

受賞者総説

異体類体色異常出現の防除に関する研究

(平成 14 年度日本水産学会賞技術賞受賞)

青 海 忠 久

福井県立大学海洋生物資源学科

Studies on the prevention of color anomalies in flatfishes

TADAHISA SEIKAI*

Department of Marine Bioscience, Fukui Prefectural University, Obama, Fukui 917-0003, Japan

はじめに

我が国の海産魚類の種苗生産は、マダイ *Pagrus major* がはじめて人工的に生産されて以来、既に 40 年を越える歴史を持つ。この中で、生産量の拡大と対象魚種の多様化が目指され、同時にさまざまな新しい問題を生みだしてきた。その一つは、生産された魚類が形態や行動などにさまざまな異常を示すことである。本来彼らが育っている環境とはおよそかけ離れた条件で育てられるために、異常を示さない方が不思議かもしれない。しかも、人工生産された多くの魚類種苗を自然界に放流する場合、放流種苗の異常は放流後の生き残りや再捕された魚の市場価格にも反映され、放流事業の経済性を左右する重要な問題である。したがって、これら異常の発生原因の究明、異常の特性把握、およびその防除方法の確立は常に問い続けられなければならない。

マダイの脊柱湾曲はその典型的な異常のひとつであったが、発生原因の解明や防除方法は既にほぼ確立している。¹⁾ ヒラメをはじめとする異体類の体色異常は、極めてわかりやすい異常であり、世界各地でさまざまな異体類が種苗生産対象種であるところからも解決すべき大きな問題である。我が国では、ヒラメの種苗生産現場ではほぼ問題にならない程度まで克服されてきたが、カレイ科魚類ではまだまだ高い異常率を示す場合もある。²⁾ 限られた紙面の中で、体色異常の様々な側面とその防除についての全体像に迫ってみたいと考える。

1. 異体類の体色異常とは

カレイ目魚類は、側扁した体の左右どちらかに 2 個の眼を持つ特異な形態をしているために異体類と呼ばれ

る。これには、コケビラメ科、ヒラメ科、ダルマガレイ科、カレイ科、ササウシノシタ科、ウシノシタ科が含まれる。これらカレイ目魚類の全体像をまとめた Norman の A systematic monograph of heterosomata には、カレイ目魚類の体色異常に、有眼側の一部に体色を欠く白化と、無眼側の一部または全部が暗色になっている両面有色が記載されている。³⁾ 白化は、程度の差こそあれ有眼側の部分的な異常形質で、眼の色素上皮細胞にはメラニンが形成されていること、変態完了時にはほぼ全面的に白化していてもその後の成長と共に正常な斑紋ではないが有眼側の着色が進むことから、遺伝的にメラニン生成能力を欠く真性アルビノではない。³⁾ したがって、pseudo-albino あるいは hypomelanosis と呼ぶべきであろう。両面有色は、さらに着色型、斑点型、真の両面有色型に類型化されている。³⁾

このような体色異常は、異体類特有の現象で、天然魚においてもそれほど珍しい現象ではないとされている。³⁾ しかし、現在まで天然ヒラメの着底個体の採集の際に、体色異常個体を発見したことはない。ヒラメの種苗量産が試み始められた 1970 年代には、生産した人工種苗の数 10% から時にはすべてが白化個体であることが頻発した。現在は、量産規模でのヒラメ白化個体出現率は 10% 以下となっている場合が多いが、他のカレイ科魚類では高率で出現することもまれではない。²⁾ また、養殖ヒラメはほぼ例外なく着色型の両面有色個体となる。カレイ科魚類では、白化や両面有色は多くの場合眼の位置や口の形態などが左右不相称性を失う異常とリンクした形で発生しているが、²⁾ ヒラメではこの種の異常は非常にまれにしか発現しない。

これらの体色異常個体は、放流後の生き残りが低いこ

* Tel : 81-770-52-6300. Fax : 81-770-52-6003. Email : seikai@fpu.ac.jp

とや養殖魚としての商品価値を損なうことから、有効な防除方法の確立が求められてきた。また、ターボット *Scophthalmus maximus*, 大西洋オヒョウ *Hippoglossus hippoglossus*, プレイス *Pleuronectes platessa*, サマーフラウンダー *Paralichthys dentatus* など諸外国で種苗生産対象とされている異体類でも同様の体色異常が発生している。一方、我が国で全国的に実施されているヒラメの種苗放流による栽培漁業では、放流魚の無眼側黒化を天然魚と区別する標識として利用し放流効果が算定されてきた。⁴⁾ ヒラメの栽培漁業は、無眼側黒化なくしてはあり得なかったという側面も存在する。

2. 魚類の色素細胞

魚類には種特有の、またそれぞれの種では発育段階に特有の体色を示す。さらにヒラメやカレイは、周辺の環境に合わせて体色を変化させることができる。この体色を規定しているのが魚類の皮膚の真皮層に存在する色素細胞で、その種類や量および拡散状態か収縮状態かによって、体色が決定される。⁵⁾ 色素細胞は、神経胚の時に形成される神経冠細胞に由来し、神経冠細胞が前方から後方へ背側から腹側へ移動し分化予定域で定着した色素芽細胞より分化する。⁶⁾ 神経冠細胞は、色素細胞のほか神経細胞や結合組織、軟骨組織などきわめて多様な細胞に分化し、その分化の方向は、周辺組織との情報のやりとりによって決定するのだと考えられている。⁷⁾

異体類の体色異常では色素細胞の種類や量などに異常が起きているが、それは変態完了後に発現してくる。⁸⁾ 当然それ以前の色素芽細胞の増殖分化過程において何かが起きているはずであるが、変態完了後に正常な体色を発現するか、白化などの異常になるかどうかが判っていなければ調べようがない。ヒラメでは、ほぼすべてが正常個体になる群とほぼすべてが重度の白化個体になる群を仔魚期に与える餌によって自由に作れるようになり、⁹⁾ 体色異常が発現する以前の発育に伴う色素芽細胞やその他の組織の変化が観察できるようになった。

3. 体色異常と色素細胞

ヒラメのふ化に先立って、胚体の両側に大型の黒色素胞が発現した。この黒色素胞は、仔魚期後半の変態末期まで、総数は増加しながらも左右相称の密度で存在した。ところが、変態完了期になると、有眼側にそれより小型の黒色素胞が高密度で発現した。⁸⁾ この有眼側の黒色素胞の濃密な発現に先立って虹色素胞が叢状に出現した。

これらの色素細胞は、体色異常個体ではどのようなになっているだろうか？ まず白化個体となる浮遊期仔魚群でも、大型の黒色素胞は左右相称に存在したが、変態完了期になっても有眼側には小型の黒色素胞が発現してこ

なかった。したがって、白化とは変態完了期における有眼側での小型の黒色素胞の発現が部分的に阻害されることである。⁸⁾ また、白化部位には黄色素胞も発現していなかった。

一方無眼側の体色異常（黒化）はどうであろうか？ 先にも述べたように真の両面有色型は通常のヒラメの種苗生産においては極めてまれである。また、白化のように自由に作り出せるわけでもない。たまたま出現した完全両面有色個体では、右側皮膚に左側皮膚に現れる斑紋もまた発現しており、小型の黒色素胞の他黄色素胞や虹色素胞も発現していた。これに対して、着色型の両面有色は、ほとんどすべての飼育ヒラメに発現してくる。変態完了時には仔魚期からの大型の黒色素胞が散在している状態であったものが、成長と共に虹色素胞しか発現していない無眼側の縁辺部から小型の黒色素胞、黄色素胞が発現して中心部へと着色が進んだ。¹⁰⁾

4. 体色異常発現の要因

このように白化は変態が完了したときに発現する異常であり、両面有色は変態が完了したときに発現するものと、その後の成長にしたがって発現してくるものの2型がある。したがって、発現時期と様式によって、その要因を別々に考える必要がある。

変態の末期に発現する異常は、それまでの成長や発育に関わる要因のすべてに関連を求めることができる。しかし、白化は種苗生産過程で多発し、天然魚には極めてまれであることから、種苗生産期における仔魚期の餌料との関連が疑われた。天然ヒラメが摂餌している餌料生物であるコペポダを採集して与えると白化個体の出現率はほぼ0%であり、ブラジル産アルテミア *Artemia salina* を給餌するとはほぼ100%の出現率となった。⁹⁾ また、これら2種の餌料を発育に伴って切り替えて給餌することにより、餌料の質の影響を強く受けて白化率が大きく変動する時期は、ふ化後14-20日の変態始動期にあたるDステージ¹¹⁾であることが推定された。¹²⁾ 3種の産地の異なるアルテミアを給餌すると、白化の出現率が産地により異なったが、白化を引き起こす原因成分は特定できなかった。¹³⁾ 近年の研究で餌料中のアラキドン酸(AA)の不足が白化発現と関連していることが確かめられているが、¹⁴⁾ ブラジル産アルテミアには他の産地よりむしろ多くのAAが含まれており、さらに不明の白化関連物質が存在するのかもしれない。その他、配合飼料を使った実験や生物餌料を強化した実験を通じて、DHA¹⁵⁾やビタミンA¹⁶⁾が白化の発現と強く関与していることが示された。また、ヒラメをはじめとする魚類の変態は甲状腺ホルモンによって支配されていることが明らかにされたが、¹⁷⁾ これに関連して甲状腺ホルモンを変態始動期より早くから投与すると、高率で白化個体が出

現することが明らかとなった。¹⁸⁾ マガレイ *Pleuronectes herzensteini* では、適水温と考えられていた水温よりかなり高い水温を設定することとアルテミアを早期から給餌することで、白化個体の出現率を低減できることが明らかになった。²⁾ 真の両面有色型黒化については、白化ほど研究が進められていないが、ビタミン D を多く含む仔魚用配合飼料の早期給餌や変態開始前にレチノイン酸に浸漬すること高率で真の両面有色型黒化を引き起こすことが明らかにされている。²⁰⁾

変態完了後に発現する着色型両面有色については、養殖や放流種苗の中間育成の段階でヒラメが潜ることのできない底質に問題があることが明らかになった。²¹⁾ その他に無眼側の着色の容易さには、天然魚か人工魚かの違い、人工魚では有眼側が正常魚か白化魚かの違いなども影響していることが明らかになった。¹⁰⁾

5. 種苗生産現場において採用されている防除方法

実際の種苗生産現場では、必要量の種苗を生産し、しかも質を満足することが求められる。したがって、実験的に明らかになった知見を元に様々な工夫が加えられた方法が採用されている。以下にいくつかをあげてみると、

1. ワムシやアルテミアなどの生物餌料を DHA オイルによって強化して給餌する。²²⁾
2. 生物餌料を同時に脂溶性ビタミンによって強化する。ただし強化レベルには十分に注意する。^{15,23)}
3. 仔魚用配合飼料を全長 13 mm 以上で与え始める。²²⁾
4. マガレイではアルテミアの早期給餌や飼育水温を上げて種苗生産する。²⁾

などである。1, 2, 4 が白化防除、3 が黒化防除である。

6. 体色異常の仕組み

異体類は、浮遊期の左右相称から、変態を完了して左右不相称の体形になる。この時に発現してくる小型の色素細胞の分布様式に異常が起きる体色異常は、その他に左右不相称を示す形態形質の異常を付随していることが多い。たとえば、多くの異体類では、有眼側は櫛鱗で、無眼側は円鱗を被るが、ヒラメの白化個体では有眼側にも円鱗が形成され、変態後の着色に伴って櫛鱗に変化した。²⁴⁾ また、頭部形質の著しい左右不相称性を示すササウシノシタ *Heteromycteris japonica* で得られた白化個体では、有眼側に無眼側の様な菊花状の鼻孔、口のまわりの触鬚、口の形態、円鱗などが形成された（青海、未発表）。したがって、体色異常はたまたまよく見える形で現れた異常であって、皮膚を中心とした左右で異なる異体類の形態形成における異常の一つと考えるべきであろう。

DHA やビタミン A は視覚に深く関与する物質である

ところから、仔魚期におけるこれらの欠乏による視覚異常を招き、そのことが変態期に脳下垂体での MSH の分泌不良を引き起こして成魚型黒色素胞の発現が阻害され白化となったとする説が提唱され、視覚異常を示す行動学的な実験結果も示された。¹⁵⁾ 加えて脳や目の DHA や AA の量が白化と正常体色個体で異なること、白化個体では目の網膜の構造に異常が起きていることも報告されている。²⁵⁾ しかし、実験的に白化個体を高率で出現させて、対照群と比較した結果、脳下垂体の MSH 分泌細胞の体積や染色強度には、両群間で差がないことも報告されている。²⁶⁾

これに対して、色素細胞が発現すべき有眼側の組織環境が整わない（無眼側化した）ために白化となった。逆の場合は、完全両面有色となるという考え方²⁷⁾は、これら形態異常が付随して起きて当然ということになる。しかし、このような変態過程における皮膚の有眼側化や無眼側化がどのように制御されているのかについては、依然不明のままである。

変態開始までの甲状腺ホルモンへの浸漬が白化出現を促進することや、ビタミン A 関連物質が白化や黒化の発現に関与すると同時に、ヒラメの体節分化を調節する Hox 遺伝子の発現に影響を及ぼして形態異常を起こすことから、²⁸⁾ やはり白化や真の両面有色型黒化は異体類の仔魚期後半の変態過程における左右不相称化での形態形成との関わりのうえで考えるべきであろう。マガレイで効果のある飼育水温の上昇やアルテミアの早期給餌は、成長を促進させる。餌も豊富で水温もやや高い種苗生産環境でも、天然魚と比較すると成長速度が劣ることが耳石日周輪の輪紋解析の結果から明らかになりつつある。適切な成長速度で成長することが、変態過程を正しい機序で制御することにつながるのかもしれない。

異体類の体色異常の全容を明らかにするには、中枢と末梢での左右不相称な形態形成の制御の両者を統一するような仮説の構築と検証が必要だと考える。

謝 辞

本研究は、著者が長崎県水産試験場に勤務して以来現在まで、さまざまな人と出会い、研究上の示唆や協力を得ながら進めることができた。あまりにも紙面が限られているので、個別のお名前を挙げることは差し控えるが、すべての関係者に対してここに深く感謝の気持ちを表したい。

文 献

- 1) 北島 力. マダいの採卵と稚魚の量産に関する研究. 長崎県水産試験場論文集 第 5 集. 1978; 92pp.
- 2) 有瀧真人, 青海忠久, 小林真人. マガレイ仔魚の高水温飼育とアルテミア幼生早期給餌による形態異常の出現防除. 日水誌 1996; 62, 857-864.

- 3) Norman JR. A Systematic Monograph of the Flatfishes (Heterosomata) Vol. 1, Psettoidea, Bothidae, Pleuronectidae. Johnson Reprint Corporation, New York. 1934; 459pp.
- 4) 古澤 徹. 栽培漁業の今後の展望. 「ヒラメの生物学と資源培養」(南卓志, 田中 克編) 恒星社厚生閣, 東京. 1997; 117-126.
- 5) 大島範子, 杉本雅純. 魚類における色素細胞反応と体色変化. 「色素細胞 Pigment-Cell 機能と発生分化の分子機構から色素性疾患への対応を調べる」(松本二郎, 溝口昌子編) 慶應義塾大学出版会, 東京. 2001; 161-176.
- 6) Weston JA. The migration and differentiation of neural crest cells. Adv. Morphogenesis 1970; 8: 41-114.
- 7) 福澤利彦. 両生類の体表における色素パターン形成一多様な体色形成のしくみと多分化能をもつ腫瘍型. 「色素細胞 Pigment-Cell 機能と発生分化の分子機構から色素性疾患への対応を調べる」(松本二郎, 溝口昌子編) 慶應義塾大学出版会, 東京. 2001; 151-160.
- 8) Seikai T, Matsumoto J, Shimozaki M, Oikawa A, Akiyama T. An association of melanophores appearing at metamorphosis as vehicles of asymmetric skin color formation with pigment anomalies developed under hatchery conditions in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Pigment Cell Res.* 1987; 1: 143-151.
- 9) Seikai T. Reduction in occurrence frequency of albinism in juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* hatchery-reared on wild zooplankton. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1985; 51: 1261-1267.
- 10) 青海忠久. ヒラメ幼魚の無眼側の着色に及ぼす光照射, 有眼側の体色および供試魚の由来の影響. 水産増殖 1991; 39: 173-180.
- 11) 南 卓志. ヒラメの初期生活史. 日水誌 1982; 48: 1581-1588.
- 12) Seikai T, Shimozaki M, Watanabe T. Estimation of larval stage determining the appearance of albinism in hatchery-reared juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1987; 53: 1107-1114.
- 13) Seikai T, Watanabe T, Shimozaki M. Influence of three geographically different strains of *Artemia* nauplii on occurrence of albinism in hatchery-reared flounder *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1987; 53: 195-200.
- 14) Estevez A, Kaneko T, Seikai T, Tagawa M, Tanaka M. ACTH and MSH production in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae fed arachidonic acid-enriched live prey. *Aquaculture* 2001; 192: 309-319.
- 15) Kanazawa A. Nutritional mechanisms involved in the occurrence of abnormal pigmentation in hatchery-reared flatfish. *J. World Aquacult. Soc.* 1993; 24: 162-166.
- 16) 三木教立, 谷口朝宏, 浜川秀夫. ヒラメの白化出現に及ぼす脂溶性ビタミン類投与ワムシの効果. 水産増殖 1988; 36: 91-96.
- 17) Inui Y, Miwa S. Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1985; 60: 450-454.
- 18) Yoo J. H. Takeuchi T, Tagawa M, and Seikai T. Effect of thyroid hormones on the stage-specific pigmentation of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Zool. Sci.* 2000; 17: 1101-1106.
- 19) Seikai T. Influence of feeding periods of Brazilian *Artemia* during larval development of hatchery-reared flounder *Paralichthys olivaceus* on the appearance of albinism. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1985; 51: 521-527.
- 20) Miwa S. and Yamano K. Retinoic acid stimulates development of adult-type chromatophores in the flounder. *J. Exp. Zool.* 1999; 284: 317-324.
- 21) Iwata N, Kikuchi K. Effects of sandy substrate and light on hypermelanosis of the blind side in cultured Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Environ. Biol. Fish* 1998; 52: 291-297.
- 22) 竹内俊郎. ヒラメ体色異常のメカニズムと防除法. アクアネット 1999; 2(10): 48-52.
- 23) Dedi J, Takeuchi T, Seikai T, Watanabe T. Hypervitaminosis and safe levels of vitamin A for larval flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed *Artemia* nauplii. *Aquaculture* 1995; 133: 135-146.
- 24) 青海忠久. 人工採苗ヒラメの体色異常に関連した初生鱗の発生様式. 魚雑 1980; 27: 249-255.
- 25) Estevez A, Sameshima M, Ishikawa M, Kamazawa A. Effect of diets containing low levels of methionine and oxidized oil on body composition, retina structure and pigmentation success of Japanese flounder. *Aquaculture Nutrition* 1997; 3: 201-216.
- 26) Estevez A, Kaneko T, Seikai T, Doros RM, Tagawa M, Tanaka M. Ontogeny of ATCH and MSH cells in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) in relation to albinism. *Aquaculture* 2001; 202: 131-143.
- 27) Seikai T. Process of pigment cell differentiation in skin on the left and right sides the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, during metamorphosis. *Japan. J. Ichthyol.* 1992; 39: 85-92.
- 28) Suzuki T, Oohara I, Kurokawa T. Retinoic acid given at late embryonic stage suppresses sonic hedgehog and Hoxd-4 expression in the pharyngeal area and induces skeletal malformation in flounder (*Paralichthys olivaceus*) embryos. *Develop. Growth Differ.* 1999; 41: 143-152.