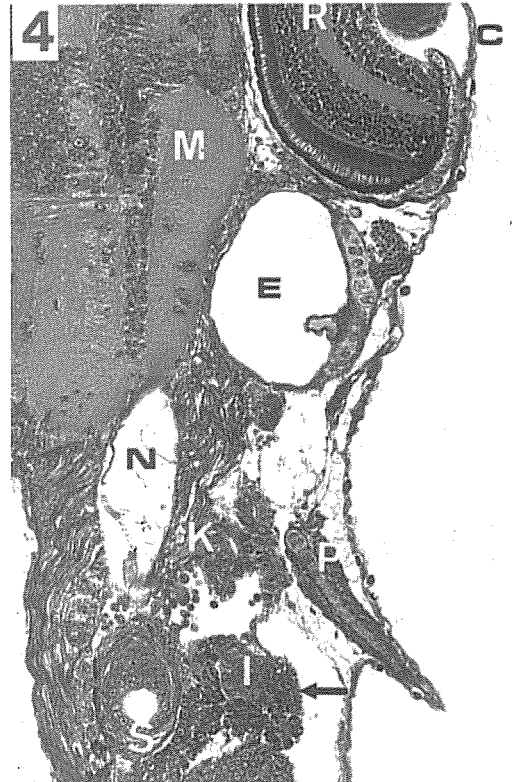
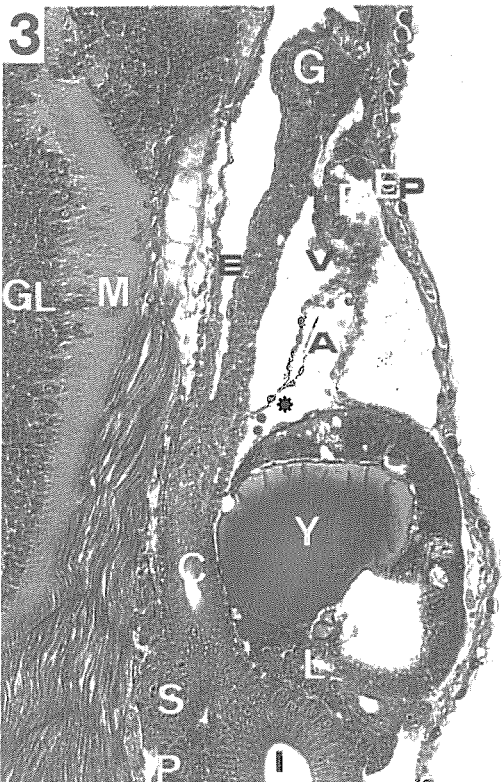
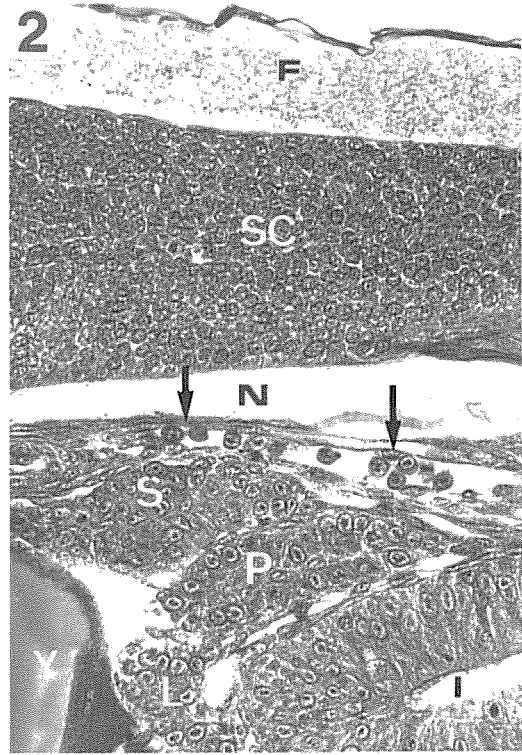
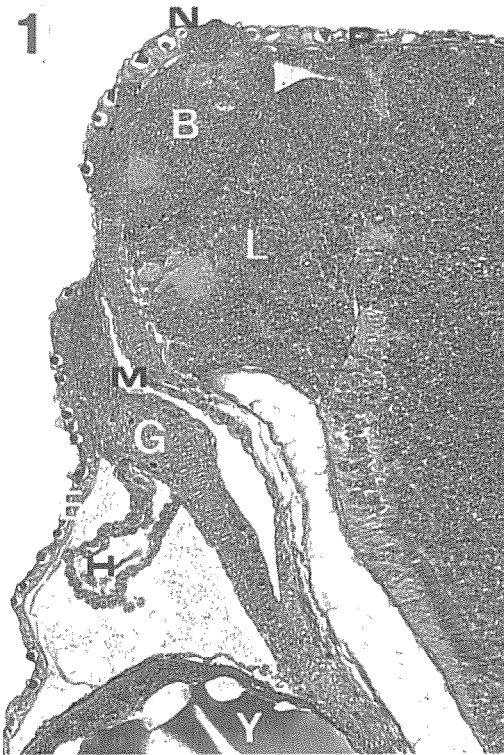


Plate III

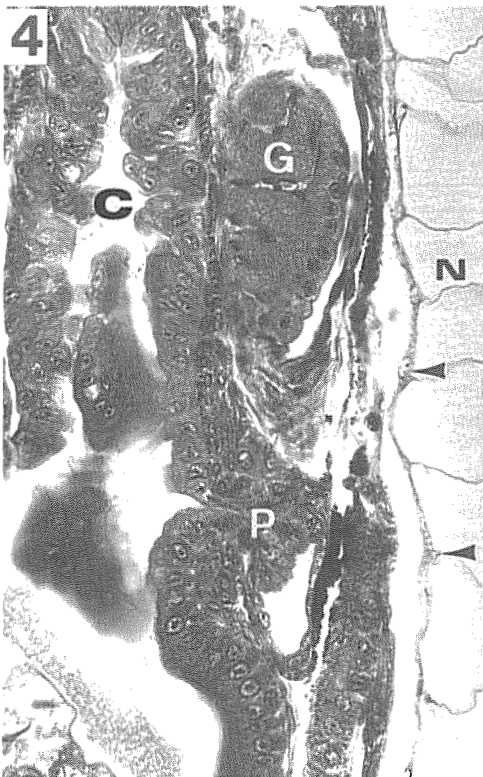
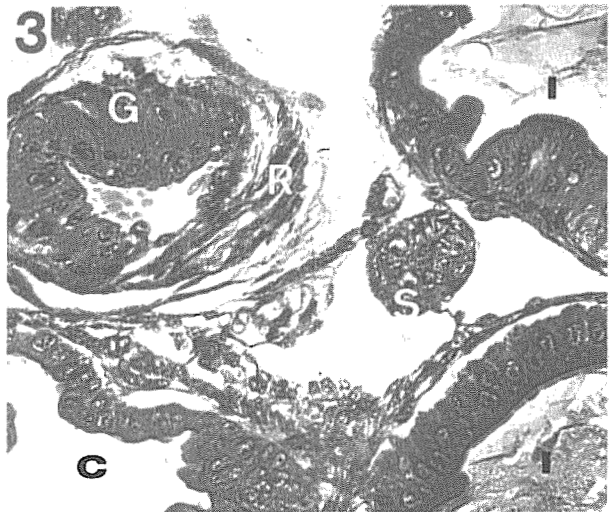
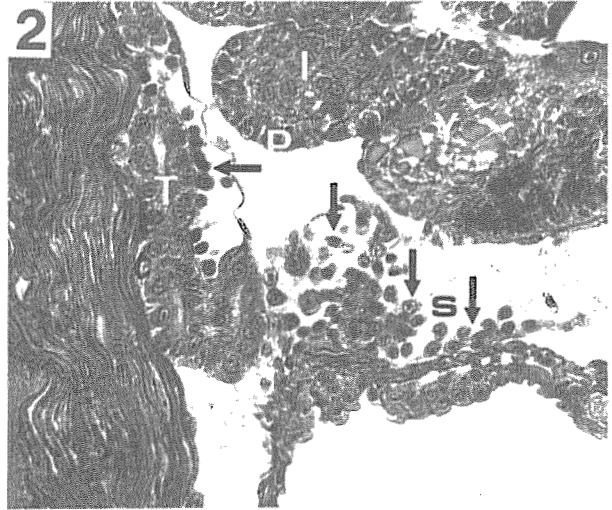
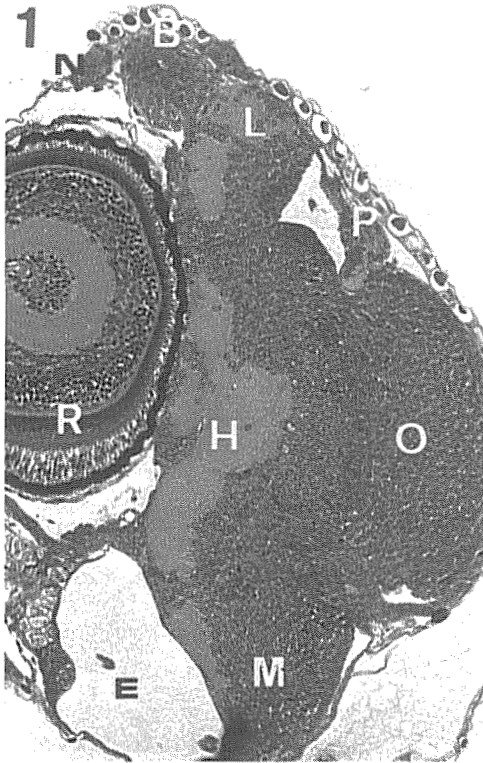


Plate IV

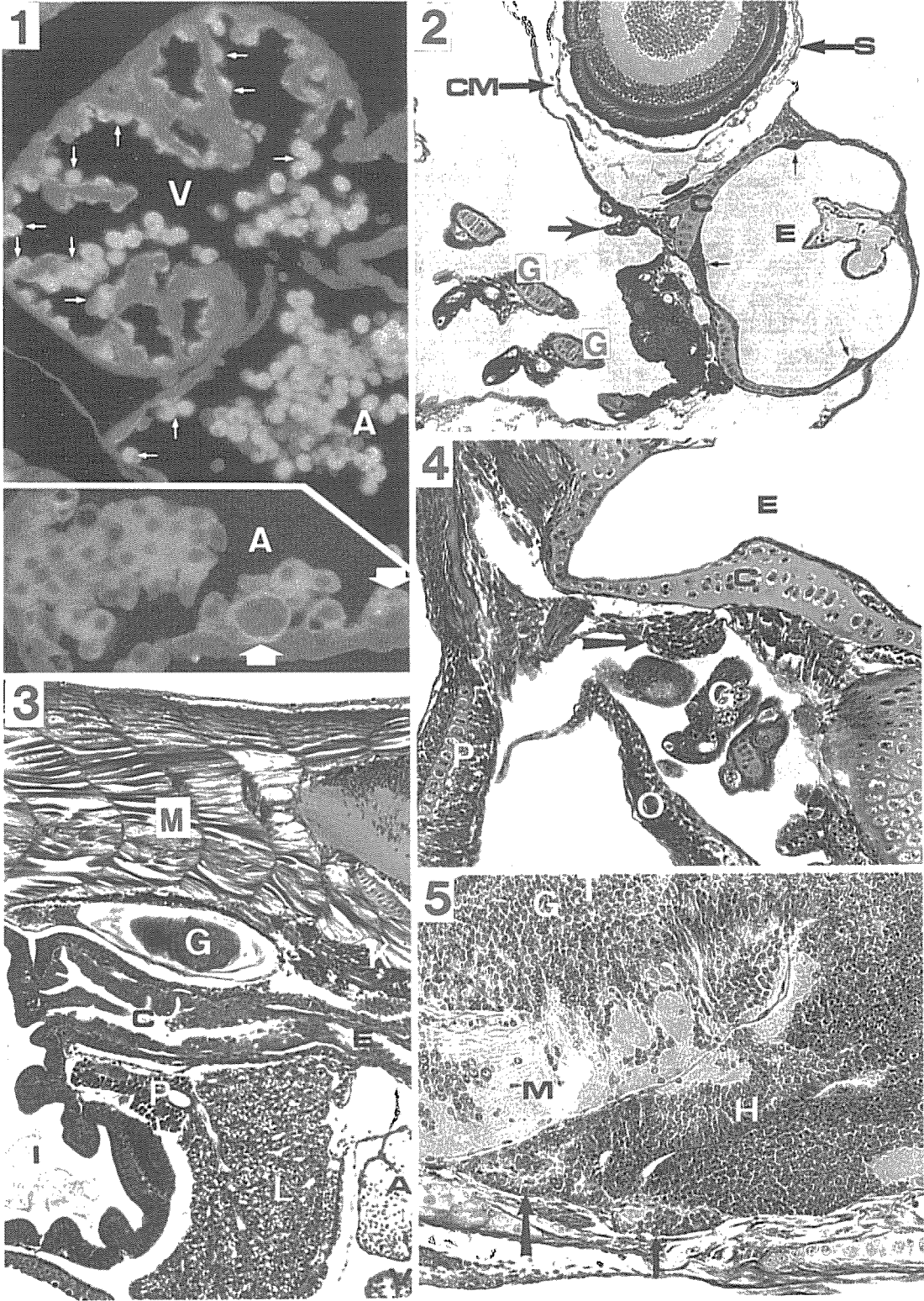


Plate V

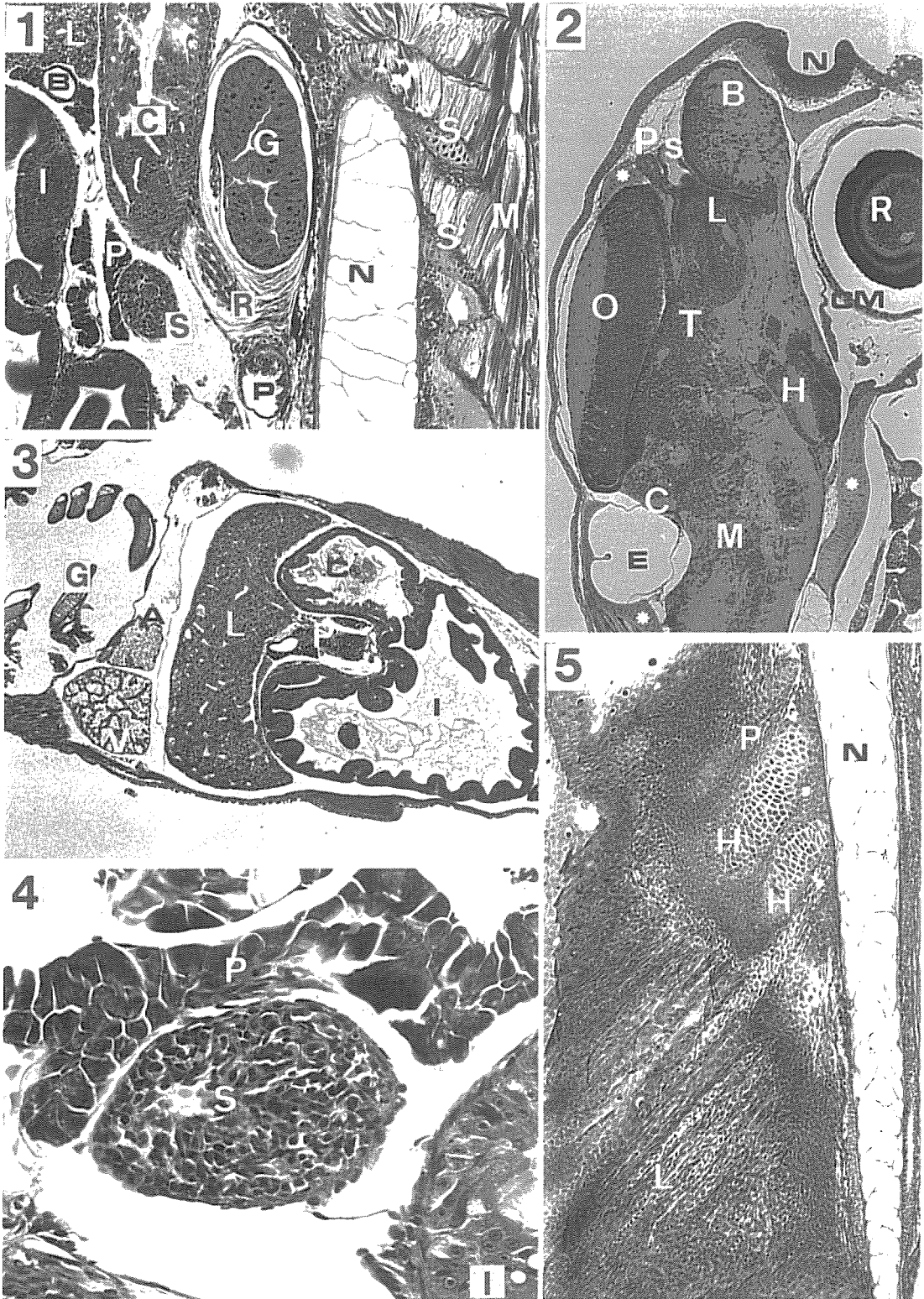


Plate VI

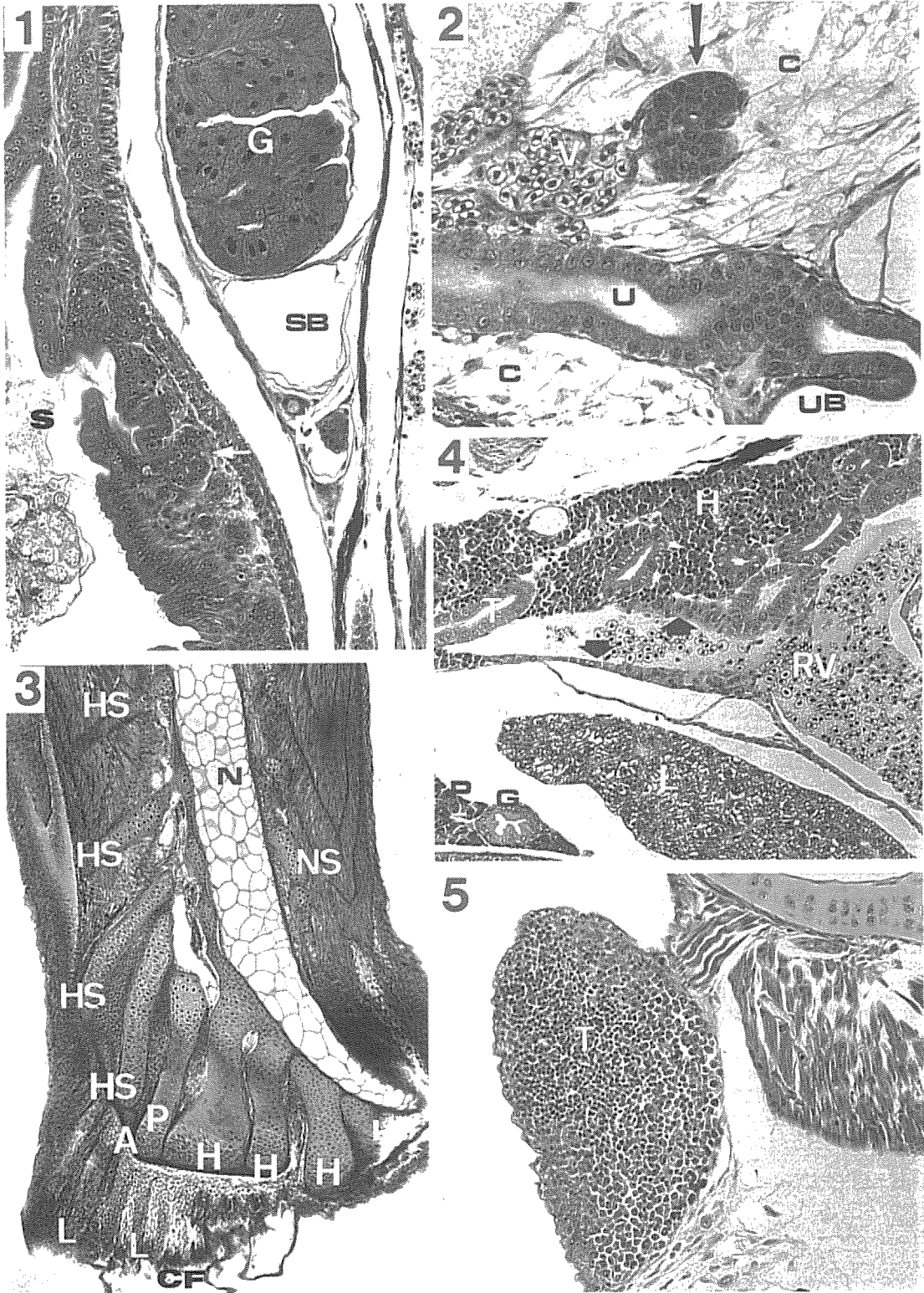


Plate VII

