

養殖ヒラメ無眼側皮膚の微細構造と その体色異常性の組織学的検討

鈴木伸洋

Ultrastructure of the Skin on Reverse Side of Hatchery- Reared Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus* with Reference to the Pigmentation

Nobuhiro SUZUKI

Ultrastructure of the skin on the reverse side of a hatchery-reared pseudoalbino Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* after metamorphosis was observed. The skin was similar in general structure to that of other flat fish, but such the previously undescribed cells as chloride cells and blood capillaries were observed throughout the epidermis. The integrity of the guanoaphore system was complete in both of unpigmented and partially pigmented areas. Many melanophages migrating around a melanocyte or melanoblast were observed in the unpigmented areas and they are involved in phagocytosis of melanin. On the contrary, in the partially pigmented areas, no melanophages were observed and melanin-bearing epithelial malpighian filamentous cells were found throughout basal layer of the epidermis. Melanin-bearing melanocytes, amelanotic melanocytes and melanosome complex (degenerative melanocytes which lack the ability to activate the tyrosinase) were also recognized throughout *stratum spongiosum* of the dermis in the partially pigmented areas. Some components of the skin, such as eye position, shape of scales, body color, mucus cell density, and the number of epidermal filament-containing cells, intraepithelial blood vessels and chloride cells changed asymmetrically on both sides of the skin in the process of metamorphosis. The asymmetrical formation process is thought to be due the cell differentiation on the obverse side and pedomorphism on the reverse side through the adaptive characteristics in relation to a bottom life style. In addition to this it is suggested that the pigmentation of the reverse side skin is dependent on lymph functional disorder in relation to the differentiation of melanin.

Key words: flounder, skin structure, pseudoalbinism, melanophage, metamorphosis

ヒラメの増養殖過程においてみられる、有眼側の白化の要因 (SEIKAI 1985a, b, SEIKAI *et al.* 1987) やその機構 (KANAZAWA, 1993) が明らかにされつつある。一方、無眼側における異常な着色が変態完了後に発現することが知られ、飼育期間が長いほど異常個体の出現率が高いこと、それには無眼側への光照射が大きく影響すること、さらに市販の配合飼料への依存度

が高い場合にも皮膚が部分的にでも黒化する個体の出現率が高くなることが経験的に知られるようになった（高橋 1992）。しかし、供試魚の履歴や有眼側の体色の異常発現状態が無眼側への着色にも関連する（青海 1989）など、その異常発現機構は複雑である。このようなことから、ヒラメの体色異常については飼育方法や飼育環境ならびに餌料の栄養強化の方法など、いろいろな飼育条件を照し合わせた再検討が必要であることが提言されている（高橋 1992）。

一方、異体類の皮膚の微細構造については、孵化直後仔魚から4歳の成魚まで大西洋産ツノガシラカレイの一種であるプレース（以下同じ）、*Pleuronectes platessa*, を材料に有眼側の皮膚構造について詳細な研究がなされている（ROBERTS *et al.* 1971, 1973）。また、ヒラメ、*Paralichthys olivaceus*, については、変態期の仔魚で体両側の皮膚における色素細胞分化について電子顕微鏡的研究が行われている（SEIKAI 1992）。しかし、変態完了後の無眼側の色素細胞の分化と体色の異常性については詳細な報告がない。

本研究は、ヒラメ無眼側皮膚の異常体色発現機構を解明する手始めとして、無眼側が変態完了後に部分的に黒化したヒラメを用いて、無眼側の皮膚の構造と皮膚の色素沈着に関する超微形態的な観察を行った。

材料及び方法

広島県下の養殖場で生産されたヒラメ仔魚を室内の250ℓのFRP角型水槽で市販の配合飼料（ヒガシマル配合固形飼料）を与えて室内の自然光下で流水飼育（水温16.6～18.1℃、塩分約30）した。変態を完了した個体（南 1982のステージIIに相当）の中から、外観上形態、運動機能および有眼側の皮膚の色素沈着が正常かつ無眼側の皮膚の全面に色素沈着が点状に散在した状態で生じている、いわゆる部分黒化個体1尾（全長68.3mm）を選んで供試魚とした。無眼側皮膚の正常部位（白色部分）と異常部位（黒色部分）にそれぞれ0.2モルのカコジレート緩衝液でpH7.5に調整した2.25%パラフォルムアルデヒドと2%グルタルアルデヒドの混合液を滴下しながら、ほぼ3mm大に筋肉層までメスを入れ切除し、切除した部分の鱗を数枚抜き取った。切除した組織片を前報（鈴木 1993）に従って電顕用超薄切片を作製し、酢酸ウラニルとクエン酸鉛の二重染色を施して日立HU-12型電子顕微鏡を用いて加速電圧80KVで観察した。また、鱗を0.2モルのカコジレート緩衝液で洗浄後、1%サイアニンプルRで染色して光学顕微鏡で観察した。

結 果

1. 表皮

表皮は、4から6つの細胞層から成り、最外層は主に非角化性の単層扁平上皮で構成され、遊離表面には微小堤を備えている。基本細胞単位としては、線維細胞（filament-containing cell）、塩類細胞（chloride cell）、血管（blood capillary）とその内皮細胞（Figs. 1, 2）およ

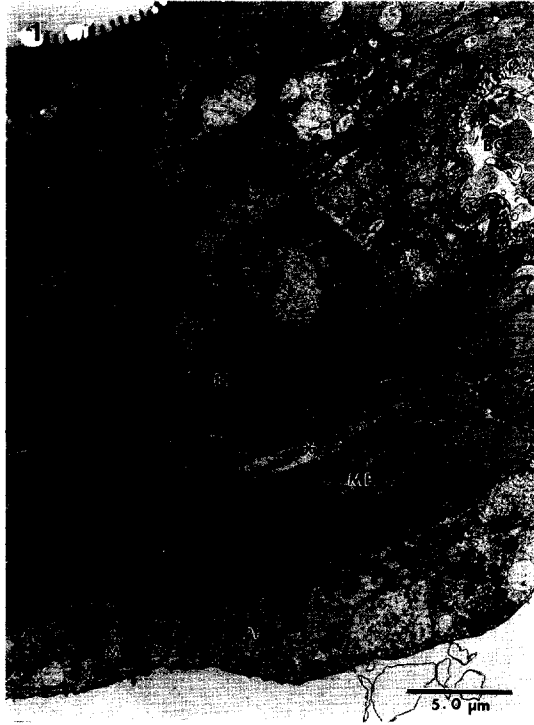


Fig. 1 Cross section of the unpigmented (normal) skin throughout an abdominal part of the trunk (68.3mm in TL). Asterisk indicates a melanoblast. BC: blood capillary, BL, basement lamella, CC: chloride cell, M: mitochondrion, MP: melanophage, Pt: peritoneum.

びエオジンに濃染する分泌顆粒を含有した細胞 (eosinophilic granule cell) などが認められた (Fig. 3)。最外層を除く立方上皮線維細胞は、細胞質の大半を細長い直径約 8 nm の張細糸 (tonofilament) であるマイクロフィラメントが占め、他にグリコーゲン顆粒やミトコンドリアなどの細胞内小器官が存在し、細胞膜間には指状嵌合がよく発達しており、デスモゾームで接着している (Fig. 4)。エオジンに濃染する分泌顆粒を含有した細胞は、細胞質の電子密度が全体的に低く、細胞質にはゴルジ装置複合体と電子密度中程度の楕円形の顆粒が存在し、この細胞は、線維細胞とデスモゾームで接着しており、他の細胞に比べて数が少ない (Fig. 3)。塩類細胞は、線維細胞に次いで数が多く認められた細胞で、線維細胞とは指状嵌合が未発達である (Figs. 1, 2)。成熟した塩類細胞の核は不定形で小さく、細胞質には棚状クリステの発達したミトコンドリアと無顆粒の小胞が多数存在し、この小胞の周囲には遊離のリボゾームが多数集合し、ところどころにライソゾームに類似した電子密度中程度の物質を含有した小胞と微小管が認められた (Fig. 5)。表皮内血管とその内皮細胞は、表皮の中では最も大きな組織で、線維細胞と指状嵌合を形成し、デスモゾームで接着している。血管内皮は、電子密度の高い収縮性の中間系フィラメントで構成されており、血管内腔には血球が観察されることからここには血流があり、表皮の厚さの半分程度を占める内腔 (短径 約 $13\mu\text{m}$) の大きな血管も認められた (Figs. 6, 7)。

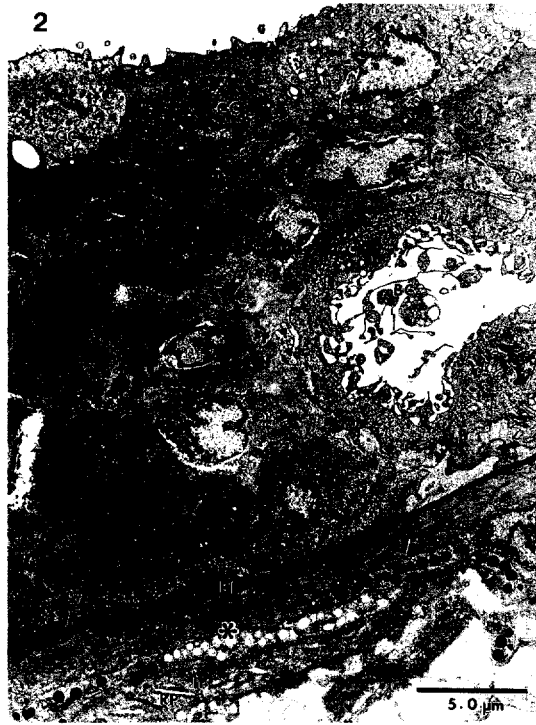


Fig. 2. Cross section of the pseudoalbino (abnormal) pigmented skin throughout a posterior part of the trunk (68.3 mm in TL). Melanin-bearing melanoblasts (arrow head) and amelanotic melanoblasts (asterisk) found in the dermal layer. BC: blood capillary, BL: basement lamella, CC: chloride cell, Ir: irridopores, RP: reflecting platelet.

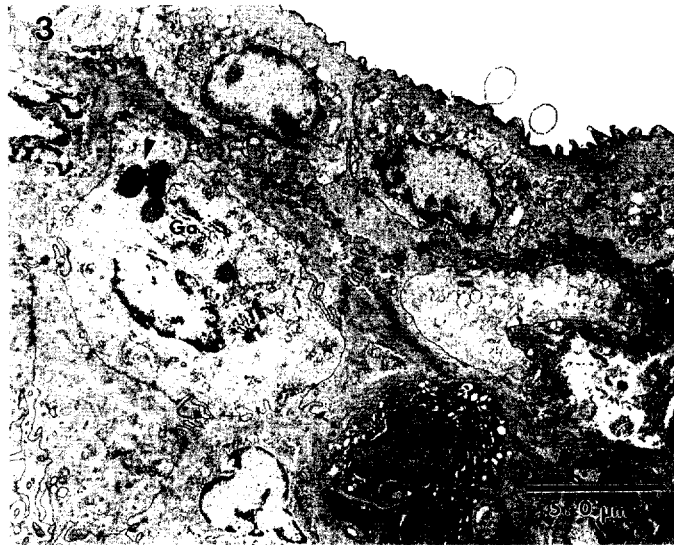


Fig.3. Eosinophilic secretory granules (arrow head) containing cell found in the epidermis. Ga: Golgi apparatus.

皮膚の正常部位（白色部分）の表皮には色素細胞は認められないが（Fig. 1），異常部位（黒色部分）の表皮では，表皮基底の線維性胚芽細胞（epithelial malpighian filamentous cell）に



Fig. 4. Epithelial malpighian filamentous cell contained a few of melanosomes in the cytoplasm. BL, basement lamella, D, desmosome, Mf: microfilament.

黒色素顆粒の出現がみられた。この色素顆粒は限界膜に包まれ、真皮性黒色素顆粒と同じ高電子密度のメラニン様物質を含有していた (Fig. 4)。

2. 真皮

真皮層は、筋原線維が規則正しく密に配列した緻密層 (reticulum) と膠原線維が無秩序に粗に配列した海綿体層 (spongiosum) に識別され、骨格筋 (skeletal muscle) と真皮 (dermis) との間に存在する皮下組織 (hypodermis) が薄いことが特徴的である (Fig. 8)。真皮色素単位は海綿体層に認められ (Figs. 1, 2), 色素細胞には細胞接着装置の分化が認められず、この細胞の周囲には血管と神経が分布していた (Fig. 8)。

正常部位の皮膚の鱗は円鱗で、真皮色素単位としては反射小板 (reflecting platelet) を備えた反射性細胞 (irridophore) が存在する。反射小板は薄板あるいは扁平な顆粒状の結晶体で、小胞体内腔には結晶物の形成が認められた。小板間には微細な線維構造が観察されるが、その構造は緻密ではない (Fig. 8)。しかし、反射性細胞に混存して黒色素芽細胞 (melanoblast) の周囲に多数集合した粗大顆粒細胞 (melanophage) が認められた (Fig. 1)。この細胞は、細胞質突起を出して真皮層を遊走する細胞で、不定形の大きな核をもっている。細胞質には、粗面小胞体がよく発達しており、ライソゾーム様の顆粒が認められた (Fig. 9)。これに対して、色素異常部位の皮膚には、鱗の後縁部に不規則な配列の小棘を備えた偽楕鱗が存在し、粗大顆粒細胞は認められず、真皮色素単位として反射性細胞と混在して黒色素胞 (melanocyte) が観

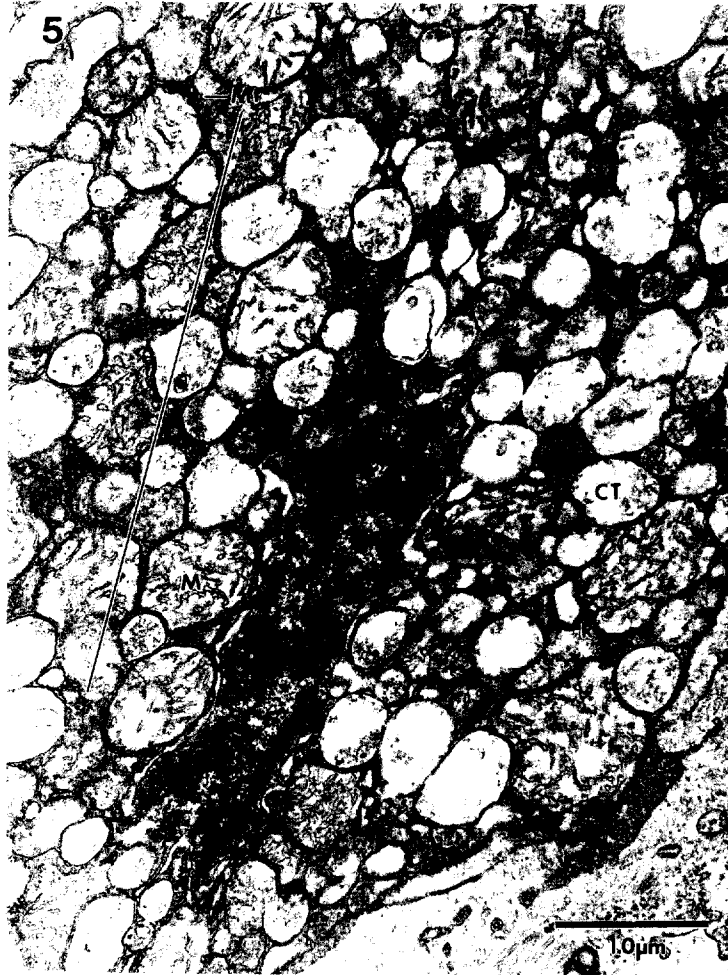
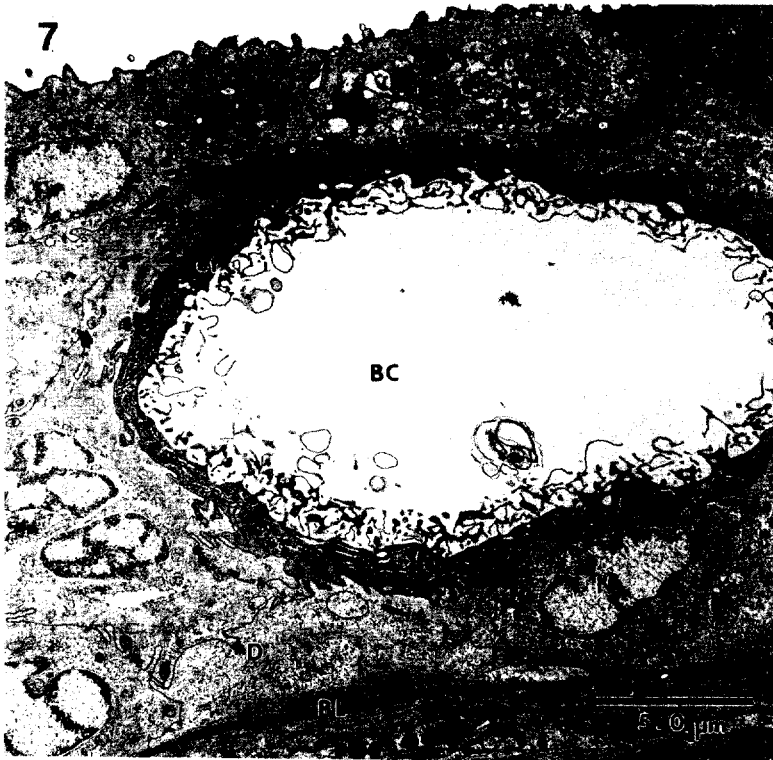
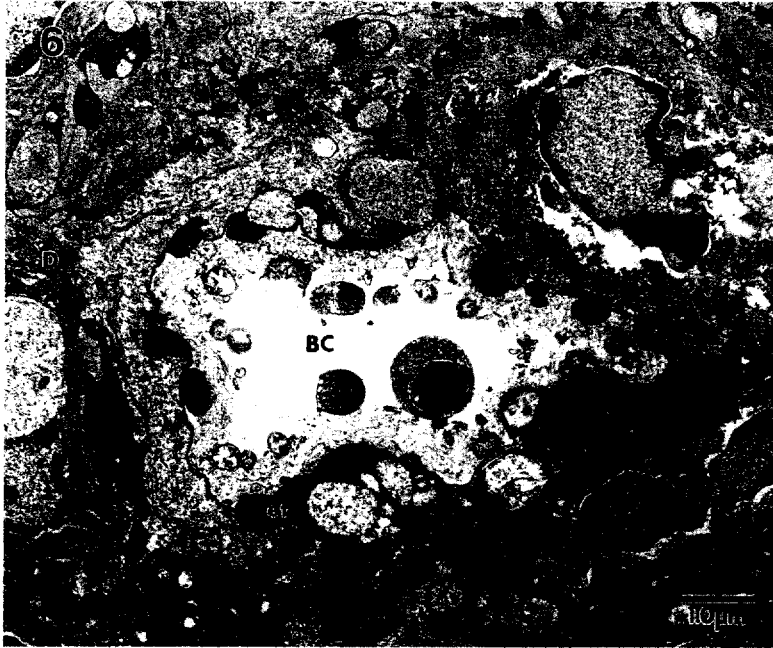


Fig. 5. Enlarged view of matured chloride cell found in the epidermis. The cytoplasm is mostly occupied by a large number of mitochondria (M) and a net work of agranular cytoplasmic tubules (CT). Free reboosomes (R) and microtubules (Mt) are distributed among the tubles.

察された (Fig. 2)。成熟色素顆粒を形成している黒色素胞の細胞膜には、多数の取り込み小胞の構造がみられ、細胞質にはミトコンドリア、ゴルジ装置、遊離のリボゾーム、微小管などの細胞内小器官と神経突起の末端が認められた (Fig. 10, 11)。また黒色素顆粒 (melanosome) の成熟過程において、空胞内にメラニンの形成が進行しているプレメラノソーム (premelanosome) や空胞内に渦巻き状の繊維構造のみがみられるプレメラノソームが認められ (Figs. 12, 13)、メラニンが後形質化した黒色素顆粒は、メラニン物質と限界膜との間に間隙が形成され、顆粒の芯が明瞭であった (Fig. 11)。しかし、黒色素胞はすべてが成熟色素顆粒を形成するわけではなく、メラニン形成過程において機能低下して成熟色素顆粒を形成することなく自己崩壊してしまうもの (Fig. 14) も認められた。



Figs. 6. 7. Enlarged views of the blood capillaries in the epidermis. Nucleated blood corpuscle is clearly observed in the small blood capillary (BC), but endothelium (et) is poorly developed. Endothelium of the large blood capillary is well developed. BL: basement lamella, D: desmosome, N: nucleus of endothelium.



Fig. 8. Spongiform strata (Sp) and reticular compact strata (Re) found in the dermis. Hypodermis (Hd) between the dermis and the skeletal muscles (SM) is poorly developed. A layer of cross-striated collagen muscle (CSM) demarcated the strata of skeletal muscle and hypodermis is shown. Blood capillary (BC) and myelinated nerve fibers (MN) are occasionally observed around irridophores (Ir) showing groups of lamellar structure. RP: reflecting platelet.



Fig. 9. Enlarged view of intradermal melanophage found in the normal unpigmented skin. Many melanophages with well-developed rough surfaced endoplasmic reticula (rER) and elongated pseudopodia aggregated around a melanoblast (asterisk). BL: basement lamella, Ly: lysosome-like body. N: nucleus.

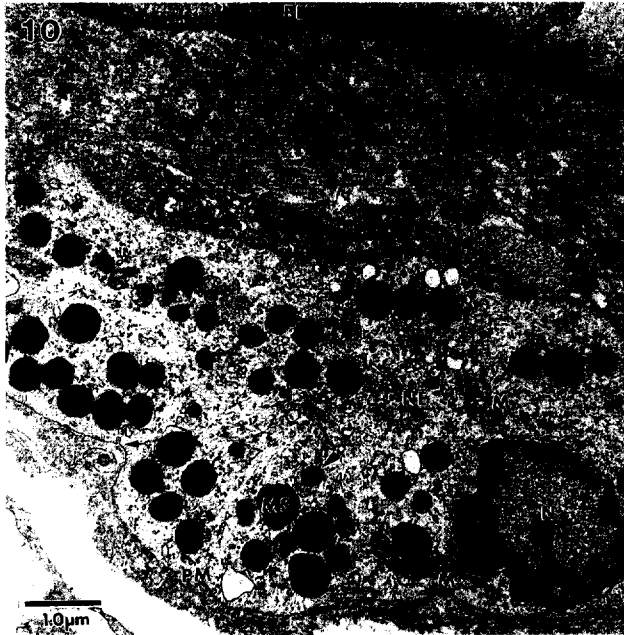


Fig. 10. Dermal melanin-bearing melanocyte found in the pseudoalbinic pigmented skin. Endocytosis or exocytosis (arrow) are observed in the plasma membrane (PM). The melanocyte contains the large number of melanosomes (MS) and premelanosomes (arrow head) in the cytoplasm. BL: basement lamella, M: mitochondria, N: nucleus, NE: nerve ending.

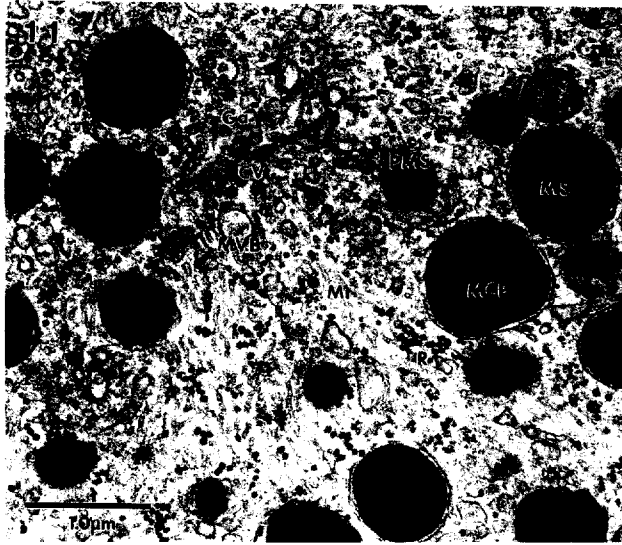
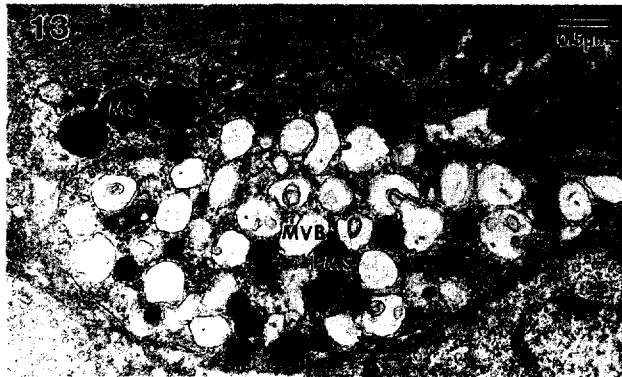
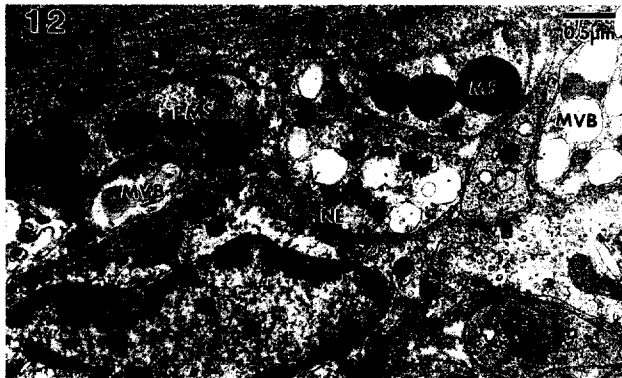


Fig. 11. Enlargement of the melanocyte in Fig. 10. Golgi apparatus (Ga) with coated vacuoles (CV) and multivesicular bodies (MVB) develops. A single membrane structure not clear in premelanosomes (PMS) but clear in melanosome (MS) with melanin core particles (MCP). Mt: microtubule, R: free reboseme.



Figs. 12, 13. Premelanocytes bearing-amelanotic melanosomes found in the pseudoalbinic pigmented skin. Amelanotic melanocytes contain only the large number of premelanosomes (PMS) and multivesicular bodies (MVB). MS: melanosome, NE: nerve ending.



Fig. 14. Melanosome complex (asterisk) found in the pseudoalbinic pigmented skin.

考 察

プレースの変態前の仔魚では、有眼側表皮に塩類細胞の存在が観察され、この塩類細胞の特徴はヒラメの場合でみられたようにミトコンドリアと無顆粒の細胞小胞がよく発達した構造である。そして、この塩類細胞は変態始動期より減少を開始して変態を完了している孵化60日目の稚魚では認められなくなるという (ROBERTS *et al.* 1973)。一方、変態完了後の異体類の皮膚の分化については詳細な報告がなく、特に無眼側皮膚での塩類細胞と表皮内血管の存在の確認は今回がはじめてである。

魚類の表皮内毛細血管網の存在は変則的なものとされ、水からはい上がる習性を持ち、皮膚呼吸をするトビハゼ類の表皮で特に発達しており、これは陸上生活に伴って特別に分化したものと考えられてきた (SCHÖTTLE 1932, HARMS 1935, 前川ほか 1968)。しかし、魚類は多かれ少なかれ皮膚呼吸の全呼吸量に占める割合が5ないし30%とされ (FEDER and BURGGREN 1986)、主に鰓呼吸依存型とされる魚類のなかにも表皮内毛細血管網をもつ種類が存在することが明らかになり (鈴木・平木 1991)、これらの魚種ではこれが皮膚呼吸機能を増大させるためのものと解釈されている (SUZUKI 1992)。酸素や二酸化炭素が皮膚を通して移動するためには、これらの分子分圧が皮膚の外側と内側とで異なることが前提条件となる。魚類の心臓は、区画が不完全で動脈血が静脈血に混ざる。特に鰓が分化していない発生初期の仔魚の場合、左後主静脈に分化するキュービエ管に血液が流れ込み、酸素分圧の低い静脈血が皮膚を通過する時に外界から酸素を取り入れると同時に皮膚は二酸化炭素を排出する。このように、皮膚表面に毛細血管網が分布することはガス交換を効率よく行うために極めて都合がよい (鈴木・平木 1991)。ヒラメの変態仔魚は、河口前面の比較的浅い砂浜域に着底することが知られている。この海域は河川水が流入する比較的環境変化の激しい場所である (TANAKA *et al.* 1989, GOTO 1989, FUJII *et al.* 1989, SUBIYANTO *et al.* 1993, etc)。この場所で底生生活を過す本種において、浸透圧調節や呼吸のための鰓のイオンおよびガス交換の機能を補足する上で表皮内に塩類細胞と毛細血管網が存在することは極めて合目的な構造と考えられる。

ヒラメおよびプレースの有眼側皮膚では変態始動期から粘液細胞が増加することが知られている (ROBERTS *et al.* 1973, SEIKAI, 1992)。一方、ヒラメの無眼側表皮では粘液細胞は極めて

少なく、電子密度中程度の楕円形の顆粒を含有した細胞が少数観察された。この細胞は、顆粒がエオジンに濃染する(鈴木, 未発表)ことから、ROBERTS *et al.* (1971) がブレース成魚で報告している哺乳類の白血球細胞と相同の機能をもつ eosinophilic granule cell と形態的に同じものと推定された。Eosinophilic granule cell は、表皮内に浸潤したメラニンの移送・排出にとって重要な役割を果すことが報告されている (ROBERTS *et al.* 1971, 1973)。今回ヒラメでこの細胞が表皮内に浸潤したメラニンを排出している像は観察されなかったが、皮膚の色素異常部位の表皮にこの細胞の存在が確認されたことは、ヒラメにおけるメラニンの移送・排出経路を考える上で興味あることである。

また、変態完了後の全長40mm以上のヒラメで無眼側への光照射が無眼側の体色異常に大きく影響すること(青海 1989)、そして有眼側の体色異常個体でも個体の成長に伴って皮膚の白色部位に色素が二次的に出現する場合があります、特にこの現象が屋外飼育魚で明瞭である(鈴木, 未発表) ことなどから、今回観察されたような表皮内への黒色素顆粒の出現は、強い反射光に対する生体防御反応(藤井 1976) の一つと考えられた。

ヒラメの変態始動期における有眼側と無眼側の皮膚の色素細胞分化に関する透過型電子顕微鏡観察によれば、変態の進行に伴って、体色の正常な仔魚では有眼側で真皮性色素芽細胞の分化が促進され、無眼側ではそれが萎縮崩壊するが、体色の異常な仔魚では両体側で色素芽細胞の萎縮崩壊が観察されている(SEIKAI 1992)。今回は、外観上有眼側の着色が正常で、かつ無眼側が部分的に黒化している変態を完了した稚魚において、無眼側の皮膚の白色部分(正常部位)と黒色部分(異常部位)の真皮性色素細胞の動態について検討した。

白色部分では反射小板を備えた反射性細胞に混在して黒色素芽細胞がみられ、その細胞の周囲には多数の粗大顆粒細胞が集合していることが明らかとなった。この細胞は、形態的にみてマクロファージの一種である黒色素顆粒を貪食するメラノファージ(melanophage)であると考えられた。これに対して、黒色部分ではメラノファージの存在が認められず、反射性細胞に加えて黒色素胞が多数観察された。この黒色素胞は、細胞質の空胞内にメラニンを沈着させて成熟黒色素顆粒に成長するものから、空胞内に渦巻状の繊維構造のみが存在する状態のものおよびメラニン形成過程でメラノソーム複合体(melanosome complex)を形成して自己貪食による崩壊が進行している、いわゆる非メラニン性黒色素胞(amelanotic melanophore)の形態までさまざまであった。この非メラニン性黒色素胞は、活性チロシナーゼの欠損あるいは基質のチロシン補給不全などメラニン形成過程のどこかの段階で機能が低下して色素顆粒の黒化が部分的あるいは完全に阻害されたものと考えられている(藤井 1976)。黒色素芽細胞におけるメラニンの産生と分化には誘導因子(melanophore stimulating hormone)と阻止因子(melanization inhibiting factor)が知られており、ヒラメの場合も皮膚組織にある黒色素分化誘導因子と阻止因子の調節の異常性が体色異常の原因となっていることが示唆されている*1。従って、無眼側皮膚の黒色部位では黒色素分化誘導因子と阻止因子の調節の異常性によってメ

*1 豊原治彦・徳田有希・浅野史郎・木下政人・坂口守彦(1993): 魚類の色素細胞分化調節因子(II) 両面有色ヒラメ皮膚組織における黒色素分化調節機構の異常性。平成5年度日本水産学会春季大会講演要旨, p.146.

ラノソーム複合体による自己崩壊や色素顆粒に対するメラノファージなどのリンパ系由来の細胞の貪食機能の低下が生じて色素顆粒の黒化が部分的に起こったものと推察された。

ヒラメの無眼側の体色異常には、変態完了時にすでに着色が起こっているものと変態完了後に着色が生じるものの2型がある(高橋 1992)。前者の場合には、全長20mm前後の着底前の種苗で有眼側の皮膚の着色の有無と無眼側の皮膚の着色に関連性が認められず(高橋 1992)、後者では脂溶性ビタミンの多量添加が有眼側のみならず無眼側の体色異常も引き起こしている可能性が示唆されている(三木ほか 1989, 高橋 1992)。一方、有眼側の色素が欠如する機構として、網膜形成にリン脂質とビタミンAが不足することで、目の網膜中の暗視能を司る桿体の光感受性物質ロドプシンの形成が阻止されて網膜機能の開始が遅れるために光情報が中枢へ伝達されず、結果として内分泌器官からホルモン分泌がないために黒色素形成が阻止されることが知られている(KANAZAWA 1993)。

異体類の変態完了後の両体側の皮膚の形態形成は次の過程を経るものと推察される。すなわち、変態を通じて眼の移動が起こり、体側は有眼側で鱗の色素沈着に伴って円鱗から楕鱗に変化し(KIKUCHI and MAKINO 1990)、粘液細胞の数(ROBERTS *et al.* 1973, SEIKAI 1992)と表皮細胞の数の増加に伴って塩類細胞は萎縮するなど変態完了後に皮膚は成魚型へと移行する

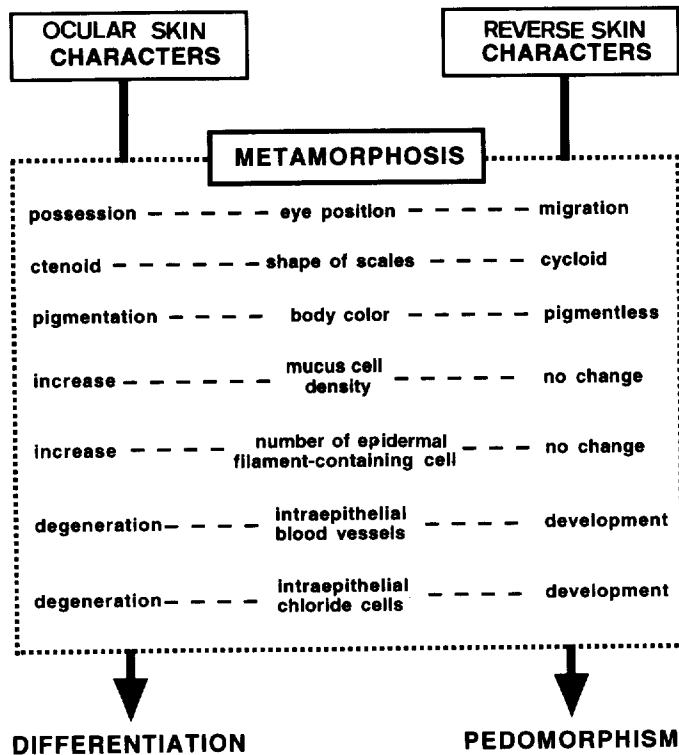


Fig.15. Schema showing asymmetrical changes in some components on the both sides of the flatfish skin in process of metamorphosis. The pattern of asymmetrical formation supported by the adaptive characteristics in relation to a bottom life style is describable as differentiation on obverse side and as pedomorphism on reverse side.

(ROBERTS *et al.* 1973)。これに対して、無眼側では黑色素の沈着が起こらず、鱗も円鱗のままで粘液細胞数の増加も認められない (KIKUCHI and MAKINO 1990, SEIKAI 1992)。加えて、表皮内に塩類細胞と毛細血管が残存して機能的であるなど変態を完了しても浮遊生活期の皮膚と同じ原型的形態形質を保有している (Fig. 15)。従って、異体類は変態期に底生生活に移行するための生態適応として、このように両体側の皮膚で形態形成が異なっていると考えられる。そして、ヒラメの無眼側の体色異常は、偽筒鱗の形成 (KIKUCHI and MAKINO, 1990, SEIKAI, 1992) や粘液細胞の増加*²などを伴うことから変態期の皮膚における形態形成不全の一つと考えられる。

以上のようなことから、養殖ヒラメの異常体色発現機構を解明するために、栄養生理学的側面のほか今回の観察から明らかになったように表皮内への黑色素顆粒の出現に及ぼす強い反射光などの影響や変態期の皮膚の形態形成不全を伴う体色異常に関わる真皮性黑色素顆粒に対する自己貧食能やメラノファージの貧食機構に及ぼす生理的障害を追求することが必要と考えられる。

要 約

変態完了後 (ステージ I) の養殖ヒラメの無眼側部分黒化個体について、皮膚の着色が正常な部位と異常な部位とを透過型電子顕微鏡を用いて組織学的に比較し、無眼側の皮膚の構造と色素沈着について記述した。体色正常部位 (白色部分) の表皮には稀に線維細胞内に黑色素顆粒の侵入がみられ、これは強い光反射による生体防御の一つと考えられた。また、真皮に反射性細胞に混在して黑色素芽細胞が認められたが、この細胞の周囲には大食細胞 (メラノファージ) が多数集合して黑色素顆粒を貧食すると考えられた。これに対して、体色異常部位 (黒色部分) では真皮性色素単位として反射性細胞に混存して黑色素胞が認められた。この色素胞の空胞内には、メラニン蛋白質が分泌されて成熟黑色素顆粒に成っているものおよびこの分泌が起らずメラニン形成過程で機能低下して自己崩壊してしまうものなどいろいろの様相を呈した。このことから、無眼側の体色正常部位では黑色素顆粒が大食細胞によって貧食されるのに対して、異常部位ではこの色素顆粒の自己崩壊やメラノファージによる色素顆粒の貧食機能の不全によって黑色素胞でのメラニン産生と分化の調整に異常が生じているものと解釈された。ヒラメの異常体色発現機構を解明するためには、今回の観察から明らかになった表皮内への黑色素顆粒の出現に及ぼす強い反射光等の影響や変態期の皮膚の形態形成不全を伴う黑色素顆粒の自己崩壊およびメラノファージによる代謝機構に及ぼす生理的障害を追究することが必要と考えられる。

*²古田晋平 (1993) : 放流技術と種苗性-ヒラメを中心として-シンポジウム、栽培漁業の課題と展望、種苗放流事業の発展を妨げる原因と解決方法、講演要旨.p.5. 東京大学海洋研究所。

文 献

- FEDER, M.E. and W.W. BURGGREN, 1986: 脊椎動物の皮膚呼吸. サイエンス (日本版), **16**(1), 94-103.
- 藤井良三, 1976: 色素細胞. UPバイオロジーシリーズ 10, 東京大学出版会, 東京, 135pp.
- FUJII, T., H. SUDO, M. AZETA and M. TANAKA, 1989: Settling process of larvae and juveniles of Japanese flounder, in Shijiki Bay, Hirado Island. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**(1), 17-23.
- GOTO, T., H. SUDO, M. TOMIYAMA and M. TANAKA, 1989: Settling period of larvae and juveniles of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in Shijiki Bay, Hirado Island. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**(1), 9-16.
- HARMS, J.W., 1935: Die Reablisatation von Genen und die Consecutio Adaptation. 4. Experimentell hervorgerufener Medienwechsel: Wasser zu Feuchtluft bis zu Trockenluft bei Gobuformen (*Gobius*, *Baleocephalum* und *Periophthalmus*). *Z. Wiss. Zool.*, **140**, 1-114.
- KANAZAWA, K., 1993: Nutritional mechanisms involved in the occurrence of abnormal pigmentation in hatchery-reared flatfish. *J. World Aquaculture Soc.*, **24**(2), 162-166.
- KIKUCHI, S. and N. MAKINO, 1990: Characteristics of the progression of squamation and the formation of ctenii in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Exp. Zool.*, **254**, 177-185.
- 前川久太郎・福田芳生・岡田仁一・今村 薫, 1968: 魚類の空気呼吸器に見られる上皮内血管について. 東医大誌, **26**(5), 793-799.
- 三木教立・谷口朝宏・浜川秀夫・山田幸夫・桜井則広, 1990: ビタミンA投与ワムシ給餌によるヒラメ白化防除. 水産増殖, **38**(2), 147-155.
- 南卓志, 1982: ヒラメの初期生活史. 日水誌, **48**(11), 1581-1588.
- ROBERTS, R.J., H. YOUNG and J.A. MILNE, 1971: Studies on the skin of plaice (*Pleuronectes platessa* L.) I. The structure and ultrastructure of normal plaice skin. *J. Fish Biol.*, **4**, 87-98.
- ROBERTS, R.J., M. BELL and H. YOUNG, 1973: Studies on the skin of plaice (*Pleuronectes platessa* L.) II. The development of larval plaice skin. *J. Fish Biol.*, **4**, 103-108.
- SCHÖTTLE, E., 1932: Morphologie und Physiologie der Atmung bei Wasser-, Schlamm und Landlebenden Gobuformen. *Z. Wiss. Zool.*, **146**, 417-462.
- SEIKAI, T., 1985a: Influence of feeding periods of Brazilian *Artemia* during larval development of hatchery-reared flounder *Paralichthys olivaceus* on the appearance of albinism. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**(4), 521-527.
- SEIKAI, T., 1985b: Reduction on occurrence frequency of albinism in juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* hatchery-reared on wild zooplankton. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**(8), 1261-1267.
- 青海忠久, 1989: 異体類人工種苗の体色異常の発現機構に関する研究. 平成元年度健苗育成技術開発委託事業報告. 日本栽培漁業協会, 1-12.
- SEIKAI, T., 1992: Process of pigment cell differentiation in skin on the left and right sides of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, during metamorphosis. *Japan J. Ichthyol.*, **39**(1), 85-92.
- SEIKAI, T., J. MATSUMOTO, M. SHIMOZAKI, A. OIKAWA and T. AKIYAMA, 1987: An association of melanophores appearing at metamorphosis as vehicles of asymmetric skin color formation with pigment anomalies in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Pigment Cell Res.*, **1**, 143-151.
- SUBIYANTO, I., HIRATA and T. SENTA, 1993: Larval settlement of the flounder on sand beaches of the Yatsushiro Sea, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**(7), 1121-1128.
- SUZUKI, N., 1992: Fine structure of the epidermis of the mudskipper, *Periophthalmus modestus* (Gobiidae). *Japan J. Ichthyol.*, **38**(4), 379-396.
- 鈴木伸洋, 1993: 海産魚類マハゼの腸管上皮細胞の微細構造. 南西水研研報, (26), 113-132.
- 鈴木伸洋・平木雅之, 1991: 魚類数種の表皮に見られた上皮内血管について. 神奈川自然保全研究会報,

(10),1-11.

高橋庸一,1992: ヒラメの種苗生産における体色異常個体の出現と防除—体色異常防除試験報告書—, 日本栽培漁業協会特別報告, (3),1-50.

TANAKA, M. T. GOTO, M. TOMIYAMA and H. SUDO, 1989: Immigration, settlement and mortality of flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae and juveniles in a nursery ground, Shijiki Bay, Japan. *Neth. J. Sea Res.*, **24**, 57-67.