

ニジマス稚魚における鰓弁の微細構造

木村紀彦・工藤重治

The Fine Structure of Gill Filaments in the Fingerlings of Rainbow Trout *Salmo gairdneri*

Norihiko Kimura and Shigeharu Kudo

(Received April 3, 1979)

Gill filaments and lamellae of rainbow trout fingerlings after 3 or 8 weeks of feeding were examined by transmission and scanning electron microscopies.

Chondrocytes constituting a cartilaginous rod of gill filaments are roughly oval in shape, and characterized by enlarged cisternae with rare adhesion of ribosomes. The cells contain a small amount of flocculent material, which is located in the cell periphery and frequently has communication with the matrix of cartilage. The cartilaginous rods are closely surrounded by a connective perichondrium consisting of a layer of flat perichondrocytes.

The filament epithelium consists of two or three layers of cells of three kinds, i.e. epithelial, chloride and mucous cells. They are connected with junctional complexes and desmosomes, and also associated with an extremely small number of intercellular digitation. The lamellar epithelium also consists of morphologically similar types of cells in one or two layers. Many epithelial cells are relatively electron dense and somewhat flat but sometimes roughly oval, with occasional well-developed Golgi complexes. Partial collapse or degeneration of the cytoplasm in the epithelial cells in the gill lamellae not always implied their exfoliation.

Chloride cells are generally round in shape and more numerous in the fingerlings 3 weeks after feeding than those in 8-week-old fingerlings. This suggests their occasional exfoliation from the epithelium. The chloride cells with a network of well-developed smooth endoplasmic reticulum have a tendency to be more electron dense in the cytoplasm. Flattened chloride cells are more numerous in the 8 week fingerlings than in the 3 week ones, and they include relatively large numbers of lysosomes and are abundantly detected in the gill lamellae.

Mucous cells are roughly oval in shape, usually packed with secretory granules, and oriented externally. Mucous cells are surrounded mostly by cells of other types, having a little free surface.

In scanning electron microscopic observations, surface ultrastructure of epithelial cells located in the outermost layer is characterized by branching and anastomosing cytoplasmic microridges which are about 275 m μ in average width. The free surface of chloride cells is characterized by dotted appearance, attributable to short cytoplasmic processes which are about 460 m μ in average thickness. Mucous cell surface with no granule-discharging signs is usually smooth but sometimes is dotted with a small number of particles.

(NK: Gunma Prefectural Fisheries Experimental Station, Shikishima-cho, Maebashi 371, Japan; SK: Department of Anatomy, School of Medicine, Gunma University, Maebashi 371, Japan)

ニジマスの鰓組織の構造に関して、光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡による観察 (Morgan and Tovell, 1973; Morgan, 1974) や走査型電子顕微鏡による観察 (Olson and Fromm, 1973) があるが、これらの観察

は主として呼吸の場としての形態や機能の解明に重点がおかれている。

著者らは細菌性鰓病に罹ったニジマス稚魚の鰓組織を光学顕微鏡で観察した際に、稚魚の鰓は成魚のそれに比

較して未発達なためか、健康魚の鰓組織であっても既報されている鰓組織、特に二次鰓弁の形態学的所見といくぶん異なっていることに気付いた。そこで著者らは健康なニジマス稚魚の鰓弁の微細構造を把握することによって、細菌性鰓病の病理組織学的診断やその治療の過程における組織学および細胞学的理解を容易ならしめる目的で、透過型および走査型電子顕微鏡を用いて健康なニジマス稚魚の鰓弁を観察したので報告する。

材料および方法

本観察に用いたニジマス *Salmo gairdneri* Richardson の稚魚は群馬県水産試験場川場養魚場で水温約 12°C で飼育された体重約 0.4~1.0 g のもので、これらは餌付後 3 週間~8 週間のものである。

光学顕微鏡による観察には鰓組織をブアン氏液固定、パラフィン切片、ヘマトキシリン・エオシン染色を施した標本と、透過型電子顕微鏡による観察のためにエポキシ包埋した約 1 μ 切片をトルイジン青で染色した標本とを使用した。また、2.5% グルタルアルデヒド固定した鰓組織をカゴジレート緩衝液で洗った後、光学顕微鏡で観察して参考とした。

透過型電子顕微鏡による観察のために、鰓組織を 3% 蔗糖を含む 2.5% グルタルアルデヒド (0.1 M カゴジレート緩衝液 pH 7.3) で 2~3 時間固定した後、5% 蔗糖を含む同緩衝液で 2~3 回換えて 1 晩洗い、さらに 1% オスミウム酸で 2 時間固定した後、常法により、エタノール脱水、エポキシ包埋した。超薄切片は酢酸ウランと酢酸鉛の二重染色を施して JEM 100 U あるいは 100 C 型電子顕微鏡で観察した。

走査型電子顕微鏡による観察のために、透過型の場合と同様の固定液で固定したが、鰓組織の表面に付着している粘液物質やその他の表面の汚れを除去するために、30分~1 時間固定後に弱い超音波を数秒間ずつ十数回かけ、さらに同様の新しい固定液で 1~2 時間固定した後、5% 蔗糖を含む同緩衝液で 2~3 回換えて 1 晩洗い、導電染色を施した。即ち、2% 蔗糖、2% グルタミン酸ソーダ、2% グリシン、2% アルギニンを含む混合液に少なくとも 2 時間以上浸し、さらによく蒸留水で洗った後、2% タンニン酸水溶液に 2 時間浸し、再び蒸留水でよく洗った後、1% オスミウム酸で 2~3 時間固定した。常法により、エタノール脱水後、酢酸アミルに移し、液体 CO₂ により臨界面乾燥を施した鰓組織をイオンスパッターで白金パラジウム蒸着し、Hitachi S-700 走査型電子顕微鏡 (フィールド・エミッション型) で観察した。

観察結果

光学顕微鏡による観察 ニジマス稚魚の鰓弁はやや扁平で細長い板状で、鰓弓 (gill arch) の上にそれぞれ上下 2 本ずつ対になって位置し、下側の鰓弁は上側のそれより小さく、短い。これらの鰓弁の先端部では二次鰓弁 (gill lamella, secondary lamella) の形成が不完全で、やや肥大している傾向がある。上下の鰓弁は鰓弓より派生する基部の 1/4~1/5 位まで隔壁 (interbranchial septum) によって結合されている。この隔壁の中には切片上で横紋筋線維や結合組織性の細胞がみられる。上下 2 本ずつ対をなす鰓弁が互いに対向する側に鰓導入動脈 (afferent branchial artery) が、その反対側に鰓導出動脈 (efferent branchial artery) がある。鰓導入動脈の内側に接して鰓弁軟骨性支柱 (cartilaginous rod) が鰓弁のほぼ先端部付近にまで伸びている。この軟骨性支柱は縦断面では楕円形の軟骨細胞がほぼ 1 層に横列し、それらの間には間質は少ない。軟骨性支柱の外側は切片上では 1 層の扁平な細長い紡錘形の細胞によって密に取り囲まれている。この扁平な細胞は位置的には結合組織性軟骨膜に相当する。さらに、この外側には種々の程度に結合組織が識別できるが、鰓導入動脈や鰓導出動脈が通る部位では結合組織が比較的多い。鰓弁上皮は結合組織に密接し、3 種類の細胞によって構成されている。即ち、光顕レベルでみられる基底膜に接する 1~2 層 (部位によっては 2~3 層) のやや扁平な上皮細胞 (epithelial cell)、この細胞に接し丸味を呈する多くの塩類細胞 (chloride cell)、そして粘液細胞 (mucous cell) である。塩類細胞はヘマトキシリン・エオシン染色では細胞質が濃赤色に、トルイジン青染色では細胞質が明調で、その中に淡青色のミトコンドリアが多数見られる。粘液細胞は二次鰓弁のない両外側と鰓弁の先端部に多く、一般に細胞質は粘液顆粒で満たされている。

二次鰓弁は扁平な鰓弁の両面に交互に配列し、餌付後 3 週間の稚魚 (体重約 0.4 g) ではその数は片面に 11~16 個で、同一個体でも各々の鰓弁によって必ずしも同数ではない。餌付後 8 週間の稚魚 (体重約 1.0 g) ではその数は 26~35 個である。二次鰓弁の上皮は鰓弁と同様の種類の細胞によって構成されているが、両面の上皮の内部に密接して柱細胞 (pillar cell) が内包されている。二次鰓弁の先端部を除く他のほとんどすべての二次鰓弁部位で呼吸上皮細胞が塩類細胞によって被われていることもある。このような塩類細胞のいくつかは上皮より脱落することを示唆する所見もしばしばある。

透過型電子顕微鏡による観察 鰓弁の鰓弁軟骨性支柱

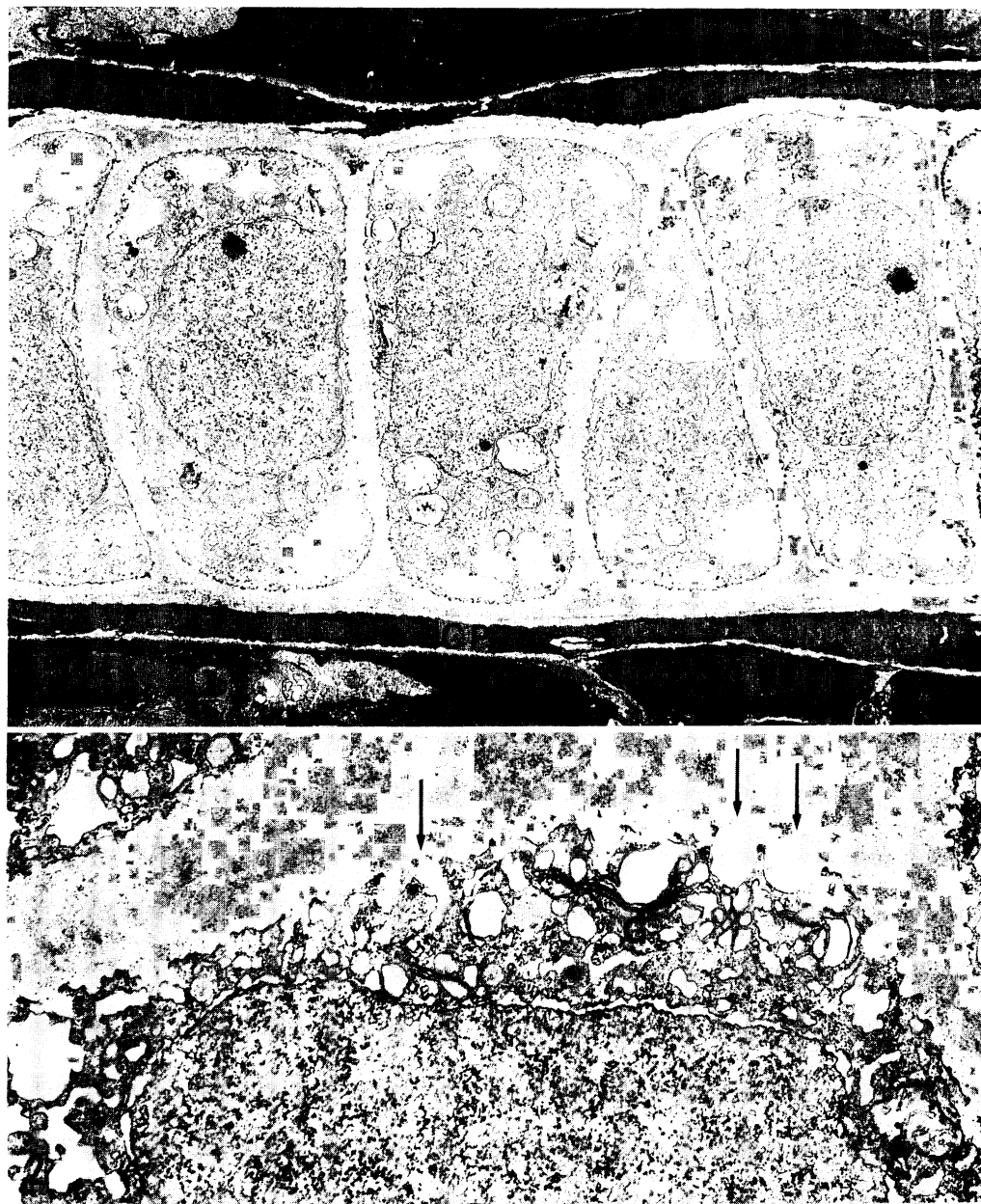


Fig. 1. A cartilaginous rod in a gill filament. Cartilage cells are roughly oval, with several enlarged cisternae of the endoplasmic reticulum where the adhesion of ribosomes is rarely seen. The cisternae contain usually a small amount of flocculent material. The cartilaginous rod is closely surrounded by the connective perichondrium (CP) consisting of a layer of spindle-shaped cells. $\times 3800$.

Fig. 2. A part of a cartilage cell. Note communication of the cisternae with the matrix of cartilage (arrows). G: Golgi apparatus. $\times 16100$.

を構成する軟骨細胞は多くは小判形で表面には小さな凹凸が多数見られる (Fig. 1)。その細胞質は比較的明調で、粗面小胞体は細胞質全域に散在して、それらの間に介在する少数のミトコンドリア、切片上では1~2個のゴルジ装置、散在する遊離リボソーム、少数のグリコーゲン顆粒、時折りみられるライソソームなどがある

(Fig. 2)。特に軟骨細胞の辺縁部に位置する粗面小胞体のいくつかはリボソームの付着が極めて少なく、その内腔が拡大し、しかもその腔内に軟骨基質と同様な外観を呈する微細顆粒状又は雲絮状物質を種々の量で含んでいる。その拡大した内腔が軟骨基質に開口していることがある (Fig. 2)。軟骨基質の辺縁部、即ち結合組織性軟骨

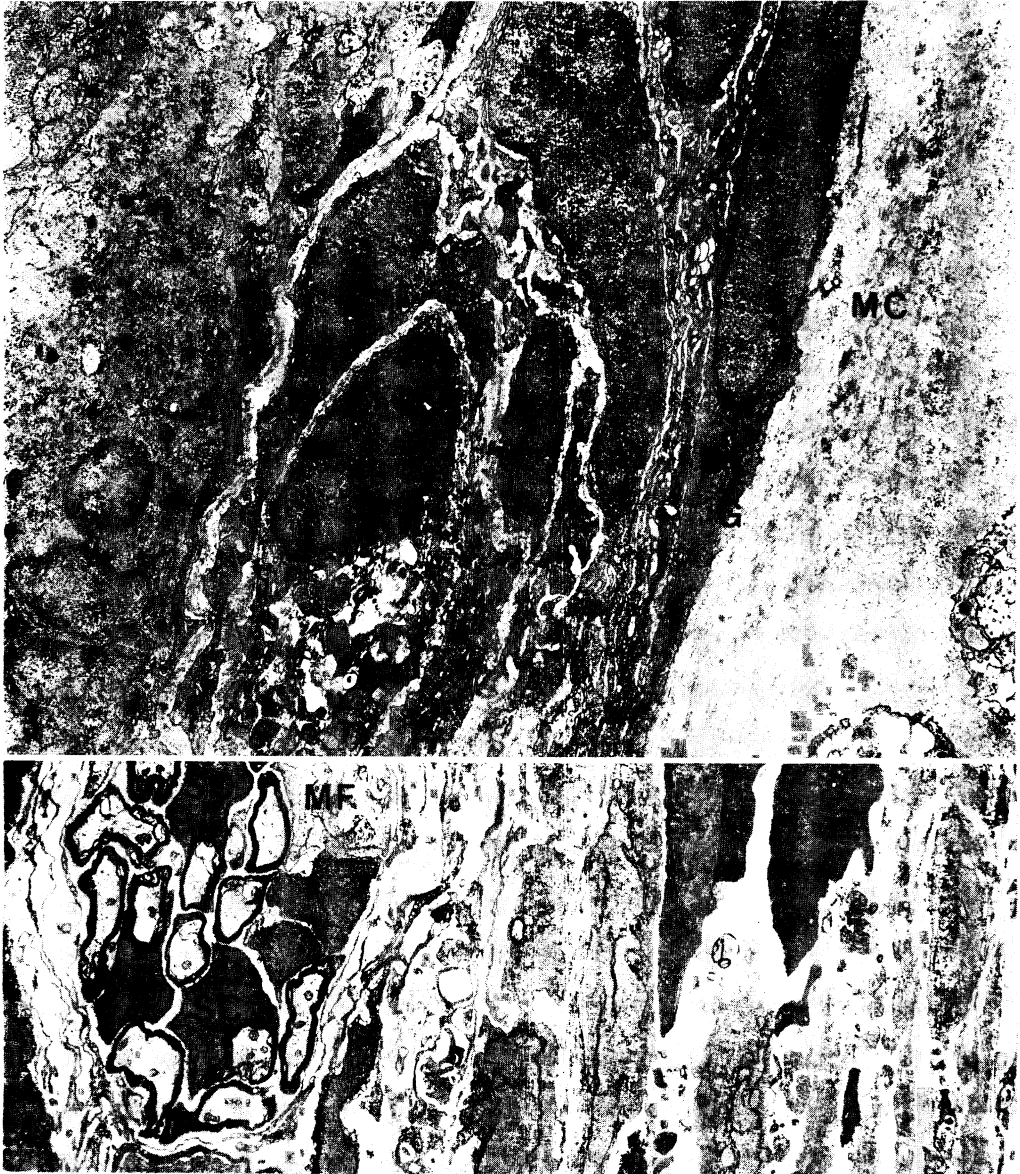


Fig. 3. A connective perichondrocyte and the peripheral region of a cartilaginous rod. The peripheral matrix of cartilage is rich in fine filaments. G: Golgi apparatus. MC: matrix of cartilage. $\times 7500$.

Fig. 4. The connective tissue in a gill filament. MF: A cross-sectioned myelinated fiber. SC: Schwann's cell. $\times 3300$.

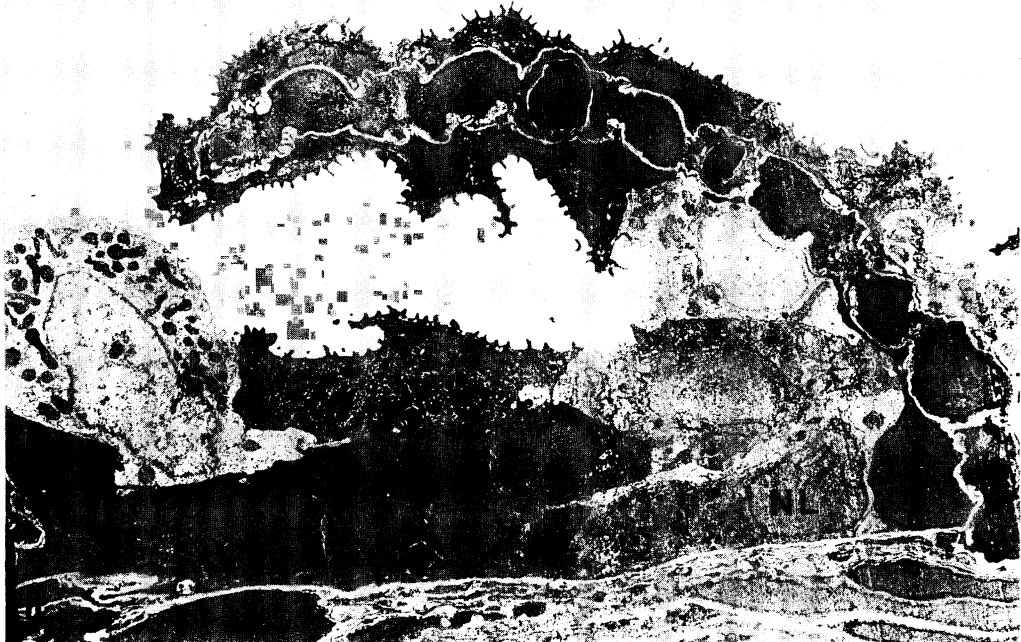
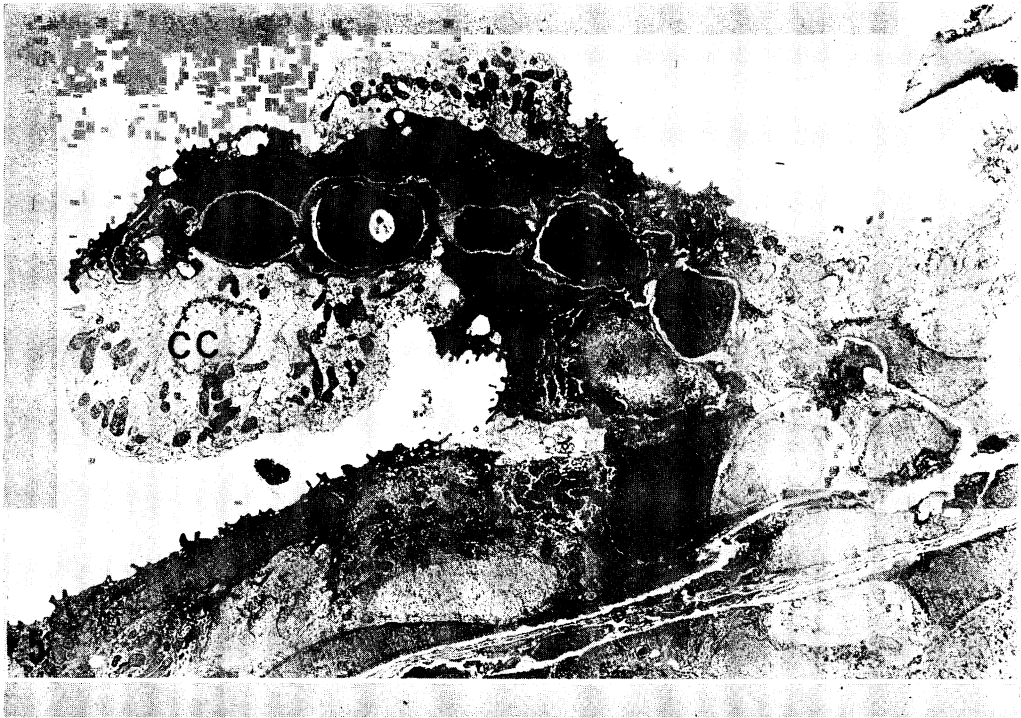


Fig. 5. A gill lamella and an interlamellar epithelium in a fingerling 3 weeks after feeding. The gill lamellar epithelium is composed of one or two layers of cells. A chloride cell (CC) is in part apposed to the basement membrane. The interlamellar epithelium consists of two or three layers of cells which are epithelial and chloride cells. The nucleocytoplasmic ratio is generally large in the epithelial cells. $\times 2400$.

Fig. 6. A gill lamella consisting of two layers (proximal and distal) of epithelial cells in a fingerling 3 weeks after feeding. The lamella is almost completed morphologically; relatively enlarged intercellular spaces are not seen. The epithelial cells are relatively electron dense. NL: Neutrophilic leukocyte. $\times 2400$.