

飼育したカレイ科魚類の変態期に発現する形態異常と その防除に関する研究^{*1}

有瀧 真人^{*2}

Studies on the morphological abnormality of Pleuronectidae: focusing on the metamorphosis-related malformation in hatchery reared fish and its prevention

Masato ARITAKI

Abstract: In Japan, pleuronectid species are important resources for coastal fisheries, and 12 species have been assigned for stock enhancement. However, juvenile production program of all pleuronectid species has encountered with frequent occurrence of morphological abnormalities such as abnormal pigmentation (pseudoalbinism on the ocular side and ambicoloration on the blind side), abnormal eye migration (incompletion or absence of eye migration, or both-eye migration to the top of head), and deficit and repetition of some parts of cranial bones, in relation to metamorphosis. The causes and mechanisms of these morphological abnormalities are totally not clarified other than some aspects in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and restricted pleuronectid species.

Thus, objectives of this study are to obtain fundamental information concerning the occurrence of morphological abnormalities in hatchery reared pleuronectid species. In addition, by clarifying the causes and mechanisms, one possible way to prevent the abnormality is suggested.

In chapter I, in order to find a general trend of the morphological abnormalities, various asymmetrical characteristics of the juvenile body was examined in detail using eight pleuronectid species obtained from hatchery rearing.

In chapter II, the influence of feeding periods of Brazilian *Artemia salina* nauplii (BA) on the occurrence of pseudoalbinism was clarified in two pleuronectid species. The critical period for morphological abnormalities, and therefore for normal asymmetrical development, was determined from the occurrence of the pseudoalbinism.

In chapter III, three pleuronectid species, having differential growth and developmental speed, were reared at various temperatures. As the result, I found a clear relationship between the occurrence of morphological abnormalities and speed of larval growth and/or development specific for each species.

In chapter IV, two pleuronectid species were experimentally reared at various temperatures and the tissue concentrations of thyroxine (T4) and 3, 5, 3'-triiodothyronine (T3) during metamorphosis were investigated. The result of this chapter suggested the relationship between thyroid hormone levels of metamorphosing larvae and occurrence of morphological abnormalities.

2012年9月10日受理 (Received on September 10, 2012)

^{*1} 京都大学審査学位論文 (Ph.D. Thesis, Kyoto University) (掲載に際し投稿規定に沿って一部修正した)

^{*2} 西海区水産研究所 〒851-2213 長崎県長崎市多良町1551-8 (Seikai National Fisheries Research Institute, 1551-8, Taira, Nagasaki, Nagasaki 851-2213, Japan)

Following the above mentioned research, I have discussed the possible mechanism and prevention method of morphological abnormalities in Pleuronectidae, and also described the subject for further studies in chapter V.

I . Morphological abnormality in hatchery-reared Pleuronectidae

Morphological abnormalities are commonly observed in hatchery-reared juveniles of many pleuronectid species, at ratios much higher than those in wild fish. And therefore, the occurrence of abnormalities have become one of the most serious problems for juvenile production.

In this chapter, the morphological abnormalities were examined on hatchery-reared juveniles of eight pleuronectid species (verfin flounder *Verasper moseri*, spotted halibut *V. variegatus*, slime flounder *Microstomus achne*, stone flounder *Platichthys bicoloratus*, starry flounder *Pl. stellatus*, brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*, cresthead flounder *Ps. schrenki* and marbled sole *Ps. yokohamae*), focusing on asymmetrical characteristics (eye location, body color, upper jaw, pectoral fin, dentition, and scale) of each body side, comparing with the wild fish of each species.

As the result, it was possible to classify all the juveniles into four morphological types (normal, two types of pseudoalbinism, and ambicoloration) in all 8 pleuronectid species examined. Normal fish had the same characteristics as in wild fish for both body sides (left and right), after undergoing the asymmetrical metamorphosis. However, the morphological characteristics of both sides in pseudoalbino fish were similar to the blind side of the wild fish, and those in ambicolored fish was similar to the ocular side of the wild fish, suggesting the occurrence of symmetrical metamorphosis. Therefore morphological abnormalities of hatchery-reared juveniles in pleuronectid species were to be considered as “metamorphosis-related malformation”.

II . Critical timing for the metamorphosis-related malformation in Pleuronectidae

In order to prevent metamorphosis-related malformation of pleuronectid juveniles, it is important to determine the critical developmental stage and/or timing for the malformation. In the Japanese flounder, it is known that BA feeding at a specific timing induces pseudoalbinism in juveniles at a ratio of 100%, and a close relationship was indicated between pseudoalbinism occurrence and the larval stage.

In this chapter, the influence of timing of BA feeding was examined on the occurrence of pseudoalbinism in two pleuronectid species (spotted halibut and brown sole). BA was offered at six different feeding periods from early larval stage (first available to take artemia as diet) to juvenile stage.

As the result, occurrence of pseudoalbinism was about 90-100% in the two pleuronectid species, when BA was given before flexion stage (E stage)(spotted halibut; 10mm TL, brown sole; 8mm TL) suggesting that expression (or non-expression) of pseudoalbinism have been determined before postflexion stage (F stage). Therefore, for the prevention of pseudoalbinism, and possibly other metamorphosis-related malformation too, the stages before postflexion is critically important in pleuronectid species.

III . Relationship between the metamorphosis-related malformation and growth and/or development of pleuronectid larvae

The Japanese flounder is a representative flatfish for juvenile production in Japan, and a body of information has been accumulated about the causes, mechanisms and prevention method of malformation. However, there is not enough information available for other flatfishes including pleuronectids. The objective of this chapter is to examine the effects of

rearing temperatures on early larval development and occurrence of metamorphosis-related malformation in spotted halibut, slime flounder and brown sole.

Newly hatched larvae were reared beyond the completion of metamorphosis at various temperatures (6-24°C). All juveniles were classified into four morphological categories as normal, pseudoalbinism (two types, regarding to normal or abnormal eye location) and ambicoloration, based on the body color (pigmentation) and eye location. The growth and developmental speed of the three species were relatively greater in brown sole, middle in spotted halibut and less in slime flounder, and accelerated concomitant with higher temperatures in all three species. The relationship between rearing temperatures and occurrence of the four morphological categories showed species specific tendencies consistent among the repeated experiments. The settlement ages that results in the highest ratio of normal juvenile were relatively young in brown sole, middle in spotted halibut and old in slime flounder. It is noticeable that these settlement ages were similar to those of the wild fish of each species.

Results of the present study strongly suggest the importance to rear pleuronectid larvae at a similar developmental speed as in the wild fish, in order to let the larvae undergo normal metamorphosis, and produce maximum number of normal fish.

IV. Changes in tissue thyroid hormone levels in metamorphosing pleuronectid larvae reared at various temperatures

In Japanese flounder and summer flounder *Paralichthys dentatus*, involvement of thyroid hormones in metamorphosis has been clarified. Because pseudoalbinism and ambicoloration of pleuronectid species were considered as “metamorphosis-related malformation” in chapter I, it is speculated that thyroid hormones are also related to the occurrence of “metamorphosis-related malformation” in pleuronectid species. In this chapter, I investigated the relationship between changes in tissue thyroid hormone levels and occurrence of normal, pseudoalbinism and ambicoloration by rearing the larvae of spotted halibut and brown sole at 9, 12, 15, 18, and 21°C.

Tissue concentrations of T4 increased to maximum levels during metamorphic climax (stage G-H) at all the temperatures. No relationship was observed between tissue T3 levels and rearing temperatures. The peak T4 levels were significantly higher at lower temperatures, and appeared earlier when reared at higher temperatures. Since the occurrence of ambicolored fish and pseudoalbino fish was influenced by the rearing temperatures, it is possible that thyroid hormones are involved in the decision for normal formation or metamorphosis-related malformation of the juveniles in pleuronectid species, probably through the peak level or the timing of tissue T4 concentrations.

V. The possible mechanism and prevention of metamorphosis-related malformation in Pleuronectidae

In this study, I have clarified that the morphological abnormality of Pleuronectidae was metamorphosis-related malformation, and that occurrence of the malformation was strongly influenced by the rearing temperature with specific patterns in each pleuronectid species. Furthermore, I have described that the occurrence of metamorphosis-related malformation was increased when the pleuronectid larvae were let to grow and/or develop at different speeds from wild fish. In addition, the extent and the timing of peak T4 levels were varied among the fish reared at different temperatures.

These results strongly suggested the involvement of thyroid hormones, which controls metamorphosis of flounders, in the occurrence of metamorphosis-related malformation. Recently, I have obtained preliminary results in two pleuronectid species (spotted halibut and

starry flounder) suggesting that the occurrence of metamorphosis-related malformation is directly decided by the timing of T4 increase. Therefore, the occurrence of normal juvenile and juveniles with metamorphosis-related malformation is probably decided by the growth and/or developmental speed of the larvae through the timing of T4 surge in pleuronectid species.

As mentioned above, in order to prevent the occurrence of metamorphosis-related malformation, it is important to investigate the early life history of the target species in the sea, and to let the larvae grow and develop at a species specific speed similar to the wild fish.

It is necessary further to clarify the mechanism of metamorphosis-related malformation at a level of genetic embryology, in order to effectively develop the better method for reduced occurrence of the malformation.

キーワード：飼育, カレイ科魚類, 変態, 形態異常, 発育・発達

目次

緒言	
第1章	飼育したカレイ科魚類の変態に関わる形態異常
第2章	飼育したカレイ科魚類における変態異常発現の決定時期
第3章	飼育したカレイ科魚類の変態異常と仔魚の成長および発育
第4章	水温を変えて飼育したカレイ科魚類の甲状腺ホルモンの動態
第5章	総合考察：カレイ科魚類の変態異常の防除と発現の機序
要約	
謝辞	
引用文献	
緒言	

序章

カレイ目魚類 Pleuronectiformes はヒラメ科 Paralichthyidae, カレイ科 Pleuronectidae, ウシノシタ科 Cynoglossidae など水産上重要な種を数多く含むグループであり、古くから生態、形態、分類などの基礎研究が多面的に行われてきた。中でも仔魚から稚魚への移行期に体構造と機能が劇的に変化し、眼位や体色などに左右の不相称を生じる変態が研究者の興味を駆りたててきた。

このグループは“異体類”と総称されるように、身体の不相称は眼位 (Norman, 1934; Brewster, 1987) や体色 (Seikai *et al.*, 1987b; Seikai, 1992) だけでなく、体幅 (北島ら, 1987) 鱗 (落合, 1966; 沖山, 1974; 青

海, 1979b), 前鼻管 (落合, 1966; 青海, 1990), 側線, 肩帯 (落合, 1966) 鼻孔, 胸鰭 (Norman, 1934), 上顎 (Amaoka, 1964; 加藤ら, 1974; Sakamoto, 1984; Cooper and Chapleau, 1998), 顎歯 (Amaoka, 1964; 置栖・遊佐, 1979; Sakamoto, 1984; Bürgin, 1986; Cooper and Chapleau, 1998), 頭部骨格 (Norman, 1934; Bürgin, 1986; Brewster, 1987; Sakamoto, 1984; Cooper and Chapleau, 1998) など全身におよぶ。カレイ目魚類における全身の左右不相称は、他の魚類のみならずどの動物群にも見られない変態に起こる形態形成であり、20世紀初めころから詳細に報告されている (Kyle, 1921)。また、これらは着底以降の生活に適応するための機能分化 (Kyle, 1921; 南, 1981; 岩井, 1985; 田中, 1997) であるため、形態的变化ばかりでなく浮遊から底生への生態的な転換を常に伴う。

この様にカレイ目魚類の変態=左右の不相称化はこのグループに固有のものであるが、まれに不相称分化の不完全な個体が天然海域から採集されている (Norman, 1934; Dawson, 1962; Dawson, 1967; Veen, 1969)。これら“異常な個体”は Norman (1934) によって体系的にまとめられ、有眼側の体色が欠損した白化 (albinism) と無眼側の体色が発現した両面有色 (ambicoloration), 左右の逆転した逆位 (revresal) に区分されている。本邦においても古くは江戸時代にメイトガレイ *Pleuronichthys cornutus* やホシガレイ *Verasper variegatus* の両面有色個体が“両面鰈”として高松松平家が制作した魚類図譜「衆鱗図」(香川県歴史博物館友の会博物図譜刊行会, 2001) に収録されている。また、近年では、アカガレイ *Hippoglossoides dubius* (沖山・富, 1970), メイトガレイ (北島ら, 1987), イシガレイ *Platichthys bicoloratus*, マコガレイ *Pseudopleuronectes yokohamae* (有山, 2000) などの

形態異常魚が報告されている。しかし、天然海域におけるカレイ目魚類の形態異常魚の出現例はごく限られている（沖山・富，1970；有山，2000）。

本邦では1960年代以降、つくり育てる漁業の推進とともに栽培漁業の技術開発が全国各地で展開され、2000年には魚類だけでも37種の種苗生産および放流が行われている（水産庁・社日本栽培漁業協会，2003）。なかでもカレイ目魚類は、ヒラメ科のヒラメ *Paralichthys olivaceus* をはじめカレイ科のアカガレイ、ムシガレイ *Eopsetta grigorjewi*、ホシガレイ、マツカワ *Verasper moseri*、メイタガレイ、ババガレイ *Microstomus achne*、ヤナギムシガレイ *Glyptocephalus kitaharai*、イシガレイ、マガレイ *Pseudopleuronectes herzensteini*、クロガシラガレイ *Ps. schrenki*、マコガレイなど12種が手がけられており、盛んに飼育技術の開発が行われてきたグループといえる（有瀧，1995）。しかし、これらの魚種では、いずれも体色や眼位等の異常が50%以上の高率で出現し、大きな問題となっている（有瀧，1995）。飼育魚に見られる形態異常は、天然魚と同様の区分で類別可能であること、また白化と両面有色は変態完了時に、無眼側の黒化は変態以降に発現することなどがヒラメでは明らかとなっている（青海，1997）。また、先に述べたように天然海域における形態異常魚の観察例はごく少ないことと比べると、飼育条件下ではその出現頻度がきわめて高いことも大きな特徴である（北島ら，1987；Bolker and Hill，2000）。

一方、ヒラメやマガレイの形態異常魚は摂餌能力が十分でなく、放流しても捕食されやすいことなど（首藤ら，1988；長倉・有瀧，1990）種苗性の問題が指摘されている。そのため、形態異常の防除はカレイ目魚類における栽培漁業の技術開発を進める上で大きな検討課題となってきた。前述した対象種の中でヒラメは、全国で約4000万尾の種苗が放流されるなど、栽培漁業のモデルとして事業化が進められており（水産庁・社日本栽培漁業協会，2003）、形態異常の防除対策も様々な面から先進的に試みられている。ヒラメの形態異常は白化が大部分を占め、両面有色の出現率は低いため（青海，1991）、対策や研究も白化に集中している（青海，1979a；青海，1979b；青海，1980；青海・篠田，1981；Seikai，1985a；Seikai，1985b；北島ら，1985；中村・飯田，1986a；福所ら，1987；Seikai *et al.*，1987a；Seikai *et al.*，1987b；Seikai *et al.*，1987c；三木ら，1990；Seikai，1992；高橋，1992；Estévez and Kanazawa，1996；Haga，2002）。その中で、青海はヒラメの白化現象を出現部位や程度に基づいて8タイプに類型化し（Seikai，1985a）、鱗や椎骨異常との関連を報告した（青海，1979b；青海，1980）。さらに、正常魚と白化魚におけ

る色素芽細胞と粘液細胞の発達過程の比較から、白化が両体側の無眼側化であることを示した（Seikai，1992）。また、天然動物プランクトンの十分な給餌によって白化の防除がほぼ可能であることを明らかにした（Seikai，1985b）。加えて、ブラジル産アルテミアノープリウス *Artemia salina*（アルテミア）が白化魚の出現を促進することを逆に利用して、白化の発現に重要な時期が変態開始直前であることを解明している（Seikai，1985a）。これら基礎的な知見をふまえて福所（1990a，1990b，1991）は種苗生産で発生するヒラメの白化現象やその防除について整理を行っており、飼育水温や餌料環境が大きな影響を与えることを示唆した。また、高橋（1992）は社日本栽培漁業協会（日裁協）が4年間行ったヒラメの白化防除対策試験をとりまとめ、餌料の栄養強化もさることながら、浮遊期における仔魚の生残状況が正常率の向上に重要であると結論づけている。このように、ヒラメの形態異常に関しては基礎的な知見の集積も進み、その機序はかなりの部分が解明され、防除方法もほぼ構築されてきた。しかし、これらの方法をカレイ科魚類の種苗生産に用いても効果的でないことが多い（青海，1997）。また、カレイ科魚類における形態異常の試験研究は国内外をあわせてもメイタガレイ（北島ら，1987）やマコガレイ（青海，1985c；陸谷，1988）、クロガシラガレイ（Nakamura *et al.*，1986b）、plaice *Pleuronectes platessus*（Dickey-Collas，1993）、Atlantic halibut、*Hippoglossus hippoglossus*（Næss and Lie，1998）などごく限られた種についてしか行われておらず、なお不明の点が多い（Bolker and Hill，2000）。

本研究ではカレイ科魚類の形態異常について基礎的な知見を収集し、形態異常発現の機序の解明や防除方法の確立についてせまることを目的とした。第一章では、まず飼育したカレイ類の形態異常の特徴を明らかにするため、8種のカレイ科魚類について体各部を観察し、検討を加えた。第二章では、白化魚を誘発する効果のあるブラジル産アルテミアをマガレイとホシガレイに与え、白化魚の発現に重要な時期を推察した。第三章では、成長・発育速度の異なるマガレイ、ホシガレイ、ババガレイの3種類を様々な水温で飼育し、形態異常魚の出現状況と仔稚魚の成長・発育との関係について考察した。第四章では、飼育したホシガレイとマガレイの仔魚を用いて、甲状腺ホルモンが飼育水温によってどのような動態を示すか明らかにした。第五章では、これらの結果をとりまとめ、カレイ科魚類における形態異常の発現機序とその防除について総合的な考察を行うと共に、今後に残された研究課題について論述した。

第1章 飼育したカレイ科魚類の変態に関わる形態異常

緒言で述べたように、カレイ科魚類を飼育した場合、多くの種において形態異常魚が50%以上の高率で出現し、種苗生産の現場で大きな問題となっている。本章では、カレイ科魚類8種について有眼側、無眼側の諸形質を測定・観察し、天然魚と比較することにより形態異常魚の特徴を明らかにした。

材料と方法

供試魚の由来

本研究では、マツカワ、ホシガレイ、ババガレイ、イシガレイ、ヌマガレイ *Platichthys stellatus*、マガレイ、クロガシラガレイ、マコガレイ、計8種類の飼育魚および天然魚を使用した (Table 1-1)。

飼育魚は1987~2002年に、北海道立栽培漁業総合センター (マツカワ)、北海道別海漁協ニシン種苗センター (クロガシラガレイ)、日裁協宮古事業場 (ホシガレイ、イシガレイ、ヌマガレイ、マコガレイ)、同能登島事業場 (ババガレイ、マガレイ) で、それぞれ卵から変態完了直後まで飼育した後に供試魚を採取した。ホシガレイとマツカワは鱗について観察を行うため、全長約10cmの個体もあわせて使用した。

天然魚は、ホシガレイが1997年に岩手県大船渡の定置網で、マガレイが1990年に新潟県岩船の底引き網で漁獲された個体を用いた。

供試魚は10%ホルマリンで固定後、70%エタノール中で保存した。

飼育魚における形態異常のタイプ分け

飼育魚については測定および観察に先立って、Norman (1934) をもとに体両側の黒色素と眼位によって次の4タイプに分類した (Figs. 1-1~1-8)。

タイプA (正常魚)

眼位：有眼側の眼はほとんど動いていない。無眼側の眼は大きく動き、有眼側へ移動している。

体色：有眼側の黒色素は全体に良く発現し、天然魚と同様の紋様を形成する。無眼側の黒色素は全体に発現することはなく、全くないか、部分的にのみ存在する。

タイプBおよびB' (白化魚)

眼位：有眼側の眼はほとんど動いていない (タイプB) か大きく無眼側へ動く (タイプB')。無眼側の眼は大きく有眼側へ動く。

体色：黒色素は両側とも全く発現しないか、部分的にのみ存在する。

タイプC (両面有色魚)

眼位：眼は両側ともほとんど移動しない。

体色：黒色素は両側とも全体に良く発現し、天然魚と同様の紋様を形成する。

測定および観察

左右の不相称を定量的・定性的に明らかにするため、各魚種の両側の測定および観察を行った (Table 1-1)。

1) 測定 Table 1-1に示すように測定項目は異なるが、標準体長 (以降体長)、頭長、有眼側および無眼側の前上顎骨長あるいは上顎長、胸鰭長の計6部位を測定した。前上顎骨および上顎長は頭長との相対比 (%、PML; 前上顎骨およびUJL; 上顎)、胸鰭長は体長との相対比 (%、PFL) を算出した。

これら相対比の差の有無を確認するため、前述のタイプ群ごとに平均値を求め2群間では t 検定を、2群以上では、山田・北田 (1997) に従って等分散性を確認した後、Tukey-Kramerの多重範囲検定法を用いて有意差の検定を行った ($P < 0.05$)。

なお、マガレイの胸鰭は着底直後の体長8mm前後に収縮した後、およそ30mmで再び伸長するため、30mm以上の個体についてのみ比較検討を行った。前上顎骨長は、河村・細谷 (1991) に従い水酸化カリウム溶液を用いて透明化した後、アリザリンレッドSで硬骨染色後測定した。

2) 観察 マツカワとホシガレイは鱗、その他の6魚種は両顎歯の形態を観察し、タイプごとに比較した。

鱗は、アリザリンレッドSを少量溶かした5% KOH溶液に標本を15分浸漬した後、体両側の側線湾曲部直上からおよそ10枚ずつの鱗を採集し顕微鏡下で観察した。

両顎歯は、有眼側および無眼側から実態顕微鏡で観察を行った。

結果

天然魚における有眼側、無眼側の形質

1) 体色 両種とも有眼側は黒色素で覆われ、種に特有の斑紋を形成した (Fig. 1-9)。マガレイの無眼側には黒色素が観察されなかった。ホシガレイでは無眼側に、小斑の散在する個体も見られた。

2) 眼位 両種とも有眼側の目はほとんど移動せず、無眼側の目は完全に有眼側へ移動した (Fig. 1-9)。

3) 上顎および胸鰭 マガレイの前上顎骨長比 (PML) は、有眼側が 11.3 ± 2.2 (SD) %、無眼側が 19.8 ± 1.7 %であった。ホシガレイの上顎長比 (UJL) は、有眼側が 31.2 ± 1.4 %、無眼側が 30.4 ± 1.4 %であった。

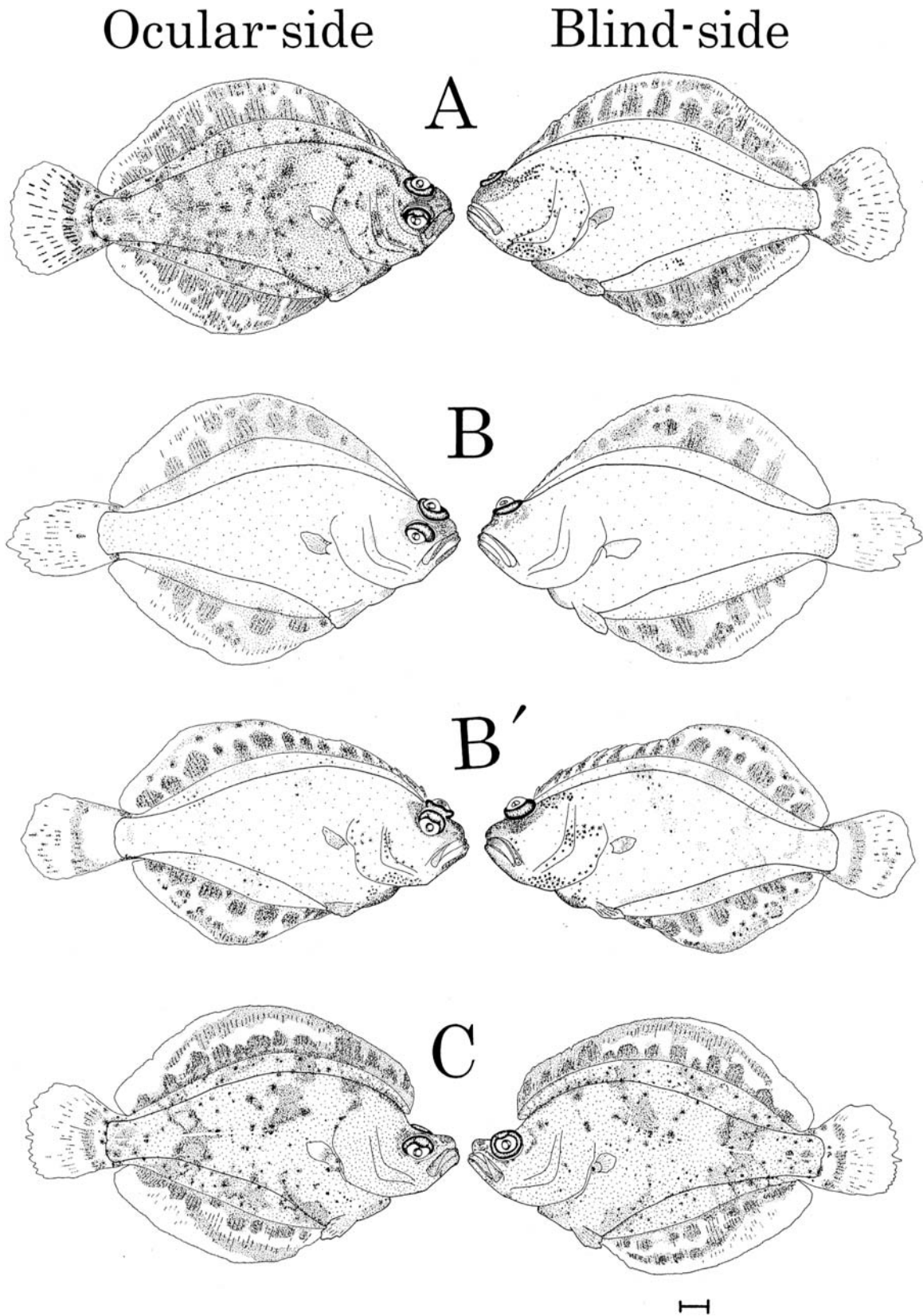


Fig. 1-1. Morphological types in the laboratory-reared *Verasper moseri* juveniles. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B' (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

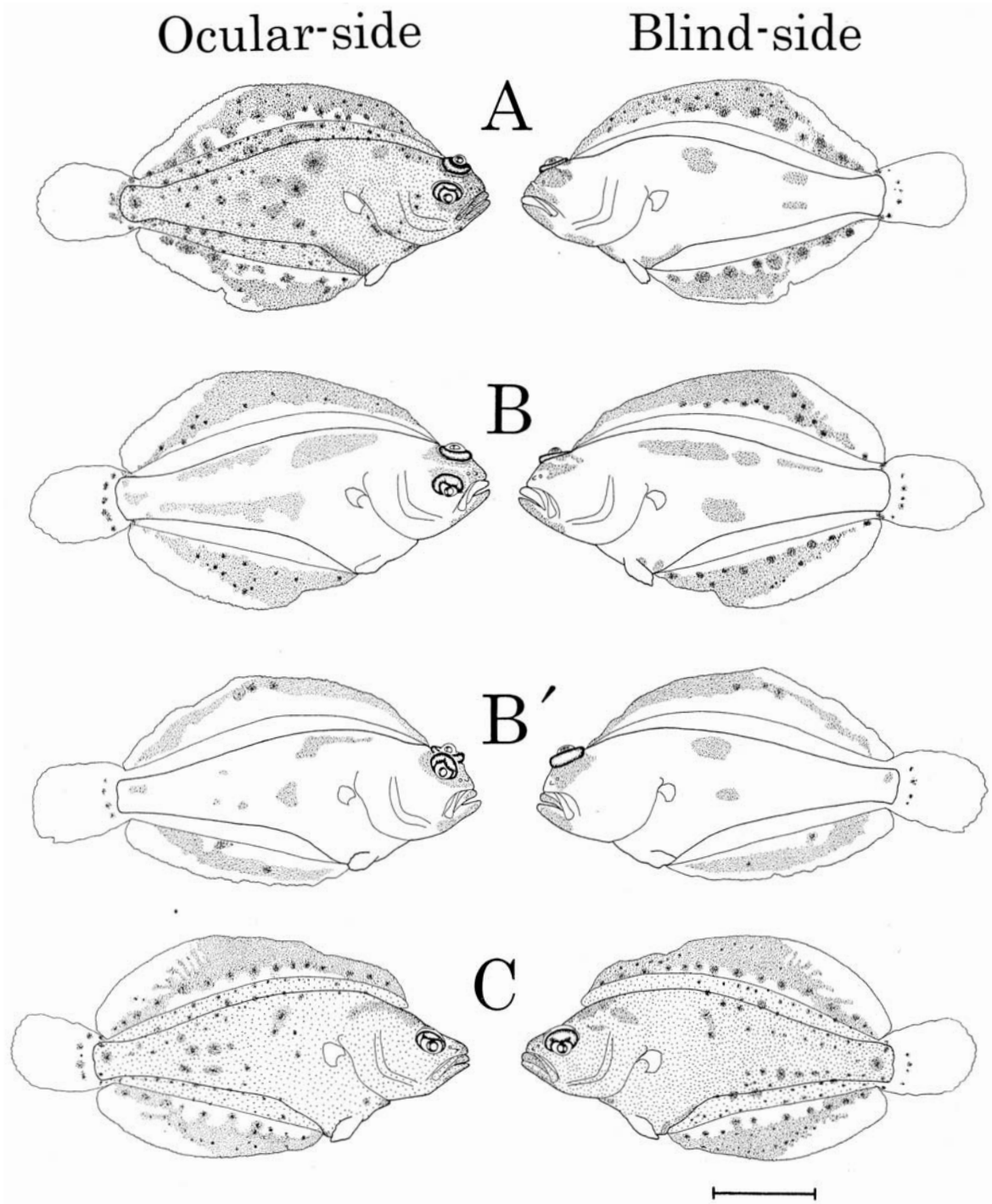


Fig. 1-2. Morphological types in the laboratory-reared *V. variegatus*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B' (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

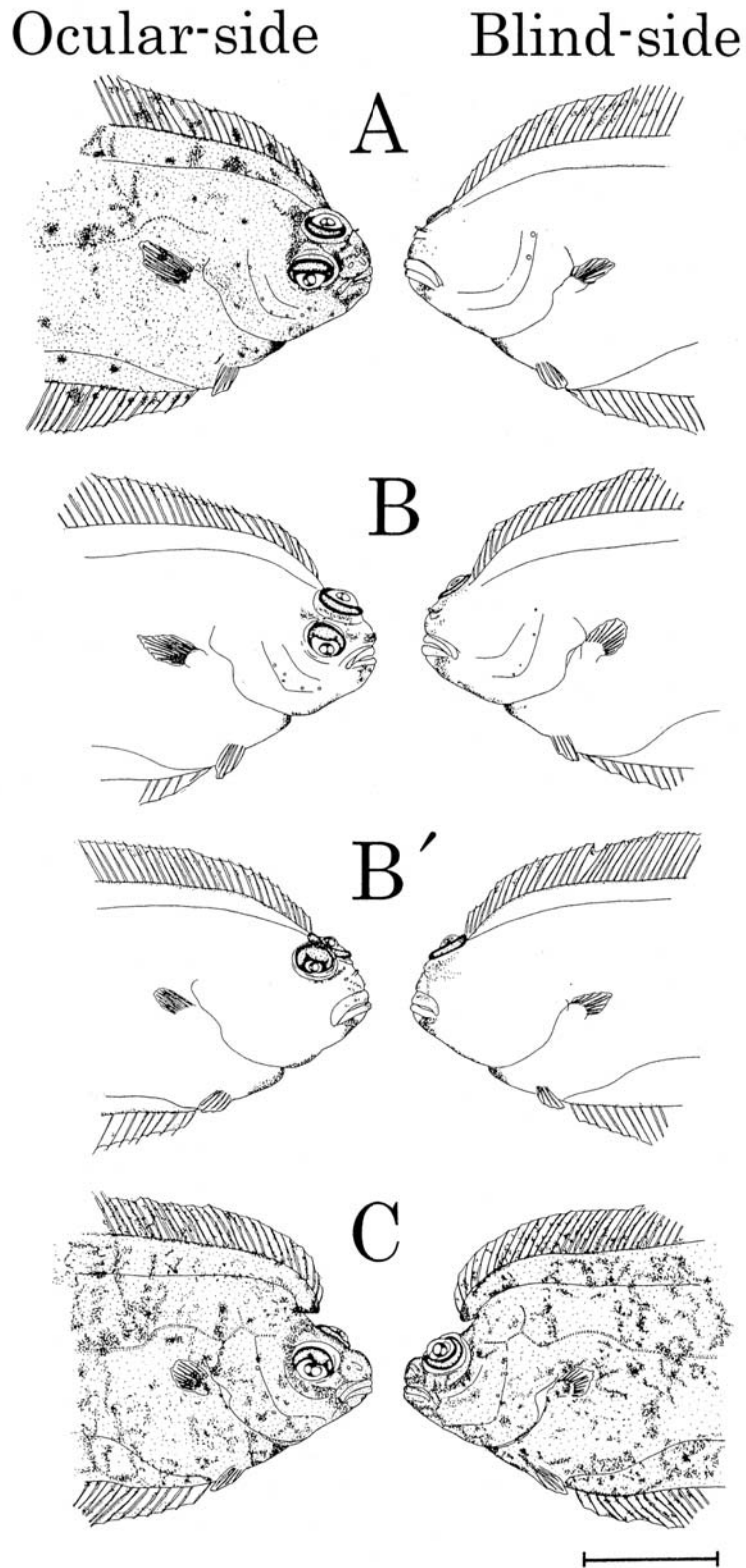


Fig. 1-3. Morphological types in the laboratory-reared *Microstomus achne*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B' (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

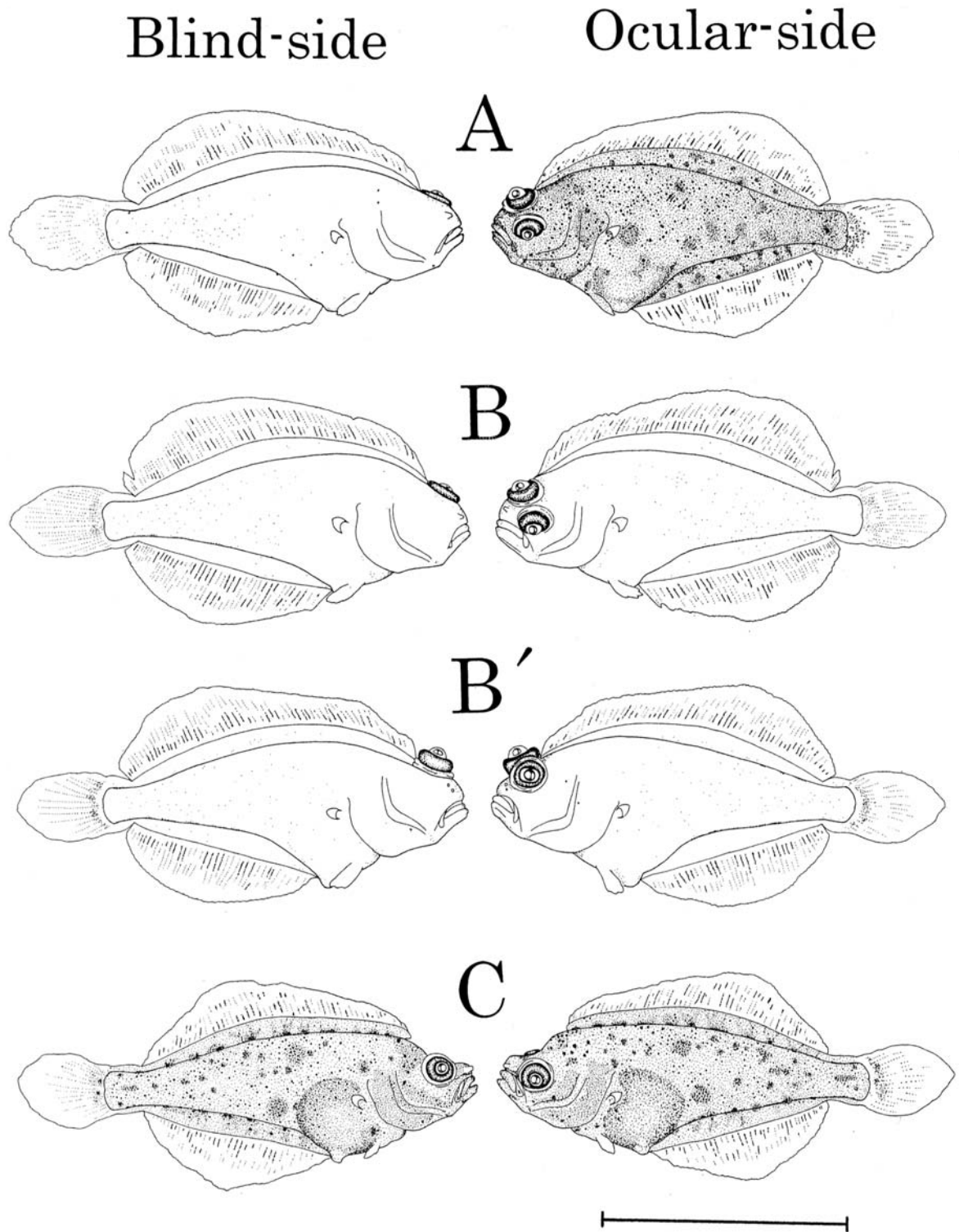


Fig. 1-4. Morphological types in the laboratory-reared *Platichthys stellatus*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B' (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

Ocular-side Blind-side

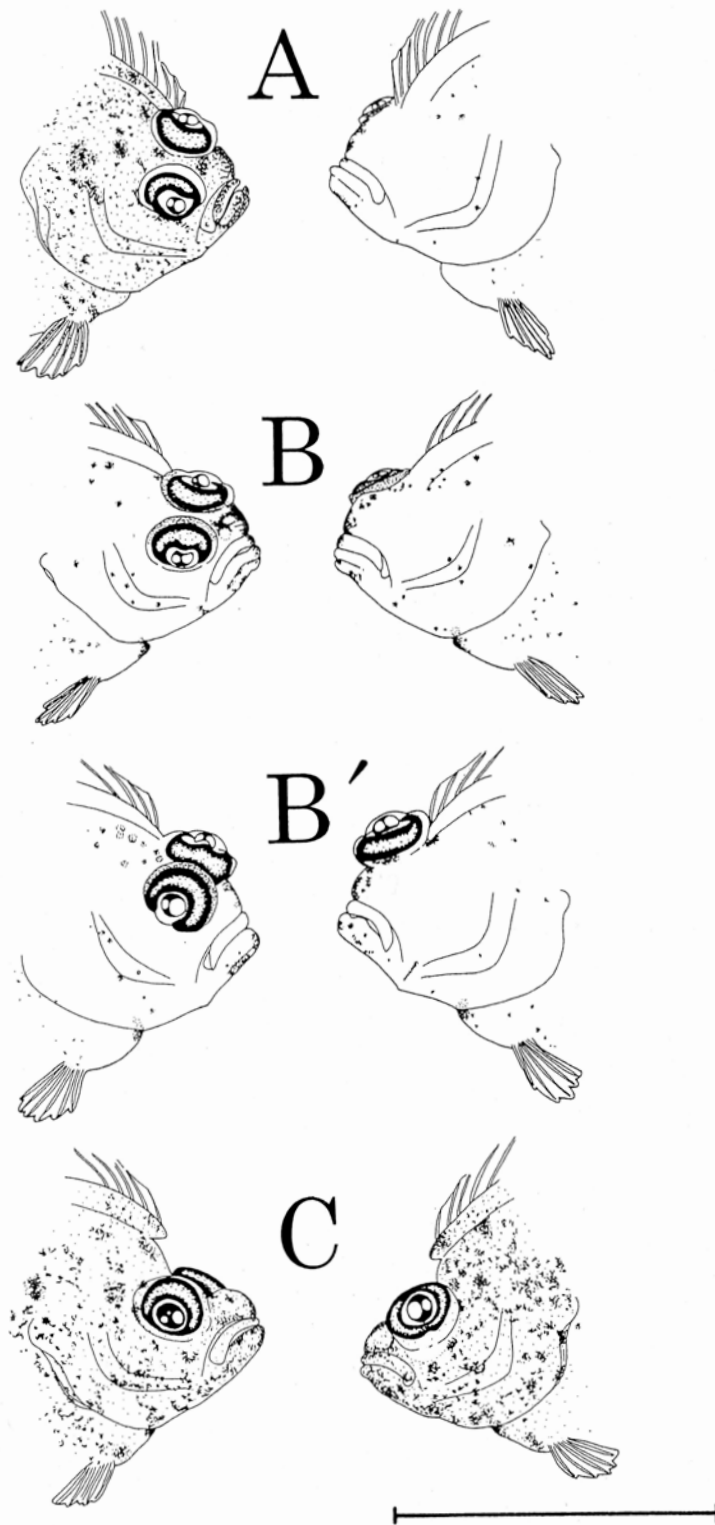


Fig. 1-5. Morphological types in the laboratory-reared *PI. bicoloratus*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B' (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

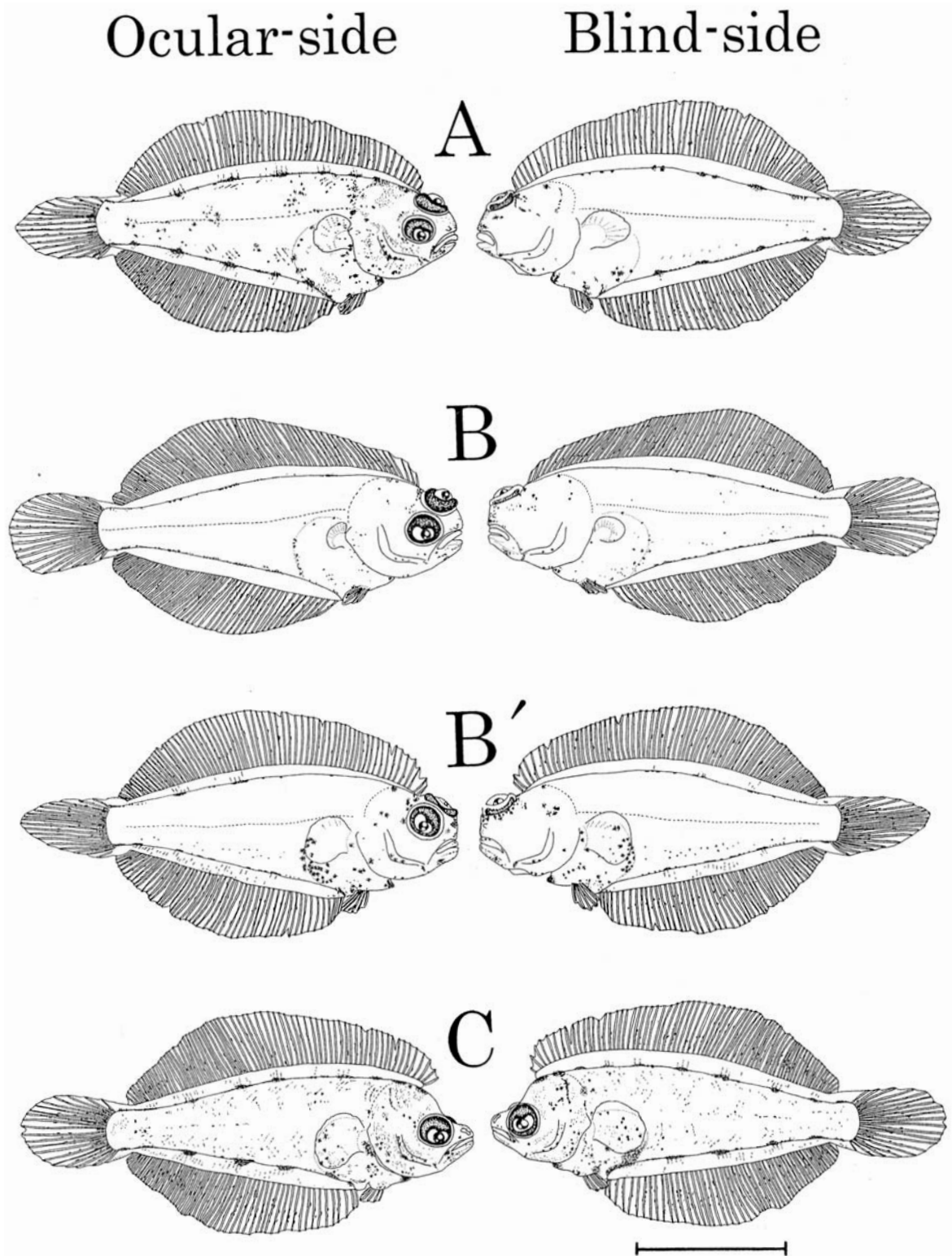


Fig. 1-6. Morphological types in the laboratory-reared *Pseudopleuronectes herzensteini*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B' (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

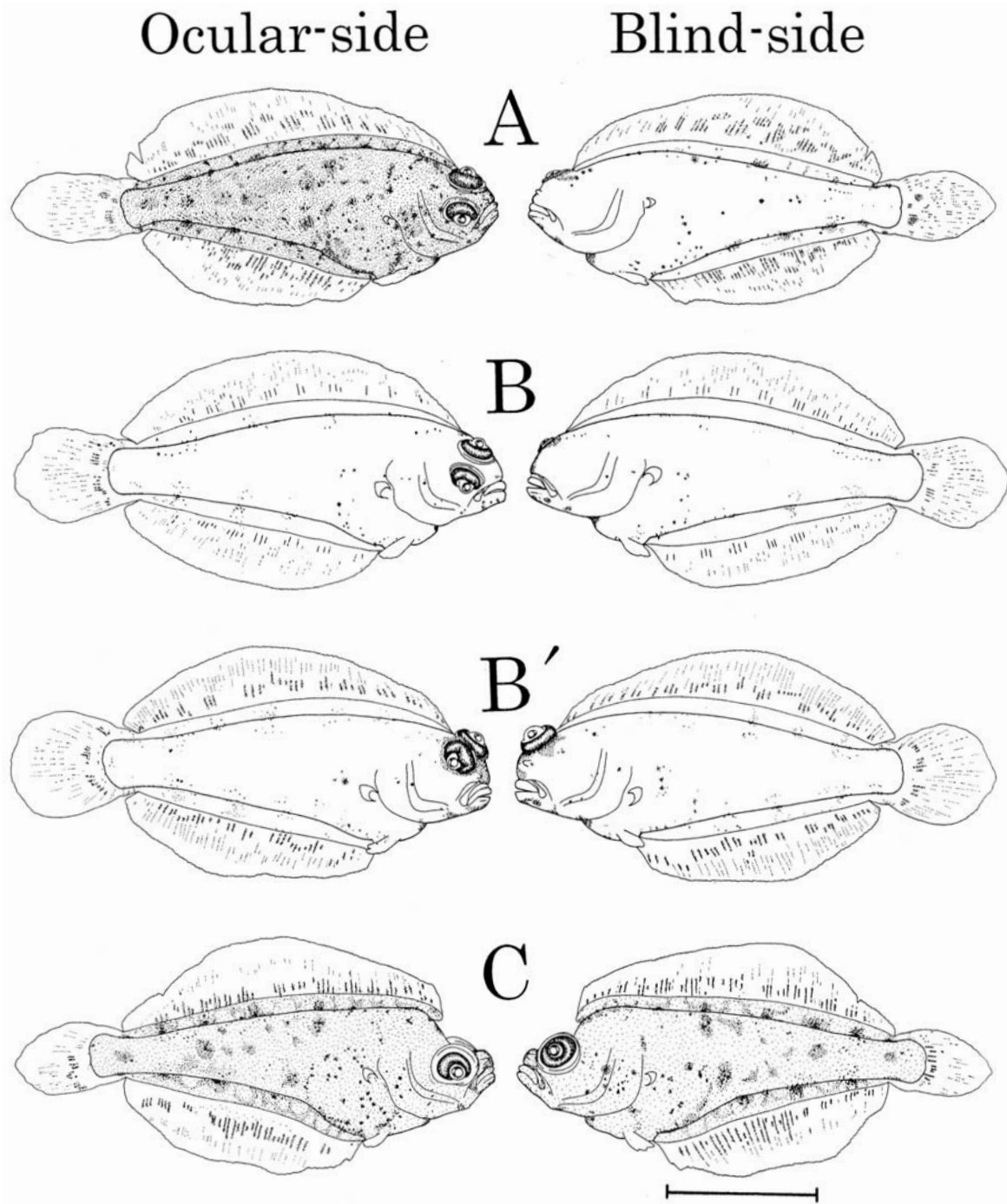


Fig. 1-7. Morphological types in the laboratory-reared *Ps. yokohamae*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B' (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

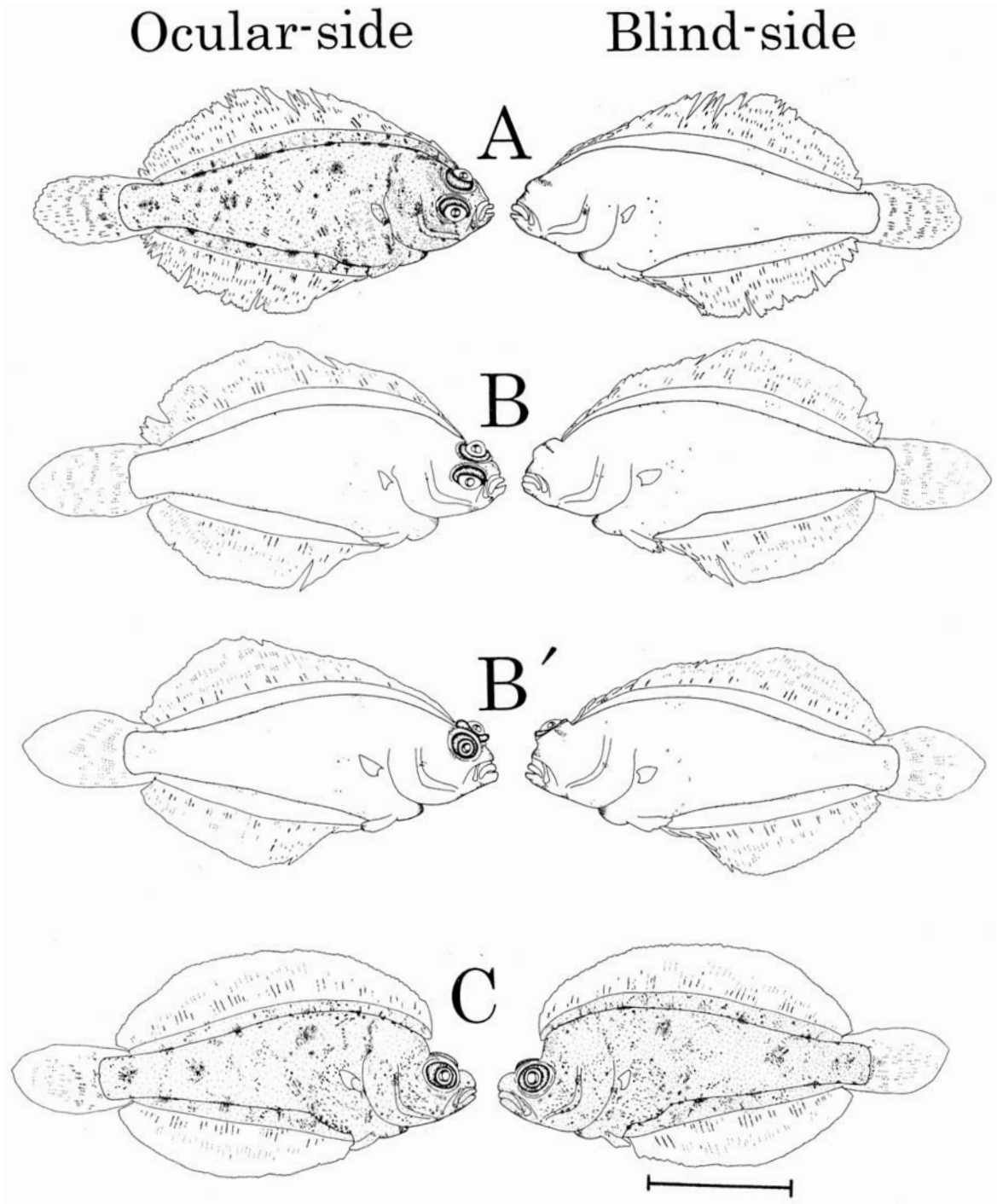


Fig. 1-8. Morphological types in the laboratory-reared *Ps. schrenki*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B' (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

Table 1-1. Observed characters and sampling data for 8 species of Pleuronectidae

Species (Japanesae name)	Lot*1	Sampling		No. of fish	Average TL*4 (range) mm	Observed characters						
		Point*2	Year (DAH)*3			Body color	Eye position	UJL*5	PML*6	PFL*7	Dentition	Scale
<i>Verasper moseri</i> (matsukawa)	R	Hokkaido In. Marin.	2002 (160)	50	128.4 (80.4–137.2)	●	●					●
<i>V. variegatus</i> (hosigarei)	W	Iwate	1997	52	459.5 (250.0–689.0)	●	●	●		●		
	R	JASFA Miyako	1997 (370)	394	125.3 (55.0–165.0)	●	●	●		●		●
<i>Microstomus achne</i> (babagarei)	R	JASFA Notojima	1996 (40)	50	28.9 (23.0– 33.8)	●	●				●	
<i>Platichthys bicoloratus</i> (isigarei)	R	JASFA Miyako	1987 (90)	50	13.7 (12.1– 17.1)	●	●				●	
<i>Pl. stellatus</i> (numagarei)	R	JASFA Miyako	2000 (30)	50	11.7 (8.7– 13.9)	●	●				●	
<i>Pseudopleuronectes herzensteini</i> (magarei)	W	Niigata	1990	34	97.5 (80.8–109.0)	●	●		●	●		
	R	JASFA Notojima	1991, 1992	199	39.3 (10.1–103.5)	●	●		●	●	●	
<i>Ps. schrenki</i> (kurogashiragarei)	R	Hokkaido Bekkai Ha.	2002 (55)	50	14.7 (11.7– 18.2)	●	●				●	
<i>Ps. yokohamae</i> (makogarei)	R	JASFA Miyako	2000 (30)	50	14.6 (9.7– 19.4)	●	●				●	

*1 R: reared fish, W: wild fish.

*2 Hokkaido In. Marin.: Hokkaido Institute of Mariculture, JASFA Miyako: Japan Sea-Farming Assosiation Miyako Station, Iwate: Ohofunato Iwate Prefecture, JASFA Notojima: Japan Sea-Farming Assosiation Notojima Station, Niigata: Iwafune Niigata Prefecture, Hokkaido Bekkai Ha.: Bekkai Fishermen's Cooperative Associational Herring Hatchery.

*3 DAH: Days after hatching.

*4 TL: Total length.

*5 UJL: Relative length of upper jaw (% head length).

*6 PML: Relative length of premaxillary (% head length).

*7 PFL: Relative length of pectoral fin (% body length).

Ocular-side

Blind-side

A



B



Fig. 1-9. Body color and eye position of wild two right eye flounders. A: *Verasper variegatus*, B: *Pseudopleuronectes herzensteini*.

マガレイは無眼側が、ホシガレイは有眼側が有意に大きかった (Table 1-2)。

胸鰭長比 (PFL) は、マガレイでは有眼側が $14.5 \pm 0.9\%$ 、無眼側が $9.6 \pm 0.8\%$ であった。ホシガレイでは有眼側が $12.1 \pm 1.2\%$ 、無眼側が $10.1 \pm 1.0\%$ であった。両種とも無眼側に比べて有眼側が有意に大きかった (Table 1-2)。

飼育魚 4 タイプにおける有眼側、無眼側の形質

1) 体色 タイプ A の有眼側は、どの種においても全体が黒色素で覆われており、各魚種特有の斑紋を形成した (Figs. 1-1~1-8)。これに対し、無眼側の黒色素分布は種によって異なり、全体に薄く散在するもの (マツカワ、ホシガレイ、ヌマガレイ) や眼下、下顎腹面および咽頭部に集群するもの (ババガレイ、イシガレイ、マガレイ、マコガレイ、クロガシラガレイ) に分かれた。しかし、全種とも無眼側は有眼側に比べ黒色素の発現がきわめて弱く、上記の黒色素も体長の大きな個体ほど消失する傾向がみられた。タイプ B および B' では、黒色素が両側ともほとんど認められなかった。なお、わずかに発現していた個体では、それぞれのタイプ A の無眼側に酷似していた。一方、タイプ C では両側とも全域が黒色素で覆われ、タイプ A の有眼側に酷似していた。

2) 眼位 全ての魚種で各タイプの眼位は同様であった (Figs. 1-1~1-8)。タイプ A および B では有眼側の眼はほとんど動かなかったが、無眼側では完全に有眼側へ移動した。タイプ B' では両側の眼とも大きく背側へ移動し、頭頂部付近で停止した。タイプ C では両側の眼ともほとんど移動しなかった。

3) 上顎骨長比および上顎長比 ホシガレイの上顎長比 (UJL) およびマガレイの前上顎骨比 (PML) を Fig. 1-10 に示した。ホシガレイのタイプ A では、有眼側が $29.6 \pm 1.5\%$ 、無眼側が $28.3 \pm 1.5\%$ で、無眼側が有意に小さかった。しかし、タイプ B と B' では有眼側が $28.9 \pm 1.1\%$ と $28.5 \pm 1.0\%$ 、無眼側が $28.2 \pm 1.1\%$ と $28.2 \pm 1.0\%$ で、両タイプとも無眼側が幾分小さい傾向を示したものの、両側間で有意な差は認められなかつ

た。また、これら 2 種類のタイプとタイプ A を比較した場合、無眼側では上顎長比には有意な差はなかったが、有眼側ではタイプ A より小さい傾向を示した。一方、タイプ C は有眼側では $29.3 \pm 2.1\%$ 、無眼側では $29.0 \pm 2.1\%$ となり、両側間に有意な差は認められず、両側ともタイプ A の有眼側に近似した値をとっていた。

マガレイのタイプ A は、有眼側では $13.7 \pm 1.4\%$ 、無眼側では $17.5 \pm 1.3\%$ で、無眼側が有意に大きかった。しかし、タイプ B と B' では有眼側が $17.1 \pm 1.7\%$ と $16.7 \pm 2.3\%$ 、無眼側が $17.4 \pm 1.4\%$ と $17.1 \pm 1.7\%$ で、両タイプとも両側の数値に有意な差はなく、タイプ A の無眼側に近似した値を示した。一方、タイプ C は有眼側では $13.7 \pm 0.9\%$ 、無眼側では $13.5 \pm 2.9\%$ となりタイプ B と B' 同様、両側間に有意な差は認められず、両側ともタイプ A の有眼側とほぼ同様であった。

4) 胸鰭長比 ホシガレイおよびマガレイの胸鰭長比 (PFL) を Fig. 1-11 に示した。

ホシガレイのタイプ A では、有眼側が $11.8 \pm 0.8\%$ 、無眼側が $10.7 \pm 0.6\%$ で有眼側が有意に大きかった。これに対し、タイプ B と B' では有眼側が $10.7 \pm 0.8\%$ と $10.9 \pm 0.5\%$ 、無眼側が $10.5 \pm 0.7\%$ と $10.8 \pm 0.6\%$ となり、両タイプとも両側間で有意な差は認められず、タイプ A の無眼側に近似した値を示した。タイプ C では、有眼側が $11.9 \pm 0.8\%$ 、無眼側が $11.1 \pm 0.8\%$ で有意に有眼側が大きかった。タイプ C の数値をタイプ A と比較すると有眼側の数値は両者とも有意差がなかったものの、無眼側ではタイプ C の値が有意にタイプ A より大きかった。

マガレイでは形質が安定する 30mm 以上の個体について胸鰭長比の比較検討を行ったが、タイプ C は全ての個体が 30mm 以下であったため検討できなかった。

タイプ A では、有眼側が $15.2 \pm 1.0\%$ 、無眼側が $9.1 \pm 0.7\%$ で有眼側が有意に大きかった。これに対し、タイプ B と B' では有眼側が $14.5 \pm 1.1\%$ と $11.8 \pm 1.0\%$ 、無眼側では $9.3 \pm 0.8\%$ と $9.7 \pm 1.0\%$ となり、両タイプとも両側間で有意な差が認められた。このうちタイプ B、B' とタイプ A の無眼側およびタイプ B とタイプ A

Table 1-2. Comparison of relative length of upper jaw, premaxillary, and pectoral fin in wild brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini* and spotted halibut *Verasper variegatus*.

Species	Head length Mean and SD (mm)	Standard length Mean and SD (mm)	Relative length of UJL ^{*1} and PML ^{*2} (% HL ^{*3}) Mean and SD		Relative length of PFL ^{*4} (% BL ^{*5}) Mean and SD	
			ocular side	blind side	ocular side	blind side
<i>P. herzensteini</i>	25.4 ± 1.6	97.5 ± 5.7	11.3 ± 2.2 ^a	19.8 ± 1.7 ^b	14.5 ± 0.9 ^A	9.6 ± 0.8 ^B
<i>V. variegatus</i>	95.9 ± 20.8	390.5 ± 81.4	31.2 ± 1.4 ^a	30.4 ± 1.4 ^b	12.1 ± 1.2 ^A	10.1 ± 1.0 ^B

*1 UJL: upper jaw length, *2 PML: premaxillary length, *3 HL: head length, *4 PFL: pectoral fin length, *5 BL: body length. Different superscript letters indicate significant difference (T-test, $P < 0.05$) between ocular side and blind side.

の有眼側の間では有意な差が認められなかったが、タイプB'の有眼側はタイプAおよびBより有意に小さく、値はタイプA > B > B'の順に減少した。

5) 両顎歯 全ての魚種においてタイプAの無眼側では顎歯が密在したが、有眼側では疎にしか存在しなかった (Figs. 1-12~1-17)。これに対し、タイプBとB'では顎歯が両側とも密在し、タイプCでは両側とも疎にしか存在しなかった。

6) 鱗 マツカワ (Fig. 1-18), ホシガレイ (Fig. 1-19) ともタイプAの鱗は有眼側が櫛鱗, 無眼側が円鱗であったのに対し、タイプBとB'は両側とも円鱗, タイプCは両側とも櫛鱗であった。

考察

天然魚の左右不相称

前章でも述べたように、異体類の左右不相称は多様

な器官におよぶ (Norman, 1934; Amaoka, 1964; 落合, 1966; 加藤ら, 1974; 沖山, 1974; 置栖・遊佐, 1979; Sakamoto, 1984; Brewster, 1987; Bürgin, 1986; 北島ら, 1987; Cooper and Chapleau, 1998)。ホシガレイの左右不相称に関しては、Norman (1934) が体色, 眼位, 鱗について記載しているが, その他の形質については記載がなかった。今回, 天然海域で漁獲された個体の上顎長と胸鰭長について測定した結果, この2形質についても両側で不相称が確認された (Fig. 1-9A, Tables 1-2, 1-3)。一方, マガレイは, 体色, 眼位, 上顎長, 鱗の形状 (Norman, 1934), 胸鰭長 (加藤ら, 1974), 両顎歯数 (Norman, 1934; 加藤ら, 1974; 置栖・遊佐, 1979) に左右の不相称があると報告されている。本研究の結果でも, マガレイ天然魚の体色や眼位, 前上顎骨長, 胸鰭長は過去の知見と同様に, 有眼側と無眼側で明らかな差異が認められた (Fig. 1-9B, Table 1-2)。

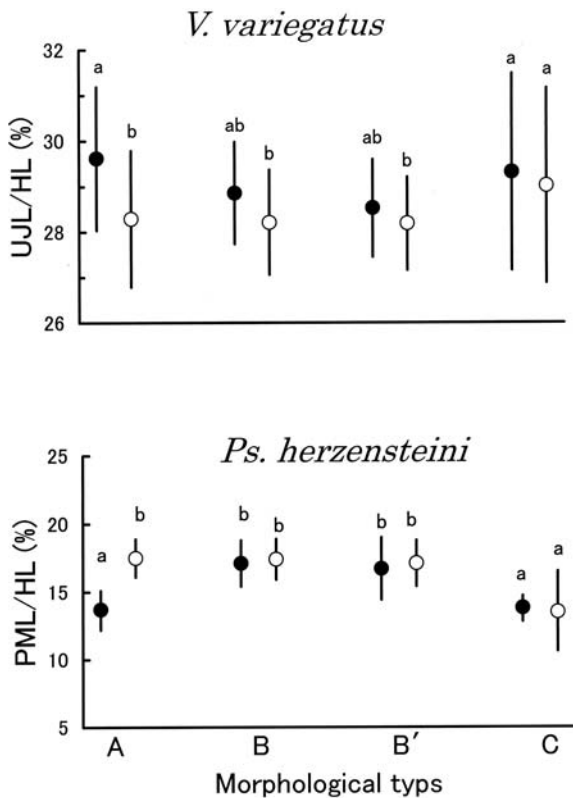


Fig. 1-10. Relative length of UJL and PML (% HL) in each type of *Verasper variegatus* and *Pseudopleuronectes herzensteini* juveniles. UJL: upper jaw length, PML: premaxillary length, HL: head length, ●: ocular-side, ○: blind-side. Different superscript letters indicate significant difference (T-test, $P < 0.05$) between ocular side and blind side.

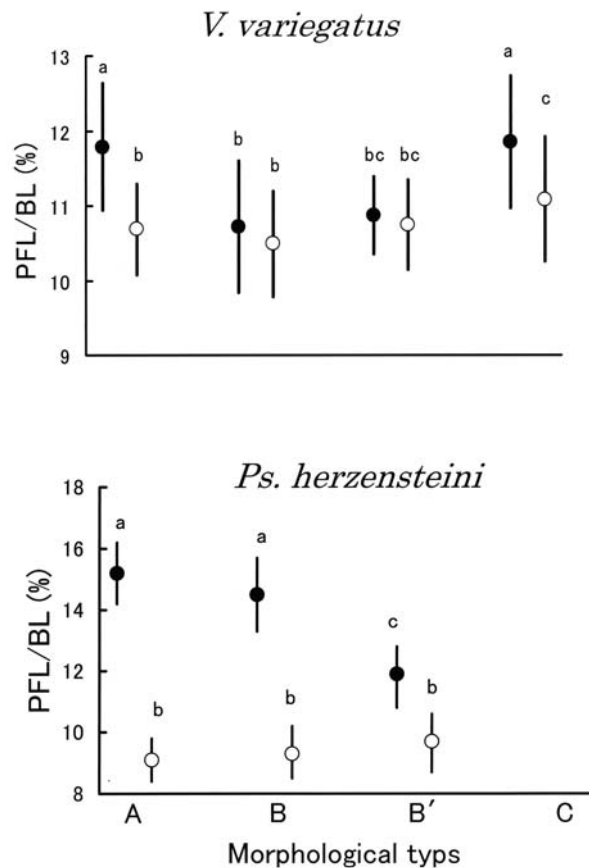


Fig. 1-11. Relative length of PFL (% BL) in each type of *Verasper variegatus* and *Pseudopleuronectes herzensteini* juveniles. PFL: pectoral fin length, BL: body length ●: ocular-side, ○: blind-side. Different superscript letters indicate significant difference (T-test, $P < 0.05$) between ocular side and blind side.

Ocular-side Blind-side

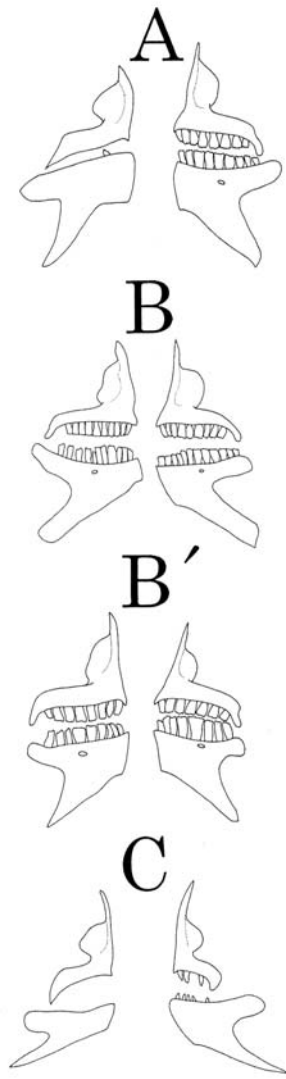


Fig. 1-12. Jaws in each type of *Microstomus achne* juveniles.

Blind-side A Ocular-side

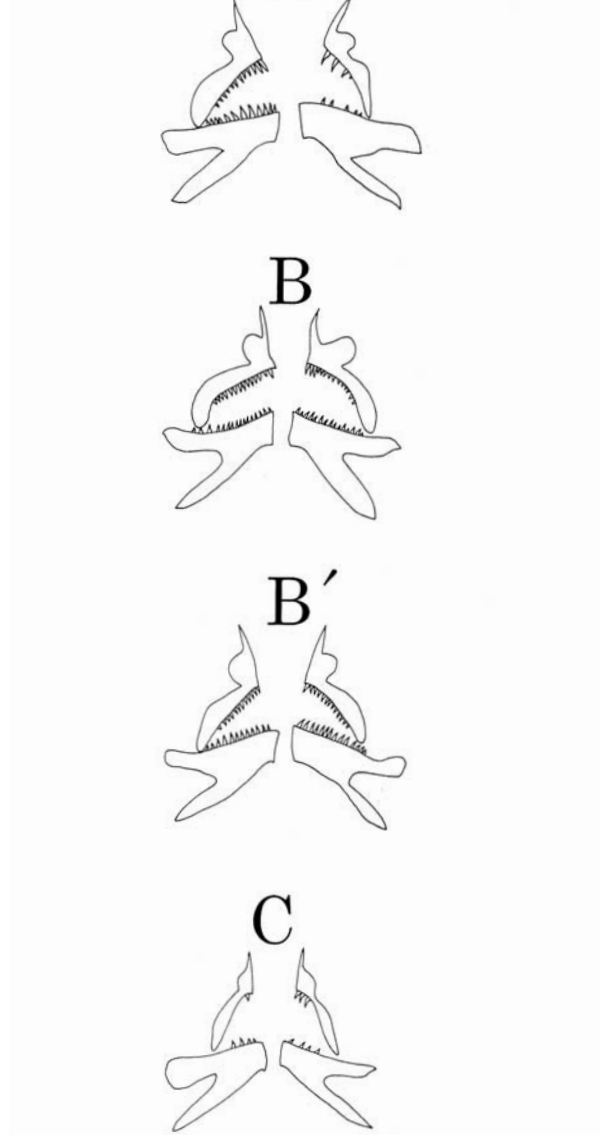


Fig. 1-13. Jaws in each type of *Platichthys stellatus* juveniles.

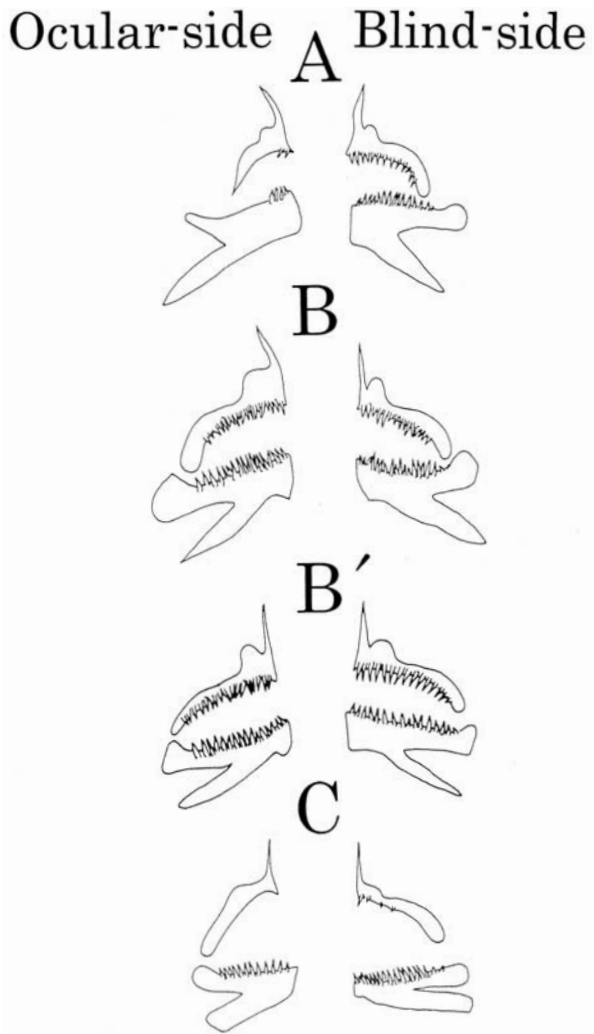


Fig. 1-14. Jaws in each type of *Pl. bicoloratus* juveniles.

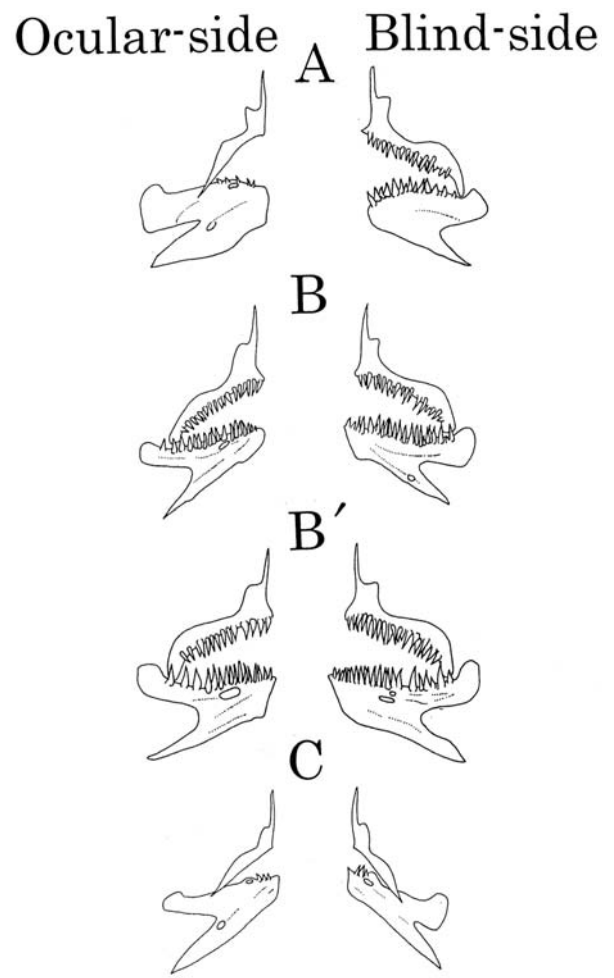


Fig. 1-15. Jaws in each type of *Pseudopleuronectes herzensteini* juveniles.

Ocular-side A Blind-side

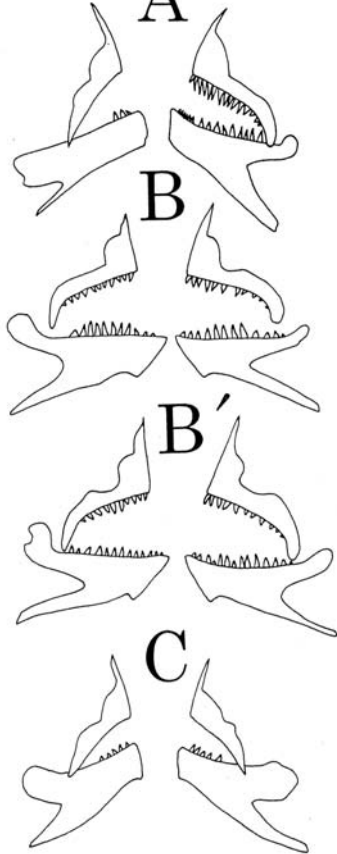


Fig. 1-16. Jaws in each type of *Ps. yokohamae* juveniles.

Ocular-side A Blind-side

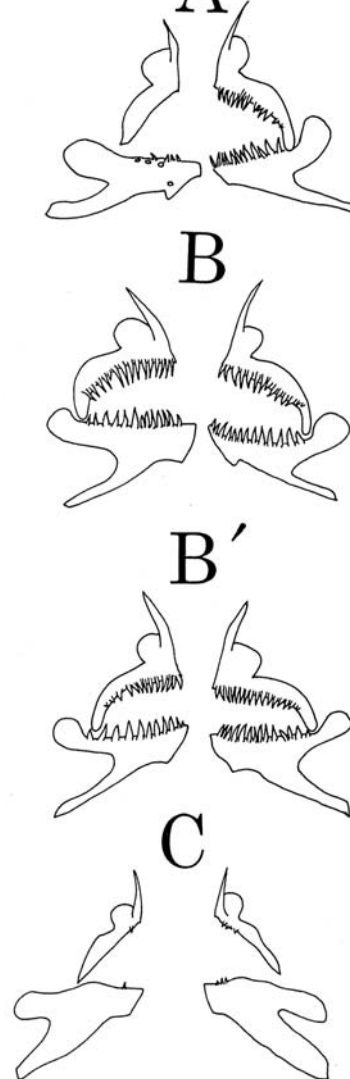


Fig. 1-17. Jaws in each type of *Ps. schrenki* juveniles.

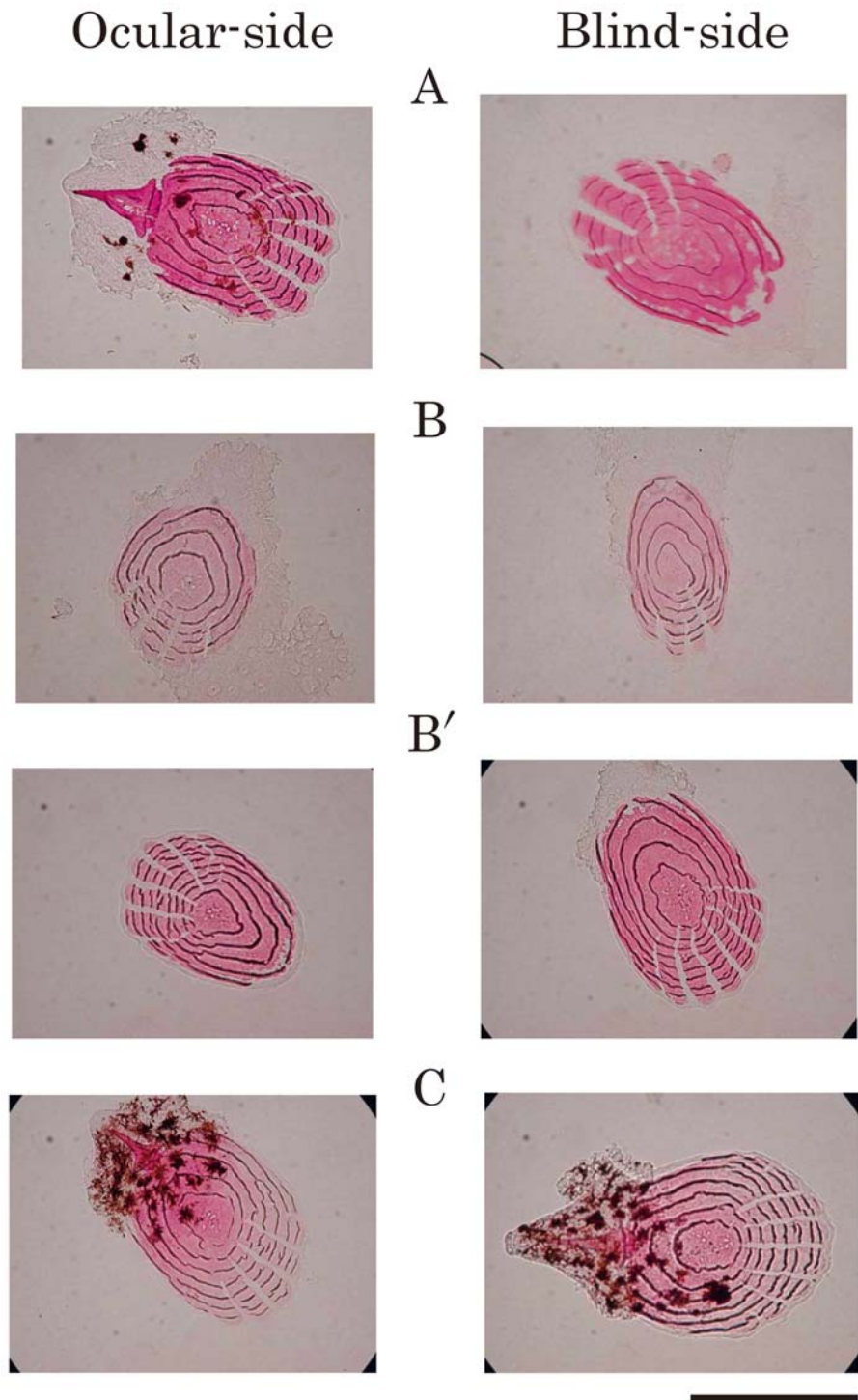


Fig. 1-18. Scale in each type of *Verasper moseri* juveniles. Bar = 0.5mm.

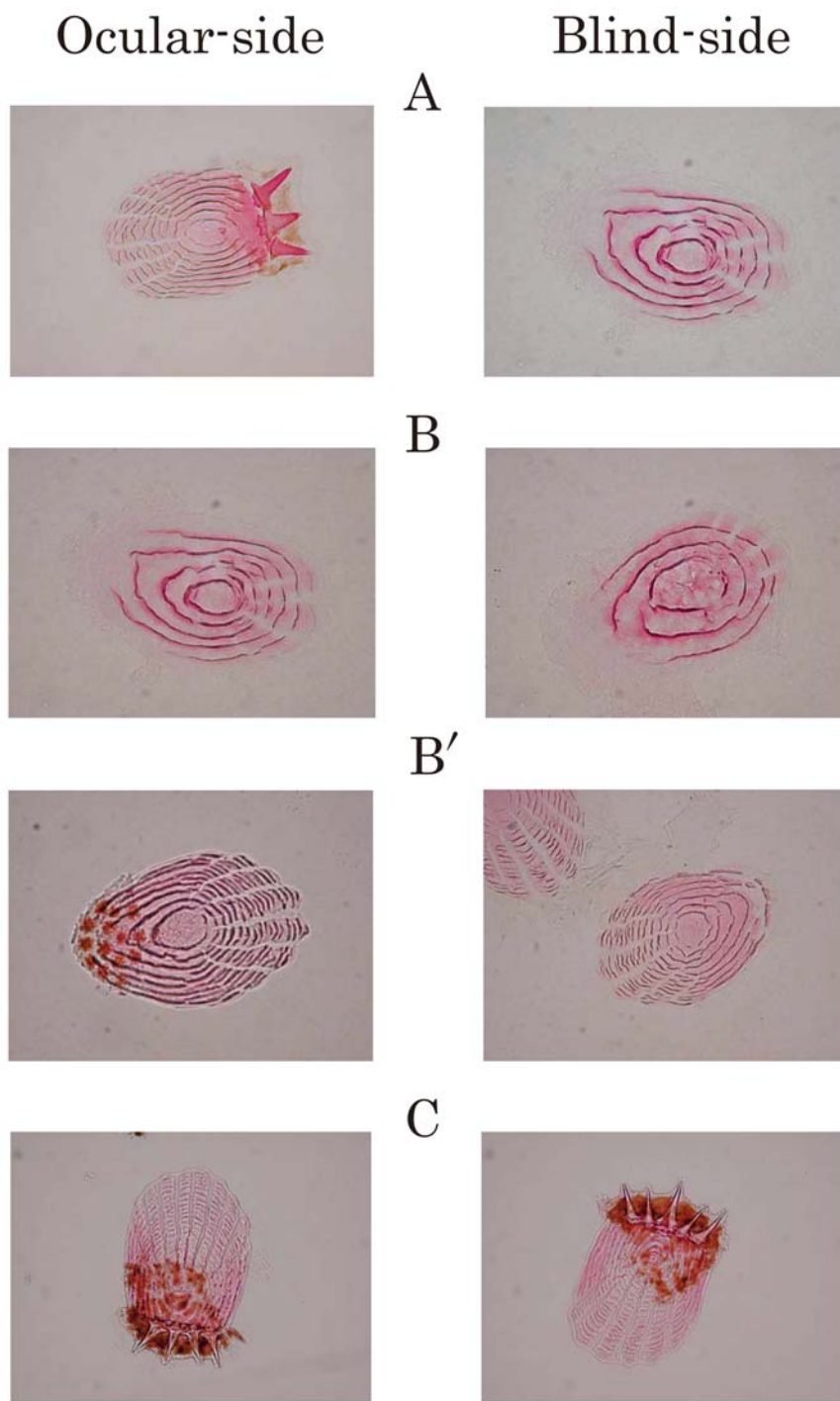


Fig. 1-19. Scale in each type of *V. variegatus* juveniles. Bar = 0.5mm.

Table 1-3. Possible asymmetrical characters in wild fish of 8 Pleuronectidae species

Species	Body color *4	Eye position *5	UJL *6	PFL *7	Dentition *8	Scale *9
<i>Verasper moseri</i> *1, 2	●	●	?	●	-	●
<i>V. variegatus</i> *1, 2, 3	●	●	●	?	-	●
<i>Microstomus achne</i> *1, 2	●	●	●	?	●	-
<i>Platichthys bicoloratus</i> *1, 2	●	●	●	?	●	-
<i>Pl. stellatus</i> *1, 2	●	●	●	?	●	-
<i>Pseudopleuronectes herzensteini</i> *1, 2, 3	●	●	●	●	●	●
<i>Ps. schrenki</i> *1, 2	●	●	●	?	●	?
<i>Ps. yokohamae</i> *1, 2	●	●	●	?	●	-

* 1 Norman (1934).

* 2 Cooper and Chapleau (1998).

* 3 present study.

* 4 The ocular-side is dark color, the blind-side is white color.

* 5 The ocular-side position hardly moved, blind-side position migrated to the other side.

* 6 The upper jaw of ocular-side is shorter than blind-side.

* 7 The pectoral fin of ocular-side is longer than blind-side.

* 8 The number of teeth on blind-side is more than ocular-side.

* 9 The scale on ocular-side is ctenoid, and that on blind-side is cycloid.

●: asymmetrical, ?: unknown, -: symmetrical.

Table 1-3に本研究で観察した2種を含む8種のカレイ科魚類天然魚における形質の左右不相称性をまとめた。これらの形質は、種によって左右不相称性に差異が認められるものの、今回飼育魚で観察した形質は全て不相称であることが確認できた (Tables 1-1, 1-3)。

飼育魚の左右不相称と形態異常

Table 1-4に飼育魚の測定・観察結果をまとめた。

正常魚であるタイプAは、全魚種、全形質において両側とも天然魚と同様の傾向が認められた。このことからタイプAでは眼位や体色などの全体的な外見のみならず、顎歯や上顎などの頭部形態や胸鰭、鱗も天然魚と同様であると推察される。白化魚であるタイプBとB'では無眼側がタイプAと同様、全形質で天然魚と同様の傾向が確認された。一方、タイプBの有眼側では眼位 (全種) や一部の胸鰭長 (マガレイ) および上顎長 (ホシガレイ) を除いた18形質が、タイプB'ではホシガレイの上顎長を除く27形質が天然魚の無眼側に類似した。両面有色魚であるタイプCは、ホシガレイの無眼側胸鰭長を除く全形質で左右とも天然魚の有眼側と同じ傾向が認められた。

今回、観察したカレイ科魚類は、8魚種全てで正常魚、白化魚 (2タイプ)、両面有色魚の4タイプに区分することが可能であった。また、白化および両面有色は、どの魚種でも両側とも無眼側もしくは有眼側、どちらか一方の形質を有していた。これらの結果は、飼育したカレイ科魚類に多発する形態異常は白化が“両

側の無眼側化”、両面有色が“両側の有眼側化”現象であることを強く示唆している。

本研究で観察した魚種の他にも飼育したヒラメ (青海, 1979b; Seikai *et al.*, 1987b; Seikai, 1992) や plaice (Roberts, 1971) とササウシノシタ *Heteromycteris japonica* (青海, 1990) では白化魚の有眼側の鱗や色素細胞、頭部器官の形態が無眼側に類似していることが、また *Acbirus lineatus* (Houde, 1971) やメイタガレイ (北島ら, 1987) の両面有色魚では、体幅、眼位や体色、無眼側胸鰭の有無などが天然魚の有眼側と同様であることが報告されている。これらのことは、前述してきた飼育したカレイ科魚類に生ずる“両側の無眼側化”および“両側の有眼側化”は他の異体類にも広く発現する可能性を示している。

本研究では、両体側の形質の比較から白化魚のうちタイプB'は両側の無眼側化であることが示されたが、タイプBでは全魚種の眼位とマガレイの胸鰭長には有眼側の無眼側化現象が認められなかった。早乙女・有瀧 (1988) によると、マガレイで両側の目が移動する形態異常 (本研究のタイプB') では、目の移動角度のばらつきが大きく、眼位が正常と判断された個体 (同タイプA, B) の値と一部重なる。本研究でも上記の知見と同様に、各魚種のタイプB'では眼の移動がごく軽微なものから重度のものまで観察された。また、マガレイ有眼側の胸鰭長比は、タイプA > タイプB > タイプB'と連続して減少しており (Fig. 1-11)、眼位と同じ傾向が確認できた。本観察では、眼の移動位置で

Table 1-4. Morphological characters for 8 species of laboratory-reared Pleuronectidae

Species	Characters	Type A		Type B		Type B'		Type C	
		Ocular side	Blind side	Ocular side	Blind side	Ocular side	Blind side	Ocular side	Blind side
<i>V. moseri</i>	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Scale	●	○	○	○	○	○	●	●
<i>V. variegatus</i>	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	UJL ^{*1}	●	○	△	○	△	○	●	●
	PFL ^{*2}	●	○	○	○	○	○	●	△
	Scale	●	○	○	○	○	○	●	●
<i>M. achne</i>	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●
<i>Pl. bicoloratus</i>	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●
<i>Pl. stellatus</i>	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●
<i>Ps. herzensteini</i>	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	PML ^{*3}	●	○	○	○	○	○	●	●
	PFL	●	○	●	○	○	○	×	×
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●
<i>Ps. schrenki</i>	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●
<i>Ps. yokohamae</i>	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●

*1 upper jaw length, *2 pectoral fin length, *3 premaxillary length.

●: similar to the ocular side of wild fish, ○: similar to the blind side of wild fish,

△: intermediate between ocular and blind side of wild fish, ×: no information.

白化魚のタイプBとタイプB'を区分したが、これら2タイプは無眼側化の程度の差であり、その程度の軽い現象がタイプB、より進んだものがタイプB'である可能性が高い。

形態異常の観察時期

観察した8種では、有眼側の部分的な白化 (partial albino) は形態異常魚にも全く観察されなかったが、過去には多くの異体類で報告されている (Norman, 1934; Dawson, 1962; Dawson, 1967; Veen, 1969; Bolker and Hill, 2000)。青海 (1991, 1997) はヒラメにおける無眼側の体色異常が主に着色型 (Norman, 1934) であり、着底以降発現すると述べている。本節では、飼育したカレイ科魚類の白化現象が両側の無眼側化であることを示したが、このことは白化魚の有眼側が無眼側同様着色により黒化する可能性を示唆している。事実、ヒラメ (青海, 1979a) やマコガレイ (花

田・福士, 1973) の白化魚では着底後成長と共に有眼側に黒色素が発現し、白化が部分的になることが観察されている。前述した既存の知見では、部分白化の観察に用いられた標本の多くが変態完了直後の個体でない。従って、本来は白化魚であった個体の有眼側が成長に伴い部分的に着色した可能性も考えられる。さらに、マガレイの白化魚や両面有色魚は摂餌機能等に問題があるため、着底後の生き残りが正常魚に比べてきわめて低い (長倉・有瀧, 1990)。そのため、本来の形態異常の発生状況を把握するには各タイプの出現率や両側の形質が確定した変態完了直後の個体を用いて比較・検討する必要がある。

飼育したカレイ科魚類の形態異常とは

変態は、動物界において節足動物や棘皮動物をはじめ様々な分類群で見られるものの、脊椎動物では魚類と両生類に限られる (田中, 1997)。吉里 (1990) は変

態を「幼生期の体制と生活様式が急激に変化して、成体の体制と生活様式を生み出す過程」と定義している。魚類の変態に関しては、様々な解釈がなされているが(内田, 1963; Youson, 1988; バロン・後藤, 1989), 概ね仔魚から稚魚への移行期に生態的な転機の準備として体機能と構造に起こる一大転換を指す(Kendall, 1984; 田中, 1997)。内田は(1963), 魚類の変態をイワシ型, ウナギ型, サバ型, カレイ型に区分し, 体各部の左右不相称をカレイ型変態の大きな特徴としてあげている。これらカレイ型変態に伴う左右不相称の発現は, 様々な部位で観察されているが(Norman, 1934; Amaoka, 1964; 落合, 1966; 加藤ら, 1974; 沖山, 1974; 置栖・遊佐, 1979; 青海, 1979b; Sakamoto, 1984; Bürgin, 1986; Brewster, 1987; 北島ら, 1987; Seikai *et al.*, 1987b; 青海, 1990; Seikai, 1992; Cooper and Chapleau, 1998), その意義は浮遊生活を送る仔魚期から稚魚期の底生生活への移行に伴って生ずる体構造の総合的な変化(松原ら, 1979; 岩井, 1985; 田中, 1997), すなわち両側の有眼側, 無眼側への分化として捉えることができる。今回, 飼育した8種のカレイ科魚類において変態後の両側の形質を観察した結果, 白化や両面有色魚で両側の無眼側化および有眼側化が確認された。先に述べたように, カレイ型変態では本来左右の体側が別々に無眼側と有眼側へ分化するものであることから, 飼育したカレイ科魚類に生ずる白化や両面有色は変態に関連した異常であると結論づけられる。以上のことから本研究では白化並びに両面有色を“変態異常”と称することを提唱する。

過去の研究では, 異体類の白化や両面有色を眼位の異常と体色の異常に区分して捉えることが多かったが(杉山ら, 1985; 北島ら, 1987; 陸谷, 1988; 早乙女・有瀧, 1988), 変態は体構造の組み替えであるから, これに伴う変態異常は各部が連動する, 全身の現象として捉えることがきわめて重要であろう。

第2章 飼育したカレイ科魚類における変態異常発現の決定時期

変態異常を防除するには, どの発育段階が変態異常発現に関与しているかを解明することがきわめて重要である。異体類の中で, 変態異常に関する試験・研究が先行して行われているヒラメでは, ブラジル産のアルテミアを給餌することにより, ほぼ全ての魚が白化魚になることが明らかにされている(Seikai *et al.*, 1985a)。青海ら(1987c)はこの結果を基に, 本種の白化の発現に関わる時期を検討し, 変態直前の発育ステージが最も感受性の高いことを明らかにした。

本章では, マガレイとホシガレイをモデルとしてブラジル産アルテミアの給餌開始時期を変えて飼育を行い, 白化魚の出現状況からカレイ科魚類における変態異常の決定時期を検討した。

材料と方法

供試魚および試験区の設定

1) マガレイ 1995年に日裁協能登島事業場で試験を行った(試験1)。試験には, 天然親魚を用いた自然産卵により採卵を行い, ふ化した仔魚を使用した。ふ化までの受精卵は採卵後9℃を目安に調温した水槽で3日間管理した。マガレイはおよそ全長5mm以降アルテミアの摂餌が可能となるため, 北米(ユタ)産アルテミア(UA)を5mmから給餌する対照区の他に, ブラジル産アルテミア(BA)を全長5~9mmの間の5段階で給餌開始する, 5試験区を設けた(Table 2-1, Fig. 2-1)。

2) ホシガレイ 2000年に日裁協宮古事業場で試験を行った(試験2)。試験には, 天然親魚を用いた人工授精により採卵を行い, ふ化した仔魚を使用した。ふ化までの受精卵は, 8℃を目安に調温した水槽で10日間管理した。試験区の設定はマガレイと同様であるが, アルテミアの摂餌が可能となる全長7mm以降に給餌サイズを設定し, UAのみを給餌する対照区の他にBAを全長7~22mmのまでの間の5段階で給餌する5試

Table 2-1. Outline of the rearing experiments for *Pseudopleuronectes herzensteini* and *Verasper variegatus* in chapter II

Lot no.	Species	Target size began to feed on BA* ¹ TL* ² mm	Method of fertilization	Beginning of experiment	Initial density of larvae (ind./KL)	Initial larval size Mean of TL* ² (SD) mm	Number of replicate
Exp.1	<i>Ps. herzensteini</i>	5, 6, 7, 8, 9	Natural spawning	18 Jan. 1995	10000	3.3 (0.98)	2
Exp.2	<i>V. variegatus</i>	7, 10, 13, 16, 19	Artificial fertilization	21 Feb. 2000	10000	5.1 (0.15)	2

*1 BA: *Artemia* nauplii of Brazil strain.

*2 TL: Total length.

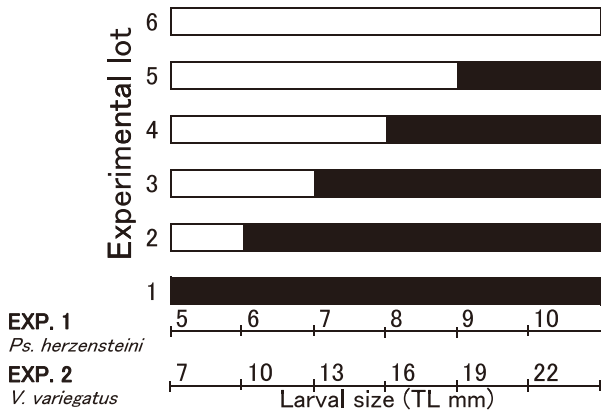


Fig. 2-1. Feeding schedule of *Artemia* nauplii applied for Exp. 1 (*Pseudopleuronectes herzensteini*) and Exp. 2 (*Verasper variegates*) during rearing period. ■: Brazilian strain *Artemia* nauplii, □: Utah strain *Artemia* nauplii.

験区を設けた (Table 2-1, Fig. 2-1)。

飼育条件

1) マガレイ ふ化仔魚は0.5kLの円形ポリエチレン水槽に10000尾/kLの密度で収容し、飼育を開始した。シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* (ワムシ) およびアルテミア (BA, UA) を餌料として用いた。ワムシは仔魚の開口直後から全長8mmまで3~5個体/mLを維持する量を朝夕与えた。ワムシの栄養強化としてアクアラン (200g/kL, 理研ビタミン kk.) を用い、給餌16時間前に添加した。アルテミアは、10~40万個体のBAとUAを各試験区の設定に従い、1日2回に分けて給餌した。アルテミアはBA, UAとも水槽に収容して24時間後に幼生を分離した。アルテミアの栄養強化としてパワッシュ A (100g/kL, オリエンタル酵母 kk.) を用い、給餌の16時間前に添加した。飼育水には、ナンノクロプシス *Nannochloropsis oculata* をおよそ150万細胞/mLになるよう1日2回添加した。飼育水温は18℃を目安に、飼育開始時の9℃から試験の設定水温まで、1℃/日の速度で升温した。仔魚飼育と餌料培養には砂ろ過海水を使用した。飼育開始当初から換水を行い、1日当たりの換水率をワムシ単独投与期には全体の50%、アルテミア投与開始以降には100%、着底開始以降には300%に設定した。飼育開始当初の通気は微量としたが、仔稚魚の成長とともに順次増加した。

2) ホシガレイ 飼育の条件は、アルテミアの栄養強化が、DH Ace (150g/kL, オリエンタル酵母 kk.) を用いたことおよび飼育水にはナンノクロプシスの代替として淡水クロレラ濃縮液 (*Chlorella* sp., フレッシュグリーン, 日清サイエンス kk.) を添加したこと

以外、マガレイと同様である。

飼育期間中の試料採取と観察

UAからBAへの給餌の切りかえ時期を決定するため、2~5日ごとに各飼育水槽から仔魚を採取し、全長の測定を行った。また、UAからBAへの給餌切りかえ時には、全ての試験区から無作為に50~60尾の仔稚魚を採集し、5%中性ホルマリン溶液で2日間固定後、70%エタノールに移して保存した。その後、有瀧ら (2001) に従って、ステージC (開口, 上屈前仔魚期), ステージD (尾鰭原基出現, 上屈前仔魚期), ステージE (上屈仔魚期), ステージF (変態前, 上屈後仔魚期), ステージG (変態開始, 上屈後仔魚期), ステージH (変態中期, 上屈後仔魚期), ステージI (変態完了, 稚魚期) の7段階に区分し、全長の測定を行った。また、発育進行状況の目安として各試験区の着底 (変態) 開始日を記録した。

飼育終了後の試料採集と稚魚の形態区分

全ての魚が着底を完了した時点で飼育を終了し、全個体 (約90~2630尾) を10%中性ホルマリン溶液で固定・保存した。標本は前章の Fig. 1-2 (ホシガレイ) および Fig. 1-6 (マガレイ) に従って正常, 白化, 両面有色の3タイプに分類した後、各タイプの出現率 (タイプの出現尾数/総尾数×100) を試験区ごとに算出した。また、BA給餌による影響を統計的に確認するため、白化魚の出現率をそれぞれ山田・北田 (1997) の方法にしたがって逆正弦変換した。等分散性を確認したのち、Tukey-Kramerの多重範囲検定法を用いて群間の有意差 ($P < 0.05$) を検定した。

結果

生残および発育, 成長

試験終了時の生残率および全長は、マガレイでは15.2~52.5%および10.8~14.1mm, ホシガレイでは8.8~71.3%および21.5~29.1mmと試験区ごとに大きく異なったが、両種ともBA給餌開始時期との関係は認められなかった。着底 (変態) 開始はマガレイでは20日, ホシガレイでは25日と26日であった。一方、着底が完了 (試験終了) するまでの期間はマガレイでは30~33日間, ホシガレイでは53~60日間であった。マガレイ, ホシガレイともに着底完了日には試験区によって一定の傾向は見られなかった。(Table 2-2)。

変態異常の出現状況

Figure 2-2に各試験区の白化魚, 両面有色魚, 正常魚の出現率を示した。マガレイにおける白化魚出現率は1~3区の約90%から6区の約40%へBA給餌開始時期が遅くなるにしたがって減少した。この傾向はホ

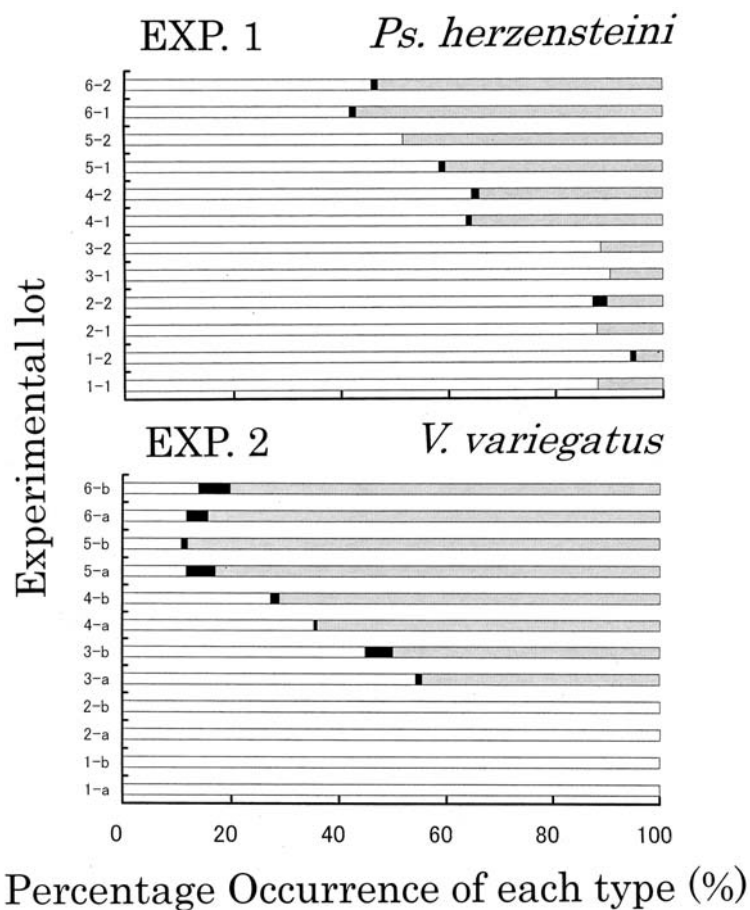
Table 2-2. Duration of rearing settlement age, survival rate and harvested fish size of rearing experiments of *Ps. herzensteini* and *V. variegatus* in chapter II

	Lot no.	Duration of rearing days	Settlement age DAH	Survival rate %	Harvested fish Mean TL*(SD) mm
Exp. 1					
<i>Ps. herzensteini</i>	1-1	30	20	19.6	11.5 (1.0)
	1-2	33	20	16.1	11.6 (1.3)
	2-1	30	20	52.5	11.6 (1.0)
	2-2	30	20	39.6	11.2 (0.7)
	3-1	30	20	14.0	12.0 (1.1)
	3-2	33	20	46.7	14.1 (1.8)
	4-1	33	20	15.6	12.5 (1.0)
	4-2	30	20	17.2	11.8 (1.0)
	5-1	33	20	43.3	12.4 (1.3)
	5-2	33	20	15.9	11.2 (1.0)
	6-1	30	20	15.2	10.8 (0.6)
	6-2	30	20	15.4	12.4 (1.1)
Exp. 2					
<i>V. variegatus</i>	1-a	60	26	27.7	23.7 (2.9)
	1-b	60	25	37.4	24.1 (2.5)
	2-a	60	26	32.5	24.0 (2.0)
	2-b	60	26	8.8	29.1 (4.4)
	3-a	60	25	16.7	23.9 (2.6)
	3-b	60	25	71.3	24.3 (2.5)
	4-a	53	26	23.7	25.4 (2.2)
	4-b	53	25	18.7	24.2 (2.2)
	5-a	53	26	37.6	21.5 (1.5)
	5-b	53	25	34.9	21.5 (1.5)
	6-a	53	25	43.3	24.5 (1.0)
	6-b	53	25	36.4	25.2 (1.0)

*TL: Total length.

Fig. 2-2. The percentage occurrence of each morphological type in Exp. 1 (*Pseudopleuronectes herzensteini*) and Exp. 2 (*Verasper variegatus*).

▨ : normal fish, ■ : ambicolorate fish, □ : pseudoalbino fish.



シガレイも全く同様で、1区および2区の100%から5、6区の約15%と段階的に減少した。両面有色魚の出現率は、マガレイでは0~2.6%、ホシガレイでは0~5.8%といずれもきわめて低く、またBA給餌開始時期との間に特徴的な傾向は認められなかった。正常魚の出現率は、白化魚と全く逆の傾向を示し、BAの給餌開始時期が遅くなるにつれて増加した。

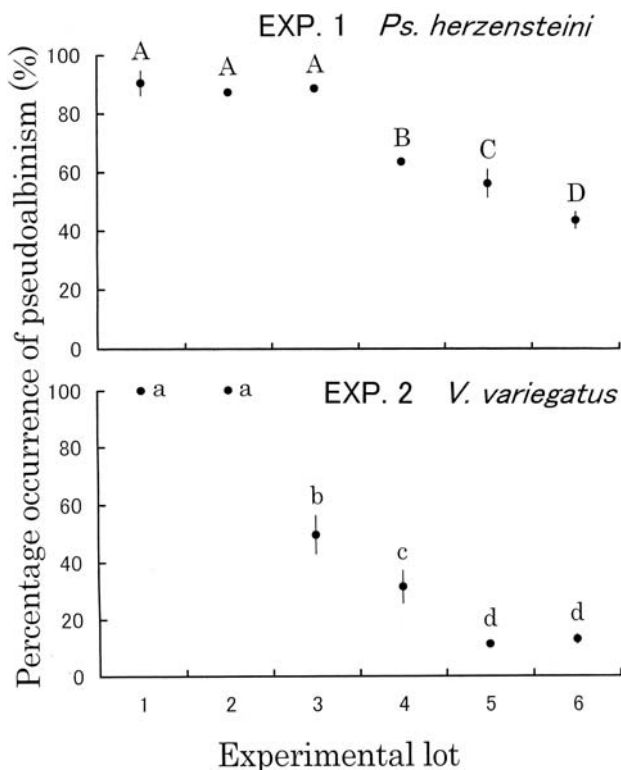
Figure 2-3に各試験区における白化魚の平均出現率および統計検定結果を示した。白化魚の出現率は、マガレイでは1、2、3区が90.5~87.4%とほぼ同じ値であったものの、4区以降63.1~43.7%まで大きく減少した。一方、ホシガレイは1、2区で100%であったものが、3、4区は56.2、37.0%と減少し5、6区で11.9、14.5%となった。これら試験区間の比較を行った結果、両種とも上記出現傾向が統計的にも確認された。

給餌開始時期の全長と発育ステージ

Figure 2-4に各試験区におけるBA給餌開始時の飼育魚の全長組成を示した。マガレイ、ホシガレイとも

Fig. 2-3. The percentage occurrence of pseudoalbino fish in Exp. 1 (*Pseudopleuronectes herzensteini*) and Exp. 2 (*Verasper variegatus*).

Vertical bar represents SD of the mean. a, b, c and A, B, C: Means with different letters are significantly different at 0.05 level within each percentage occurrence.



各試験区におけるBA給餌開始時の全長は、ほぼ設定したとおりの値を示した。また、給餌開始サイズが大きくなるほど組成の幅も広がっていた。組成のモード(範囲)は、マガレイで1区の5.0mm(4.5~5.5mm)から5区の8.0mm(6.0~11.0mm)、ホシガレイで1区の6.5mm(6.0~7.0mm)から5区の17.5mm(11.5~20.0mm)であった。

Table 2-3に各試験区におけるBA給餌開始時時の発育ステージ組成を示した。マガレイでは、1区がステージC、2区がステージD、3区がステージD、E、4区がステージE、F、5区がステージE~Iであった。ホシガレイでは、1区がステージC、2区がステージD、E、3区がステージD~G、4区がステージE~G、5区がステージF~Iであった。

考察

成長、生残

今回の試験において、マガレイ、ホシガレイ両種の着底開始日はマガレイではいずれの試験区も20日前後、ホシガレイでは25日前後と試験区間の差はほとんど見られなかった。ヒラメ(Seikai *et al.*, 1986)やマコガレイ(陸谷, 1988)では、浮遊期の飼育環境により成長・発育が異なり、着底、変態までの期間が大きく変動する。本研究において各試験区の着底開始日に大きな差が認められなかったことは、BAの給餌がマガレイおよびホシガレイの浮遊期仔魚の発育には大きな影響を及ぼしていないことを示唆している(Table 2-2)。また、試験終了時の全長および生残率は、ホシガレイ、マガレイとも同一試験区の2水槽間で異なる事例が見られた。しかし、これらの水槽間でも正常、両面有色、白化魚の出現率はほぼ同じであり、今回の試験において成長および生残は、変態後の形態決定に大きく影響していないと考えられる(Table 2-2, Fig. 2-2)。

BAの給餌と白化魚の出現

ヒラメでは、給餌したアルテミアの産地によって白化魚の出現率が異なり、BAを与えた区の稚魚はほぼ100%白化魚に変態することが確認されている(Seikai *et al.*, 1987a)。また、Seikai *et al.* (1987c)はBAの給餌時期を変えてヒラメの飼育を行い、変態開始直前の発育ステージが白化魚の出現に大きな意味を持つことを明らかにしている。

本研究においても、BAの給餌が白化魚の出現におよぼす影響はきわめて顕著であった。アルテミアの摂餌が可能となった時期(マガレイ;全長5mm、ホシガレイ;全長7mm)から変態完了まで継続してBA

を与えた場合、マガレイではほぼ90%、ホシガレイでは全ての魚が白化魚となった (Fig. 2-2)。さらに白化魚の出現状況には、BA の給餌開始時期と密接な関係が認められた。早期から BA を与えた試験区 (マガレイでは1~3区、ホシガレイでは1, 2区) では出現率が90~100%ときわめて高率であったのに対し、それ以降は給餌開始時期が遅れるにしたがって減少した (Fig. 2-3)。このことは、BA 給餌の影響がマガレイでは3区、ホシガレイでは2区までならば大部分の魚に及ぶが、それ以降の試験区ではマガレイ、ホシガレイともにBA の影響を受けない仔魚が一部に含まれてくることを示唆している (Figs. 2-1, 2-2)。

変態異常の決定時期

ほぼ全ての仔魚がBA の影響を受けたと考えられるマガレイの3区およびホシガレイの2区において、BA

給餌開始時の全長の最大値はマガレイが8 mm、ホシガレイが10mm、最も進んだ発育段階は両種ともステージEであった (Fig. 2-4, Table 2-3)。一方、BA の影響を受けなかった仔魚が含まれていると判断されるマガレイの4~5区、ホシガレイの3~5区においてはBA 給餌開始時期には、上記よりも全長が大きく、発育ステージの進んだ仔魚が含まれていた。また、その様な仔魚の比率が高くなるにつれて白化魚出現率は減少する傾向がある。特にステージEが全く含まれていなかったホシガレイの5区における白化魚の出現率は、BA を与えていない対照区と有意な差が認められなかった (Fig. 2-4, Table 2-3)。

以上のことからBA の給餌は、マガレイではおよそ全長8 mm、ホシガレイでは全長10mm、また両種とも発育ステージではEまでであれば白化出現に影響を及

Fig. 2-4. Length-frequency distributions of Exp. 1 (*Pseudopleuronectes herzensteini*) and Exp. 2 (*Verasper variegatus*) in each experimental lot began to feed on Brazilian strain *Artemia* nauplii.

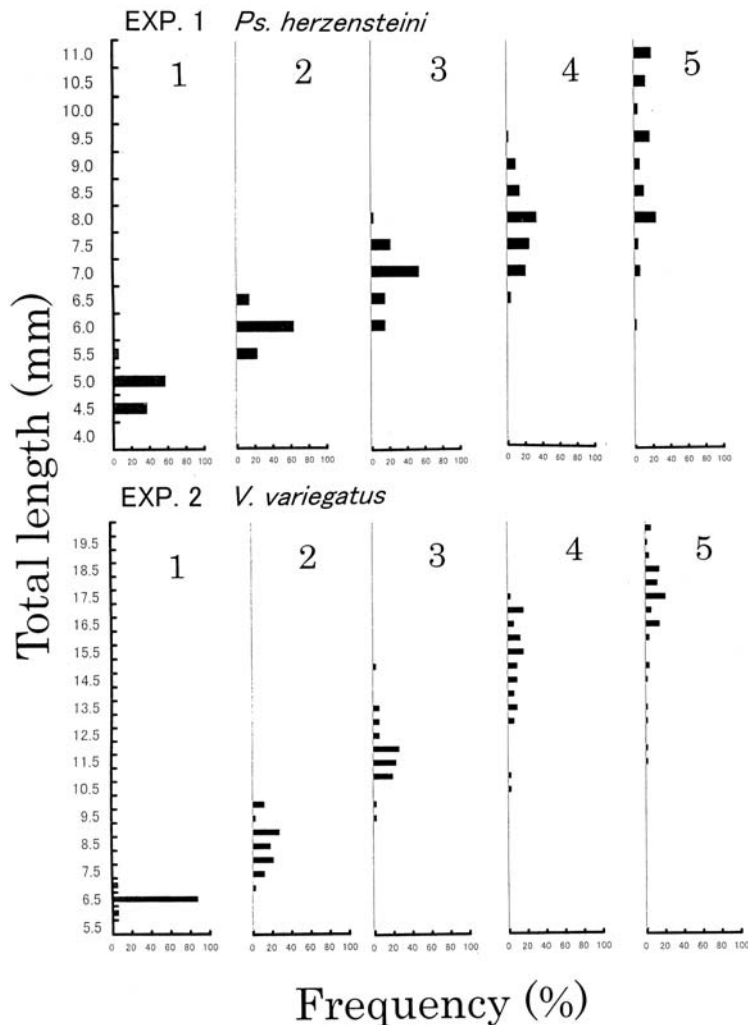


Table 2-3. Developmental stage composition of each experimental lot at the beginning of BA* feeding

	Stage	Experimental lot				
		1	2	3	4	5
Exp. 1						
<i>Ps. herzensteini</i>	C	100				
	D		100	15.8		
	E			84.2	70.0	10.0
	F				30.0	10.0
	G					50.0
	H					15.0
	I					15.0
	Exp. 2					
<i>V. variegatus</i>	C	100				
	D		84	3.3		
	E		16	20.0	6.5	
	F			70.0	19.4	8.2
	G			6.7	74.1	18.3
	H					47.0
	I					26.5

* BA: *Artemia* nauplii of Brazil strain.

ほすが、それ以上に成長・発育した仔魚では影響しないと判断される。すなわち、両種ともステージF以降の仔魚ではすでに変態後の形態が決定している可能性が高い。

著者は前章でカレイ科魚類の白化魚は変態の異常であることを明らかにしたが、上記試験において得られたBA給餌による白化魚出現率の増加は、BAがマガレイおよびホシガレイの変態に対し大きな影響を与えていることを示唆している。また、両種に共通したBA給餌効果の『変曲点』であることが明らかとなったステージE, Fは、マガレイやホシガレイの変態や変態異常の発現に大きな意味を持つ時期であると推察される。

両種ともステージFは、脊索末端の上屈終了から、眼球の移動開始直前までの上屈後仔魚である。脊索末端の上屈が終了すると尾鰭鰭条が定数に達し、尾鰭の形成が概ね完了する。また、消化管が下方に垂下し腹部は著しく膨出する。これらに伴い体高は増加し、異体類特有の体型が形成される。ホシガレイでは、比成長の変曲点や着底の開始（有瀧ら, 2001）、胃腺をはじめとした消化系の発達（堀田ら, 2001a）、塩分耐性の獲得（堀田ら, 2001b）、変態ホルモンの分泌量増加（堀田ら, 2001a）等の変化が変態直前のステージFに集中する。これらは変態前の仔魚において、すでに内部形態や生態的機能が着底・変態に向けて分化しつつあることを示唆している。先に、ヒラメでは変態直前の発育ステージでBAの感受性が高いことを述べたが、

今回のカレイ科魚類2種の知見を含め総合的に判断すると、多くの異体類において変態直前、とくにステージFで変態後の形態が決定している可能性が高いと考えられる。

第3章 飼育したカレイ科魚類の変態異常と仔魚の成長および発育

前章までにカレイ科魚類の変態異常を現象面から検討し、発現の決定時期について明らかにしてきた。本研究の冒頭に述べたようにカレイ科魚類の多くは、古くから栽培漁業の対象種として取りあげられてきたものの、どの種においても変態異常が出現し問題となってきた。これらカレイ科魚類における変態異常に関して、マコガレイでは飼育水温と異常魚の出現状況の関係が検討されている。しかし、他種では全く検討されておらず、変態異常発生の機序については明らかになっていない。本章では、浮遊期間、各発育ステージの平均サイズ、生態的特性が異なるマガレイ、ホシガレイ、ババガレイを供試魚として用いた。それぞれの仔魚を様々な水温で飼育し、変態異常の出現に及ぼす影響を明らかにするとともに、その原因のひとつとして考えられる仔魚期の成長・発育との関係を検討した。さらにそれぞれの魚種について天然魚と飼育魚の発育状況を比較し、変態異常の発現機序についてその一端を明らかにすることを目的とした。

Table 3-1. Outline of the rearing experiments for Pleuronectidae reared under various water temperatures in chapter III

Lot no.	Species	Target temperature(°C)	Method of fertilization	Beginning of experiment	Initial density of larvae (ind./KL)	Number of replicate
Exp. 1	<i>Pseudopleuronectes herzensteini</i>	6, 9, 12, 15, 18, 21, 24	Natural spawning	8 Mar. 1994	14000	2
Exp. 2	<i>P. herzensteini</i>	6, 9, 12, 15, 18, 21	Natural spawning	18 Jan. 1995	10000	1
Exp. 3	<i>Verasper variegatus</i>	10,12,14,16,18	Artificial fertilization	5 Feb. 1998	10000	1
Exp. 4	<i>V. variegatus</i>	9,12,15,18,21	Natural spawning	26 Feb. 1999	20000	2
Exp. 5	<i>V. variegatus</i>	9,12,15,18,21	Artificial fertilization	21 Feb. 2000	10000	2
Exp. 6	<i>Microstomus achne</i>	9,12,15,18,21	Natural spawning	21 Mar. 1996	10000	1

材料と方法

供試魚および試験区の設定

マガレイは日裁協能登島事業において1994年（試験1）、1995年（試験2）に、ホシガレイは、同宮古事業場において1998年（試験3）、1999年（試験4）、2000年（試験5）に、ババガレイは同能登島事業場において1996年（試験6）にそれぞれ試験を行った。Table 3-1に示すように各試験は天然魚からの人工授精または自然産卵により採卵を行い、ふ化した仔魚を使用した。また、同表に示したようにそれぞれ5～7段階の水温で飼育を行う試験区を設けた。

飼育条件

受精卵は、採卵後直ちに8～9℃に調温した水槽に収容し、マガレイでは7日間、ホシガレイではおよそ8日間、ババガレイでは13日間、ふ化まで管理した。ふ化仔魚は、Table 3-1に示した密度になるようポリカーボネイト製円形0.5kL水槽へ収容し、飼育を開始した。

仔稚魚の餌料には3魚種とも、ワムシ、アルテミアを用いた。ワムシは仔魚の開口直後から、マガレイとホシガレイでは全長8mmまで、ババガレイでは全長13mmまで、3個体/mLを維持するように与えた。ワムシの栄養強化のため、試験1、2ではスーパーロティファー（4g/1000万個体、ヒガシマルkk.）、試験3ではフェオダクチラム *Phaeodactylum spp.*（100～150万細胞/mL）、試験4、5ではプラスアクアラン（100g/kL、武田化学飼料kk.）、試験6ではアクアラン（200g/kL、理研ビタミンkk.）を給餌16時間前に添加した。

アルテミアは、マガレイでは仔魚の全長が5mmを越えた時点から、ホシガレイでは全長7mmから、ババガレイではワムシの摂餌を確認してから、それぞれ10～60万個体を1日2回に分けて試験終了まで与えた。アルテミア耐久卵は、北米産のものを用い、卵収

容24時間後に分離した。アルテミアの栄養強化のため、試験1、2ではスーパーアルテミア（10g/1000万個体、ヒガシマルkk.）、試験3ではDH Ace（150g/kL、オリエンタル酵母kk.）、試験4、5ではプラスアクアラン（100g/kL、武田化学飼料kk.）、試験6ではパウッシューA（50g/kL、オリエンタル酵母kk.）を給餌の16時間前に添加した。

ワムシ給餌期間中、試験1、2、6の飼育水には、1日1回ナンノクロロプシスを50万細胞/mLになるよう、試験3～5には市販の淡水クロレラ濃縮液（フレッシュグリーン、日清サイエンスkk.）を1日当たり20mL添加した。飼育水の調温には0.5kwおよび1.0kwの投げ込み式ヒーター（日東機材kk.）と2.2kwの小型冷却機（TC-2200E、山一製作所kk.）を用いた。飼育開始時の8～9℃から設定水温までは、1℃/1日の速度で上昇させた。仔魚飼育と餌料培養には濾過海水を使用した。水槽内には、飼育開始当初からごく微量の通気・注水を施した。通気量は期間中一定に保ったが、水槽への注水は、1日当たり全体の50%から、アルテミア給餌開始以降は100%、仔魚が着底して以降は300%を目安に順次増加した。

成長と発育の観察

試験1、3～6では、発育・成長に関する観察を行った。試験1ではふ化直後から47日目までは2日間隔、それ以降65日目までは3日間隔で、試験3～6では原則としてふ化直後から5日間隔で、それぞれ無作為に25尾の仔稚魚を採集した後、10%エチレングリコールモノフェニルエーテルを用いて麻酔を施し、万能投影機とノギスで全長を計測した。

試験1、4、6については測定に用いた仔稚魚を5%中性ホルマリン溶液に2日間固定後、70%エタノールに移して保存した。これらの試料は、飼育終了後に有瀧ら（2000, 2001）有瀧・田中（2003）に従って発育ステージを区分した。また、各試験区の着底開始ス

テージを確認し、全長測定をあわせて行った。それぞれの試験区における着底開始時の全長は、水温の影響を確認する目的で低水温（15℃以下）、中水温（15℃）、高水温（15℃以上）の3群間で平均値を算出した。平均値は、Tukey-Kramerの多重範囲検定法を用いて群間の有意差（ $P < 0.05$ ）を検定した。

稚魚の形態区分

全ての魚が着底を完了した時点で試験を終了し、全個体を10%中性ホルマリン溶液で固定・保存した。標本はFig. 1-2（ホシガレイ）、Fig. 1-3（ババガレイ）、Fig. 1-6（マガレイ）に従って正常魚（タイプA）、白化魚（タイプB、B'）、両面有色魚（タイプC）に分類した後、各タイプの出現率（タイプの出現尾数/総尾数×100）を試験区ごとに算出した。繰り返し試験を行ったマガレイ（試験1～2）とホシガレイ（試験3～5）の各タイプの出現比率は、水温による影響を統計的に確認するため、前者は水温ごとに、後者は5群（9～10℃、12℃、14～5℃、16～18℃、21℃）にまとめ、山田・北田（1997）の方法にしたがって逆正弦変換した。等分散性を確認したのち、Tukey-Kramerの多重範囲検定法を用いて群間の有意差（ $P < 0.05$ ）を検定した。

マガレイ天然稚魚の発育と成長

マガレイの天然海域における発育・成長とふ化後日数の関係を検討する目的で、耳石の輪紋数を観察した。1994年4月23日～6月17日に新潟県岩舟沖、水深25～70mで得られた天然稚魚20尾を供試魚とした。魚体から有眼側の鞆石を取り出しエポキシ樹脂で包埋後、ラッピングフィルム（マルトー製、1～9μm）で研磨し、0.1規定EDTA溶液で30秒エッチング処理後、生物顕微鏡下で計数した。計数は3回行い、その平均値を輪紋数とした。

結果

飼育の概要

1) マガレイ 試験1および試験2終了時の生残率は、0～83.4%と試験区によって大きく異なったが、全体としては設定水温の両端で低くなった。特に21℃の1水槽と24℃の2水槽では、試験途中で全ての個体が死亡した（Fig. 3-1）。

飼育途中の成長過程は試験1においてのみ検討した。開始時に平均全長3.0mmであったふ化仔魚は、全ての稚魚が着底した試験終了時には、平均全長10.0～12.3mmまで成長した。飼育日数、即ち変態までの日数は、飼育水温の上昇とともに短くなった。着底まで飼育できた試験区のうち飼育期間が最長であったのは

Fig. 3-1. Relationship between water temperature and survival rate at the end of the each rearing experiment.

● : EXP. 1, ○ : EXP. 2, ▲ : EXP. 3, △ : EXP. 4, ■ : EXP. 5, □ : EXP. 6.

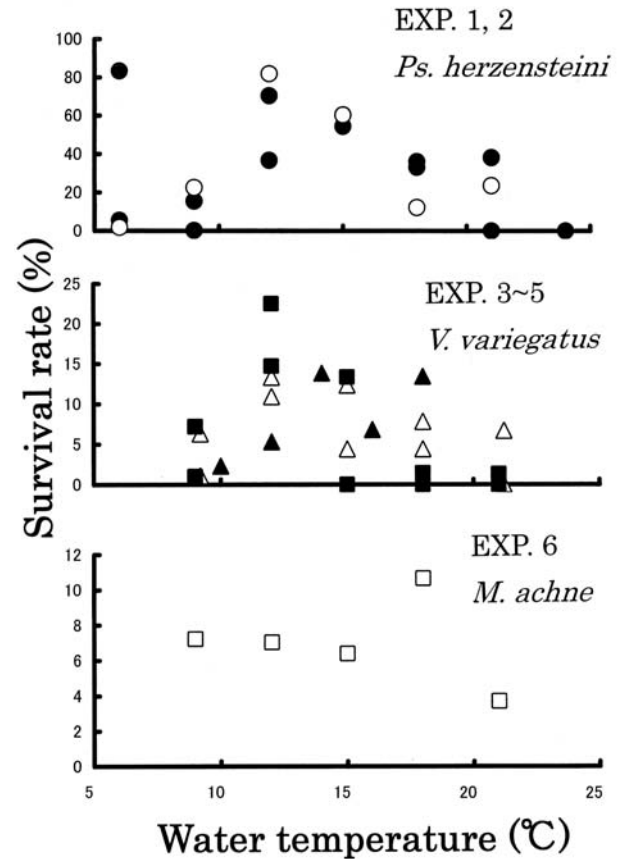
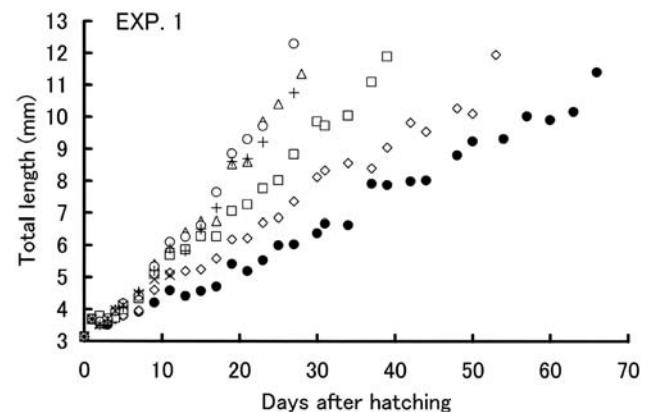


Fig. 3-2. Growth of the brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini* reared at 7 different temperatures.

● 6℃, ◇ 9℃, □ 12℃, △ 15℃, ○ 18℃, + 21℃, × 24℃.



6℃の66日間で、最短は18℃の26日間であった。成長は15℃と18℃が最も良好で、21℃と24℃ではむしろ低下した。また、12℃以下の試験区での成長は、設定水

温が低くなるにつれて順次遅れた (Fig. 3-2)。

2) ホシガレイ 試験3~5終了時の生残率は、10℃以下と20℃以上で低くなる傾向が認められた (Fig. 3-1)。特に試験4と試験5の15℃より高い水温区では着底完了以前に全個体が死亡する水槽が見られた。

3 回行ったいずれの試験においても設定水温が高く

Fig. 3-3. Growth of the spotted halibut *Verasper variegatus* reared at 5 different temperatures.

◆ 10℃, ■ 12℃, ▲ 14℃, ● 16℃, * 18℃.
◇ 9℃, □ 12℃, △ 15℃, ○ 18℃, + 21℃.

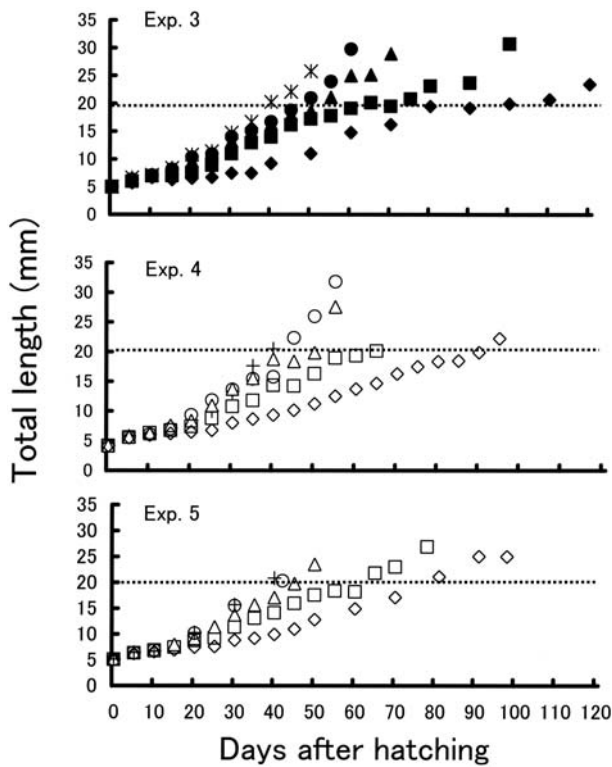
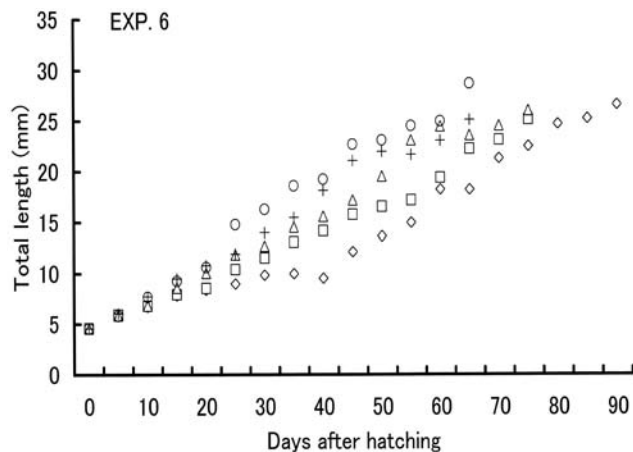


Fig. 3-4. Growth of the slime flounder *Microstomus achne* reared at 5 different temperatures.

◇ 9℃, □ 12℃, △ 15℃, ○ 18℃, + 21℃.

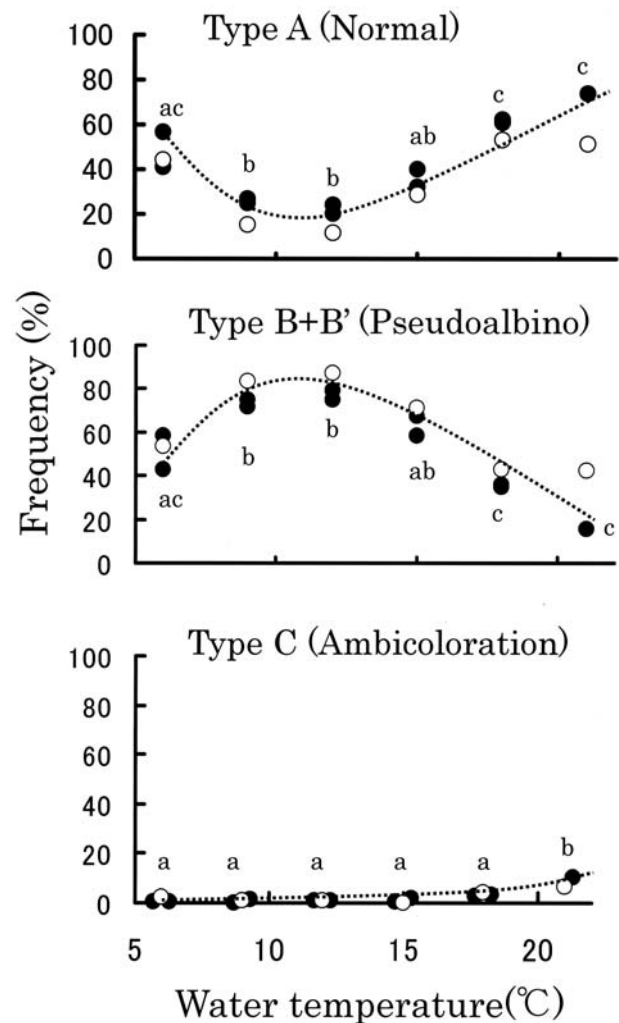


なるにつれて成長は促進された (Fig. 3-3)。平均全長20mmを上回るのに要した日数は、水温9~10℃で80~110日、12℃で65~75日、14~16℃で50~55日、18~21℃で40日前後と高水温ほど短かった。また、飼育終了まで、即ち着底完了までに要した日数は21℃が最も短く43日、9℃が最も長く95日であった。

3) ババガレイ 試験終了時の生残率は、最も高い18℃でも10.6%と全般に低かったが、特に21℃では3.6%と最低の値を示した (Fig. 3-1)。9~18℃では水温の上昇と共に成長の促進が観察された。一方、21℃

Fig. 3-5. Relationships between rearing temperatures and frequency occurrences of Type A (normal), Types B and B' (pseudoalbino), and Type C (ambicolorate) juveniles in the laboratory-reared brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini* juveniles. Means with different letters (a, b, c) show significant difference at 0.05 level within each stage (Tukey's multiple comparison test).

● : Exp. 1, ○ : Exp. 2.



では飼育25日目以降、18℃よりも常に小さかった (Fig. 3-4)。全ての仔魚が変態を完了するまでに要した日数は、最短で18℃の70日、最長が9℃の91日であった。

変態異常の出現状況

1) マガレイ 飼育試験2における各タイプの出現率は、ほぼ同様の傾向を示した (Fig. 3-5)。また、同一水温で2水槽を設定した試験1では、水槽間でほとんど相違がなかった。正常魚の出現率はU字型を示し、水温が9~12℃で約20%と最も低くなり、その前後で高くなった。この傾向は高い水温で顕著に現れ、試験1の21℃では73.8%と最高値を示した。一方白化魚の出現率は、正常魚とは全く逆の傾向を示した。つ

まり飼育水温が9~12℃で約80%と最も高く、その後で低く全体として緩やかなドーム型を呈した。両面有色魚は全般的に出現率が低く、どの試験区においても20%以下であったが、21℃でやや高くなる傾向が見られた。各タイプの出現率について水温間の多重比較を行った結果、上記出現傾向が統計的にも確認された。

2) ホシガレイ 各タイプ出現率の水温による増減傾向は飼育試験3~5を通してほぼ同様であった (Fig. 3-6)。正常魚の出現率は水温が9℃付近では約50%であったが、18℃では約80%と最も高くなった後、それ以上の温度帯では低下し、21℃では20%前後となった。白化魚の出現率は12℃で約40%と最高値を示し

Fig. 3-6. Relationship between water temperature and occurrence of type A (normal), type B and B' (pseudoalbino), and type C (ambicolor) juveniles of the laboratory-reared spotted halibut *Verasper variegatus*.

Means with different letters (a, b, c) show significant difference at 0.05 level within each stage (Tukey's multiple comparison test).

▲ : Exp. 3, ● : Exp. 4, ○ : Exp. 5.

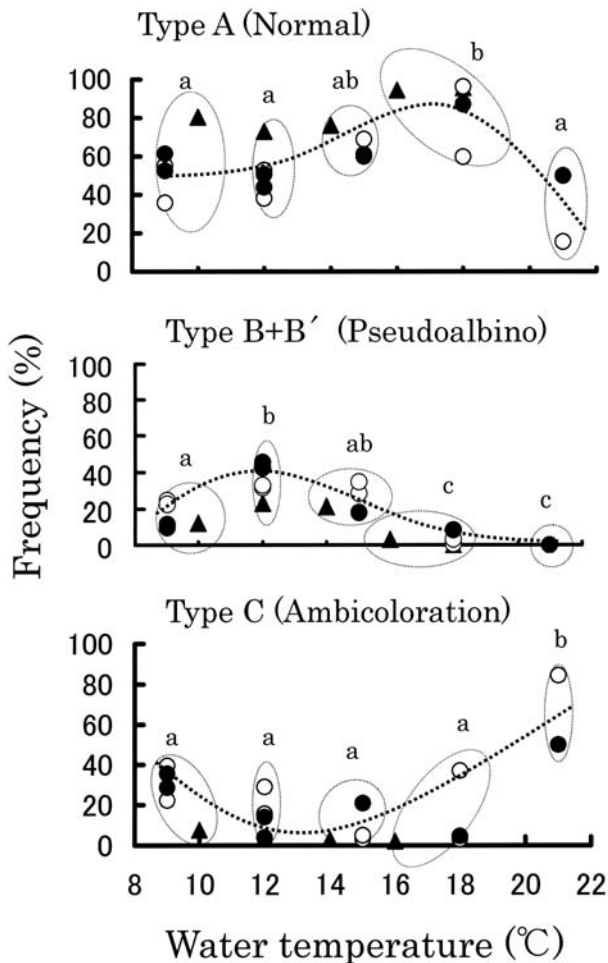
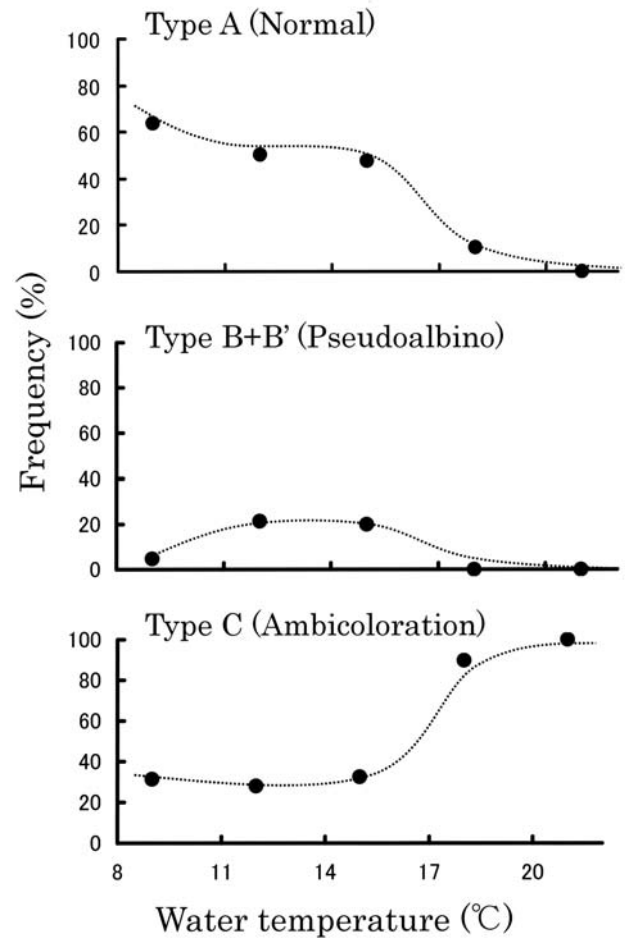


Fig. 3-7. Relationship between water temperature and occurrence of type A (normal), type B and B' (pseudoalbino), and type C (ambicolor) juveniles of the laboratory-reared slime flounder *Microstomus achne*.

● : Exp. 6.



たが、9℃や21℃の出現率はそれぞれ約20%、0%と下がり、マガレイ同様、緩やかなドーム型を呈した。両面有色魚の出現率は、白化魚とは逆にU字型を示し、21℃近辺で50-85%と最高値を示した。グループ間の多重比較を行った結果、上記出現傾向が統計的にも確認された。

3) ババガレイ 正常魚の出現率は水温が低くなる

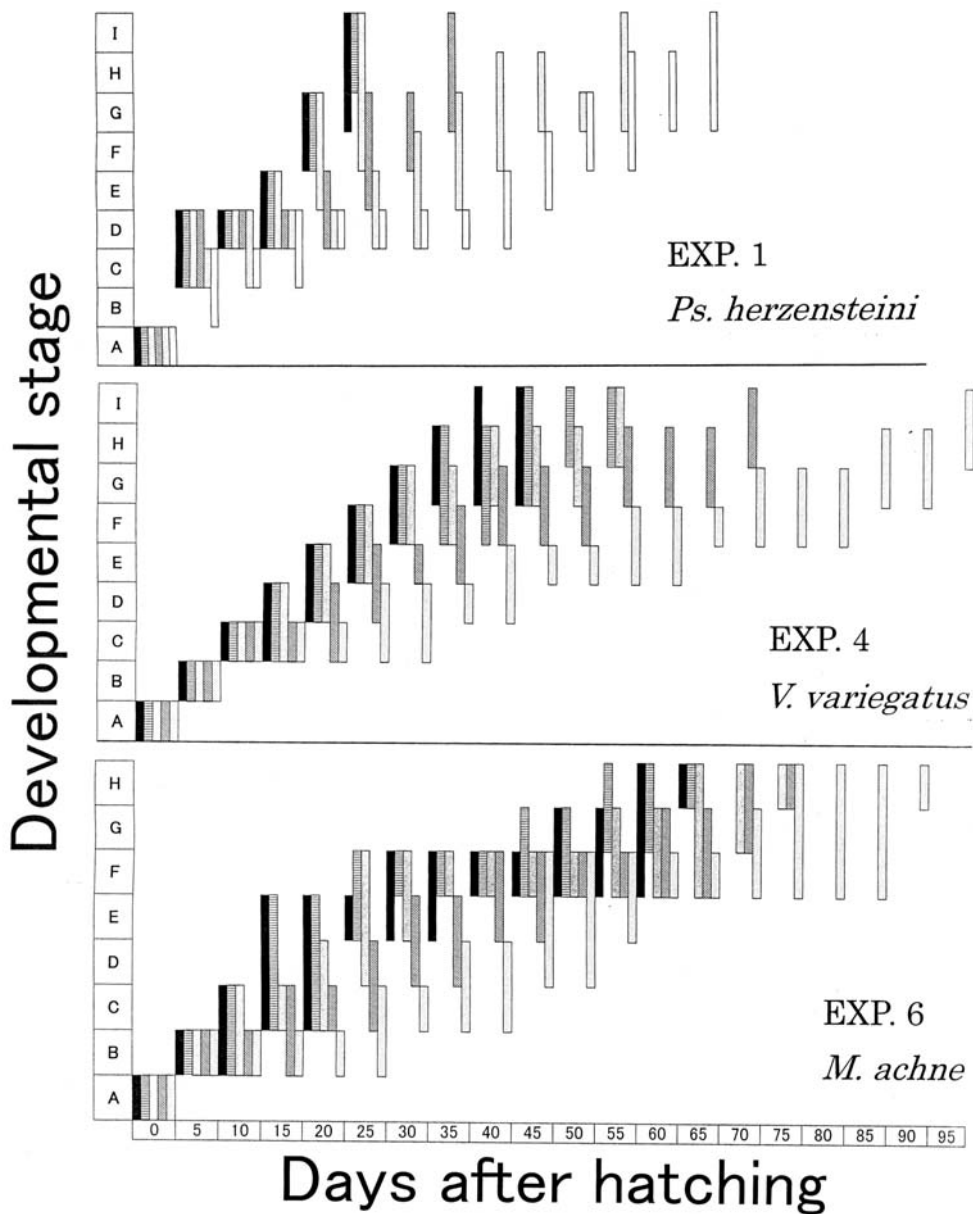
ほど高く、9℃で約60%と最高値を示した。白化魚の出現率は全体的に低かったが、水温12~15℃で約20%とピークを示した。両面有色魚の出現率は正常魚と全く逆の傾向を示し、水温21℃で約90%と最も高くなった (Fig. 3-7)。

発育段階の進行

発育段階の進行はマガレイでは試験1、ホシガレイ

Fig. 3-8. Changes in developmental stage (A - I) composition at 5-day intervals in larvae and juveniles of brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*, spotted halibut *Verasper variegatus* and slime flounder *Microstomus achne* under 5-6 different water temperatures in Exp. 1, 4, 6.

■: 21℃, ▨: 18℃, ▩: 15℃, ▪: 12℃, ▫: 9℃, □: 6℃.

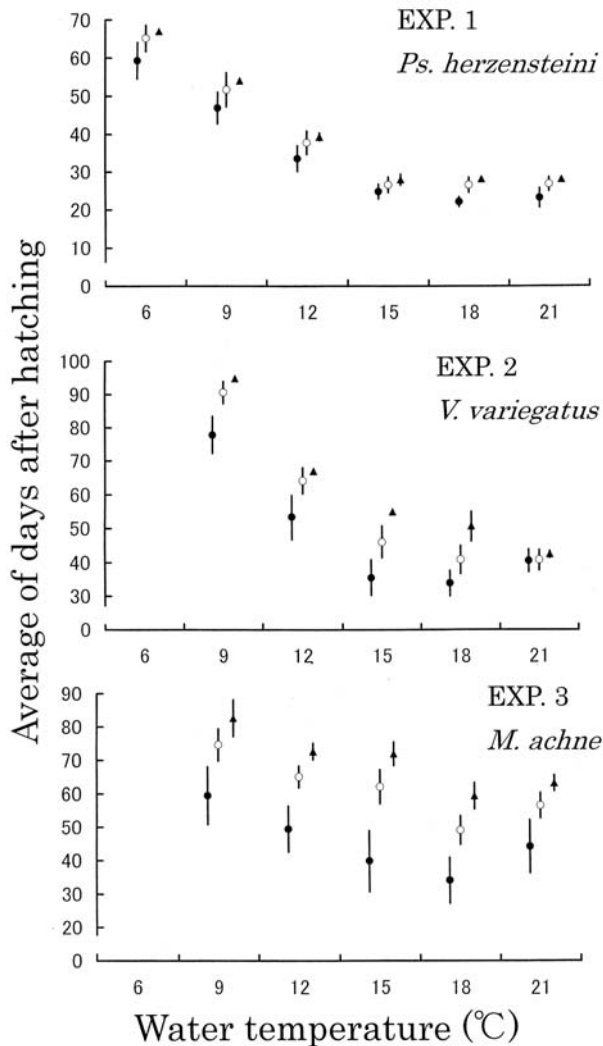


では試験4, ババガレイでは試験6についてのみ検討を行った。

1) マガレイ 開口および尾鰭原基の発現するステージC, Dまでは, 各発育段階の進行は9℃を除いて大きな差異は認められなかった (Fig. 3-8)。それ以降のステージでは水温の高い区で早くなり, 特に水温12

Fig. 3-9. Average age when the three metamorphic stages appeared in the laboratory-reared larvae and juveniles of the brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*, spotted halibut *Verasper variegatus* and slime flounder *Microstomus achne* under different temperatures.

● : early phase of metamorphosis (stage G; *Ps. herzensteini* and *V. variegatus*, stage F; *M. achne*), ○ : late phase of metamorphosis (stage H; *Ps. Herzensteini* and *V. variegatus*, stage G; *M. achne*), ▲ : metamorphosed juvenile (stage I; *Ps. Herzensteini* and *V. variegatus*, stage H; *M. achne*),. Vertical bar represents SD of the mean.



℃以上の試験区で顕著であった。

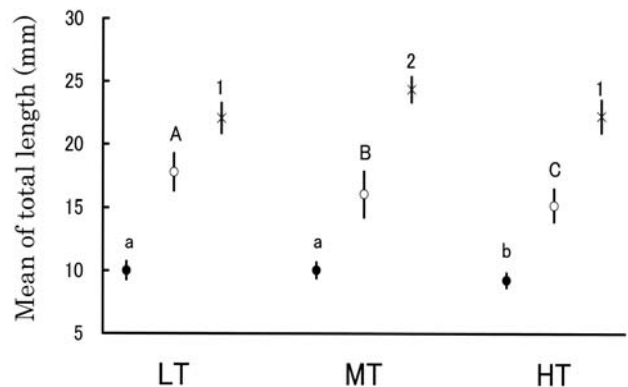
また, 体構造に大きな変化が起こる変態期 (ステージG~I) までの平均出現日数は, 6℃では59~67日, 18℃では21~28日と水温の上昇によって短縮化した (Fig. 3-9)。しかし, 21℃では18℃よりごくわずかに遅くなった。着底は変態初期 (ステージG) に始まったが, その時の全長は高水温でわずかに小さくなった (Fig. 3-10)。全長の平均値は, 9.76mm (9.13~10.14mm) であった。

2) ホシガレイ ステージC (開口期) までの発育段階の進行には, 水温区間の差異は認められなかった (Fig. 3-8)。しかし, それ以降のステージでは飼育水温の高い試験区ほど早期に発育段階が進む傾向があり, 特に15℃以上の試験区で顕著であった。変態期にあたる各発育段階 (ステージG~I) の平均出現日は, 9℃では79~95日, 18℃では34~50日と水温の上昇と共に早くなった。しかし, 21℃では18℃に比べてやや遅れ変態開始が40日, 変態完了までが42日となり, 変態期間がきわめて短くなっていった (Fig. 3-9)。着底はマガレイ同様変態初期 (ステージG) で始まったが, その時の全長は高水温ほど小さい傾向が認められた (Fig. 3-10)。全長の平均値は, 13.45mm (12.12~14.56mm) であった。

3) ババガレイ ステージB (開口) までの発育段

Fig. 3-10. Total length of the settlement stage first appeared in the laboratory-reared juveniles of the brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*, spotted halibut *Verasper variegatus* and slime flounder *Microstomus achne* under different temperatures. Vertical bar represents SD of the mean. Means with different letters (a, b, c, A, B, C, 1, 2, 3) show significant difference at 0.05 level within each stage (Tukey's multiple comparison test).

● : *Ps. Herzensteini*, ○ : *V. variegatus* * : *M. achne*. LT : low temperature (16-14°C), MT : mid temperature (15°C), HT : high temperature (16-21°C).



階の進行には、水温区間の差異は認められなかった。しかし、それ以降のステージでは水温の高い試験区で早く、特に15℃以上の試験区で顕著であった (Fig. 3-8)。変態期にあたる各発育段階 (ステージ F~H) の平均出現日は、9℃では59~83日、18℃では33~59日と水温の上昇と共に早くなった (Fig. 3-9)。また、21℃では43~63日となり、18℃よりもやや遅れた。着底は、マガレイ、ホシガレイより遅い変態中期 (ステージ G) に始まったが、その時の全長にはマガレイやホシガレイのように水温による傾向は認められなかった (Fig. 3-10)。全長の平均値は、22.5mm (21.84~24.38 mm) であった。

マガレイ天然稚魚の耳石輪紋数

観察した天然稚魚の概要を Table 3-2に、全長と耳石輪紋数の関係を Fig. 3-11に示した。

耳石輪紋数は全長サイズが大きくなるにつれて増加し、全長10mm では約20本であったものが全長20mm では30本、30mm では50本前後となった。また、輪紋数と全長の関係式は $Y=1.6616X+0.515$ (Y= 輪紋数, X= 全長) の回帰直線で表すことが可能であった。この式から全長 5, 10, 20, 30mm における輪紋数は、8.8, 17.1, 33.7, 50.4本であると推定された。

Table 3-2. Collection record of *Ps. herzensteini* juvenile captured in off Iwafune area in Niigata

Collection date	Depth (m)	TL *1 (mm)	BL *2 (mm)
23 Apr. 1994	20	10.7	9.5
17 May 1994	38	13.5	11.9
17 May 1994	38	11.2	10.1
18 May 1994	40	16.1	14.9
20 May 1994	35	29.4	27.0
20 May 1994	35	29.4	25.8
20 May 1994	35	14.8	13.5
20 May 1994	35	15.0	12.7
20 May 1994	35	12.0	11.1
20 May 1994	35	18.7	15.4
20 May 1994	35	12.0	10.7
20 May 1994	35	21.0	17.9
20 May 1994	35	17.0	14.8
20 May 1994	35	18.1	15.7
20 May 1994	35	17.0	13.6
20 May 1994	35	20.0	17.9
20 May 1994	35	19.0	16.8
20 May 1994	35	15.7	13.8
20 May 1994	35	20.5	17.2
17 June 1994	60	26.2	23.1

*1 TL: Total length.

*2 BL: Body length.

考察

仔魚の成長発育と水温

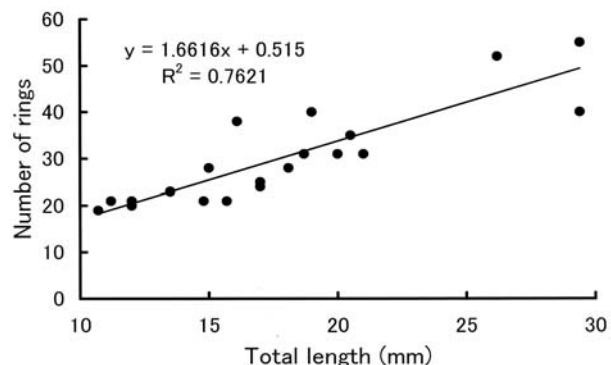
変温動物の成長および発育は、経験する水温に大きく影響されることが魚類 (Chamber and Leggett, 1987; Chamber and Leggett, 1992; 田中, 1993) や甲殻類 (井上, 1988; 中西, 1988), 軟体類 (Hamasaki and Morioka, 2002) で明らかにされている。異体類はヒラメやマコガレイで飼育試験が行われ、ヒラメを13, 16, 19℃で飼育した場合、全長20mm までの到達日数および発育段階を経過する必要日数は水温が高い方で短く、後期仔魚期の日間成長量は水温が高い方で大きい (Seikai *et al.*, 1986)。また、マコガレイを飼育水温 10, 14, 18℃で飼育した場合でも、水温が高くなるほど発育の進行が速く、日間成長量は14, 18℃が10℃区の1.6倍および1.9倍となった (陸谷, 1988)。今回マガレイ、ホシガレイ、ババガレイの3種を用いて水温別の飼育試験を行った結果、成長および発育は既存の知見と同様に高水温で促進、低水温で遅滞することが確認された (Figs. 3-2~3-4, 3-8, 3-9)。以上のことから、本研究で対象としたカレイ科魚類3種についても水温によって成長、発育が大きく影響されることは明らかである。

水温と変態異常の関係

本研究では、対象とした3魚種全てで白化魚と両面有色魚の出現率と飼育水温との間に一定の傾向が認められた。すなわち、白化魚は全ての魚種が12℃付近を頂点とする凸型、両面有色魚は全ての魚種が18~21℃付近を最高値とするU字型となって出現することが確認された。

さらに、この傾向はマガレイとホシガレイにおいて複数年 (試験1と試験2および試験3~5) でほぼ共通して見られていることに加え、同じ年の同一水温区

Fig. 3-11. Relationships between the total length and number of rings at sazitta of the wild brown sole *Pleuronectes herzensuteini* juveniles.



の2水槽間では類似した傾向が得られているため、再現性も高いと判断される (Figs. 3-5~7)。

以上のことから、上記3魚種では飼育水温が変態異常の出現頻度に大きな影響を及ぼすことは明らかである。水温と変態異常出現の関連性は、マコガレイ (睦谷, 1988) でも報告されており、異体類に広く見られる現象である可能性が高い。第1章でカレイ科魚類の変態異常は、変態期に発現する左右不相称の異常である可能性を指摘したが、本試験で得られた結果は、水温が変態期の両側の分化方向を決定する外的要因の一つであることを強く示唆している。

発育・成長のバランスと変態異常の出現

前節で述べたように、本研究で供した3魚種の変態後の形態は水温によって左右される。また、飼育水温は発育や成長にも大きな影響を与えることから、変態後の形態は発育や成長、とりわけそのバランスとも密接に関係すると推察される。

マガレイとホシガレイでは、全ての個体が着底するまで飼育できた試験の生残率は9℃や21℃などの水温では低く、12~15℃では高い傾向を示した。また、正常な形態を持つ個体の出現率はマガレイでは21℃、ホシガレイでは15~18℃で最も高くなった。一方、天然海域においてマガレイおよびホシガレイの仔魚は、おおむね8~10℃前後の低水温下で生活すると報告されており (富永ら, 1991; 内田, 1933)、両魚種とも変態が正常に行われる飼育適水温と生息水温には大きなギャップが生じている。

異体類の変態は生態、形態に著しい変化が生じる転換期であり (松原ら, 1979; 岩井, 1985; 田中, 1997)、初期発育の進行を観察する場合にも大きな指標となる。本試験では、飼育水温が各魚種の発育に及ぼす影響を変態期のステージG(変態開始期)、ステージH(変態中期)ステージI(変態完了期)の平均出現日で比較した (Fig. 3-9)。その結果、マガレイおよびホシガレイで正常魚が多く出現する18℃と21℃、15℃と18℃では変態期間はおおむね同様であり、前者は20~28日、後者は34~55日に出現のピークを示している。しかし、ホシガレイでは高水温の21℃で飼育すると、変態開始が40日前後と15℃や18℃に比べてやや遅れ、また変態完了までの期間はきわめて短くなっていた。一方、両種とも低水温の6℃や9℃では変態期間がふ化後54日から67日および79日から95日と著しく遅延し、かつ長期化した。ババガレイではこれら2種とは異なり、正常魚は9℃で最も多く出現したが、変態期は68~83日と最も長く、かつ遅くなっていた。水温と変態後の形

態との関係を3魚種で比較すると、全ての魚種で白化魚および両面有色魚の出現のピークは、前者が中水温帯、後者が高水温帯で一致していたのに対し、正常魚の出現がピークになる水温は魚種によって異なっていた。魚種ごとに変態の適切なタイミングや発育速度が存在すると考えると、それぞれの種で発育の進行が速すぎる、または遅すぎるために正常魚の出現が減少したのかもしれない。

天然魚と飼育魚の成長速度と変態異常の出現

魚類ではPannella (1971) が耳石に日周性を持った輪紋があることを報告して以来、ふ化後日数の推定等、初期生活史解明の手段として利用され、異体類でもStarry flounder *Platichthys stellatus* (Campana et al., 1984) や Dover sole *Microstomus Pacificus* (Toole et al., 1993)、ヒラメ (前田, 2002) 等で知見が集積されている。耳石微細輪紋の形成開始時期は魚種によって変異があるが、概ねふ化直後から開口・摂餌開始時までに集中するものが多い (Brothers, 1976; Tsuji and Aoyama, 1982; Tsuji and Aoyama, 1984)

マガレイは水深30m前後の水深帯で着底し、その着底サイズは10mm以下であることが示唆されている (有瀧・與世田, 1994)。本研究では、マガレイは全長およそ9mm、眼の移動とほぼ同時に着底を始めた。今回、天然海域で採集されたマガレイ稚魚 (10.7~29.4mm) から得られた全長-耳石輪紋の関係式をもとに着底開始サイズである全長9mmの輪紋数を算出すると約15本となる。マガレイの耳石微細輪紋はその形成過程について報告がなく、日周性や第一輪の形成時期については不明であるが、マガレイの第一輪形成開始を開口時と仮定すると、耳石輪紋数に開口までの日数を加算した値がふ化後日数と推定される。新潟県沿岸域におけるマガレイ生息時期の水温は10℃前後と報告されていることから (富永ら, 1991)、今回飼育した9℃の開口までの必要日数4日を加算すると、先にあげた全長9mmサイズのふ化後日数は19日であると推定される。この推定日齢は、正常魚の出現率が最も高くなる18℃や21℃区の平均着底日齢 (21~23日) に近似した (Fig. 3-9)。

内田 (1933) は、ホシガレイがごく浅い海域で変態初期に着底することを明らかにしている。今回の試験でホシガレイはステージG、全長13.5mm前後で着底した。乃一ら^{*1}は天然海域で採集された着底直後 (体長14.7mm) のホシガレイ仔魚の耳石微細輪紋を観察し、29本計数できることを報告した。ホシガレイにおける耳石微細輪紋の第一輪形成開始をマガレイ同様開

*1 乃一哲久, Subiyanto, 神原利和, 千田哲資, 九州西岸の砂浜海岸におけるホシガレイ仔魚の出現. 平成3年度日本水産学会秋期大会講演要集, P36 (1991).

口時と仮定した場合、本種の仔魚が天然海域で出現する時期の水温は8℃前後であることから(内田, 1933), 本研究の9℃区の開口までの日数(10日)を加算すると、天然海域では39日で着底していたと推定される。この推定日齢もマガレイ同様、正常魚の出現率がピークになる15℃や18℃区における着底開始ステージGの平均出現日齢の34~36日に近似した(Fig. 3-9)。

一方、マガレイおよびホシガレイを天然海域の生息水温に近い9℃で飼育した場合、着底(ステージG)までに前者でふ化後47日、後者で79日を要している。即ち、両種とも天然魚は飼育魚よりも成長・発育が著しく良好であると考えられる。このような天然魚と飼育魚の成長速度の差はマダイ(田中, 1986)やクロダイ *Acanthopagrus schlegelii*, ヘダイ *Sparus sarba*(木下, 1993), ヒラメ(前田, 2002)でも観察されており、いずれも天然魚が飼育魚を上回る。

ババガレイは、今回の試験でマガレイやホシガレイと異なり発育・成長の速度が遅くなる低水温ほど正常魚の出現頻度が高くなった。ババガレイ属は変態終了サイズが20~80mmとカレイ科魚類の中ではきわめて大きく(有瀧・田中, 2003), また *Microstomus pacificus* のように1年以上の浮遊生活を送る種もあることが知られている(Markle *et al.*, 1992; Toole *et al.*, 1993)。本研究でも着底が起こるステージFの平均全長は、22.5mmとマガレイやホシガレイに比べて著しく大きかった。また、本種は沿岸に着底するマコガレイやヌマガレイ、ホシガレイよりも長期の浮遊生活を送る可能性が飼育した仔魚の観察から示唆されている(有瀧・田中, 2003)。以上のことは、ババガレイでは着底までの日数が長いほど正常魚の出現率が増加した本研究の結果が、天然での着底時期と一致している可能性を連想させる。しかし、残念ながらババガレイの仔稚魚が天然海域ではほとんど採集されておらず、初期生活史は明らかにされていない。

本研究の結果からカレイ科魚類では、発育の促進・遅延と変態異常の発現には種ごとに一定の法則のあることが推測され、体の左右両側における有眼側化、無眼側化の決定に発育速度が関連している可能性も伺わ

れる。今後は変態後の形態が決定される発育のタイミングやそれに関わるホルモン等、変態に関連する機構と機序についても検討する必要がある。

第4章 水温を変えて飼育したカレイ科魚類における甲状腺ホルモンの動態

前章では、飼育水温によって変動する仔魚の発育速度がカレイ科魚類仔魚の左右不相称分化に大きな影響を与える可能性を示唆した。これら不相称分化は変態時に発現するが、変態は甲状腺ホルモンによって制御されていることが多様な動物群で明らかにされており、異体類ではヒラメ(Inui *et al.*, 1994)でその関係が報告されている。

本章ではホシガレイおよびマガレイを様々な水温で飼育し、変態期における甲状腺ホルモンの動態を観察するとともに正常魚や変態異常魚の出現状況との関連を検討した。

材料と方法

供試魚および試験区の設定

マガレイは1996年に日裁協能登鳥事業場において、ホシガレイは1999年に同宮古事業場において、それぞれ飼育を行った。なお、ホシガレイは前章の試験4で飼育の際にサンプルを得たものである。Table 4-1に示すようにマガレイ、ホシガレイとも9℃から21℃まで5段階の水温を設定した。また、両魚種とも天然魚からの自然産卵により受精卵を得て、ふ化した仔魚を使用した。

飼育条件

飼育の概要をTable 4-1に示した。マガレイの詳細な飼育条件(採卵からふ化までの管理、使用水槽および収容密度、仔魚に対する餌料環境、調温の手法、使用海水、通気・注水量、試験終了の基準等)は全て前章の試験2に準じた。

標本の採集および甲状腺ホルモンの測定

マガレイ、ホシガレイともに発育ステージE~I(有

Table 4-1. Outline of the rearing experiments for Pleuronectidae reared under various water temperatures in chapter IV

Species	Target temperature(°C)	Method of fertilization	Beginning of experiment	Initial density of larvae (ind. / KL)	Number of replicate
<i>Pseudopleuronectes herzensteini</i>	9, 12, 15, 18, 21	Natural spawning	18 Mar. 1996	20000	2
<i>Verasper variegatus</i>	9, 12, 15, 18, 21	Natural spawning	26 Feb. 1999	20000	2

瀧ら, 2001) で計 4~7 回おこなった。3 個体以上 (湿重量約 200~300g) をまとめて 1 サンプルとし, 3 サンプルずつを -80°C で凍結保存した。仔稚魚の魚体中の甲状腺ホルモン (チロキシン: T4 および 3,5,3'-トリヨードチロニン: T3) 濃度の測定は, Tagawa and Hirano (1989) に従った。水温による T4 および T3 の最高濃度出現時期への影響を統計的に確認するため, 各試験区の最高値をそれぞれ Tukey-Kramer の多重範囲検定法を用いて有意差 ($P < 0.05$) を検定した。

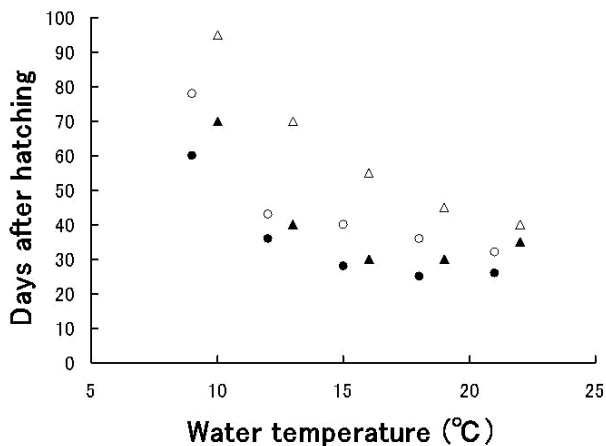
変態に要した期間 (変態期間) を各水温間で比較するため, ステージ G (変態開始) とステージ I (同終了) が最初に出現したふ化後日数を記録した。試験終了時には, 全ての魚を取り揚げ, Fig. 1-2 (ホシガレイ) および Fig. 1-6 (マガレイ) に従って正常魚, 白化魚, 両面有色魚にタイプ分けを行った。

結果

変態期間

変態期間は, 飼育水温が上昇するにつれてより早く, かつ短くなった (Fig. 4-1)。即ちマガレイでは 21°C の 23~29 日 (6 日間) から 9°C の 54~78 日 (24 日間), ホシガレイでは 21°C の 35~40 日 (15 日間) から 9°C の 70~95 日 (40 日間) となった。変態の開始には 2 種間では大きな差はなかったが, 変態終了までの期間はホシガレイで長い傾向が認められた。

Fig. 4-1. Relationship between water temperature and duration of metamorphosis brown sole *Pseudopleurinetes herzensteini* (●, ○) and spotted halibut *Verasper variegatus* (▲, △). Solid symbols (●, ▲) indicate the appearance of stage G (early phase of metamorphosis), and open symbols (○, △) indicate that of stage I (completion of metamorphosis). Developmental stages are after Aritaki *et al.* (2001).



変態後の形態

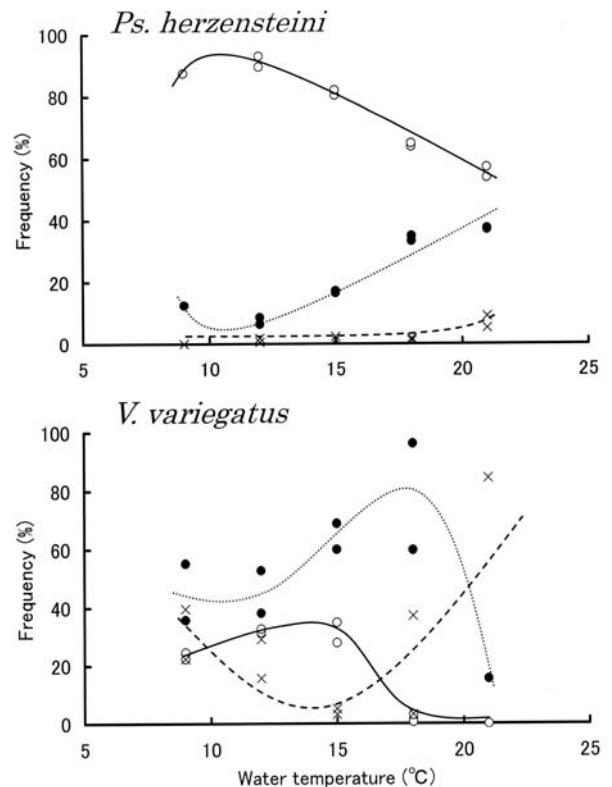
マガレイにおける正常, 白化, 両面有色各タイプの出現率は, 第三章の試験 1, 2 (Fig. 3-5) と同様の傾向を示した。白化魚は水温 12°C , 正常魚は 21°C で最高値となったが, 両面有色魚は全般に出現率が低かった (Fig. 4-2)。

ホシガレイでは正常魚が 18°C , 白化魚が 12°C , 両面有色魚が 21°C 付近で最高値を示した (Fig. 4-2)。

変態期における甲状腺ホルモンの動態

1) マガレイ 体組織中の T4 濃度は, 水温により異なった変動を示した。各水温における最高 T4 濃度は水温が高いほど早く現れる傾向があり, 水温 9°C ではふ化後 60 日, 18°C および 21°C では 27 日と 29 日であった (Fig. 4-3)。一方, 各水温における T4 濃度の最高値は, 21°C で 16.1ng/g bodyweight (BW), 18°C で 30.8ng/g BW, 15°C で 36.1ng/g BW, 12°C で 40.6ng/g BW および 9°C で 36.0ng/g BW と高水温ほど低い傾向があった。多重比較を行った結果, 12°C と 21°C の値に有意な差が認められた。

Fig. 4-2. Relationships between rearing temperatures and frequency occurrences of Type A (normal: ●), Types B and B' (pseudoalbino: ○), and Type C (ambicolorate: ×) juveniles in the laboratory-reared brown sole *Pseudopleurinetes herzensteini* and spotted halibut *Verasper variegatus* juveniles.



体組織中の T3は T4に比べて低い濃度で推移したが、T4同様最高値は高い水温ほど早い傾向が認められた (Fig. 4-3)。各水温における T3の最高値はそれぞれ、21℃で5.0 ng/g BW (ふ化後29日)、18℃で3.8 ng/g BW (24日)、15℃で5.7 ng/g BW (35日)、12℃で1.4 ng/g BW (43日)、9℃で2.0 ng/g BW (78日) であり、水温の高低と T3の最高濃度の間には明らかな関係は見いだせなかった。また、それぞれの値の間には有意な差は認められなかった。

一方、T4の濃度と発育ステージの進行にも明らかな傾向が認められ、最高値はいずれの水温においてもステージ F (変態初期)、またはステージ G (変態中期) に確認された (Fig. 4-4)。T3は T4に比べ低い濃度で推移し、最高値の出現には一定の傾向は認められなかった。

2) ホシガレイ 体組織中の T4濃度は、マガレイと同様に、水温により異なった変動を示した。各水温における T4の最高濃度は水温が高いほど早く現れる傾向があり、水温9℃ではふ化後79日、18℃および21℃では37日と39日であった (Fig. 4-5)。一方、各水温に

Fig. 4-3. Changes in thyroxine (T₄) and 3,5,3'-triiodothyronine (T₃) concentrations in tissue during metamorphic phase of brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini* reared at different temperatures. Maximum T₄ level at 12℃ was significantly higher than that at 21℃ ($P < 0.05$). Vertical lines represent mean \pm standard errors of three pooled samples.

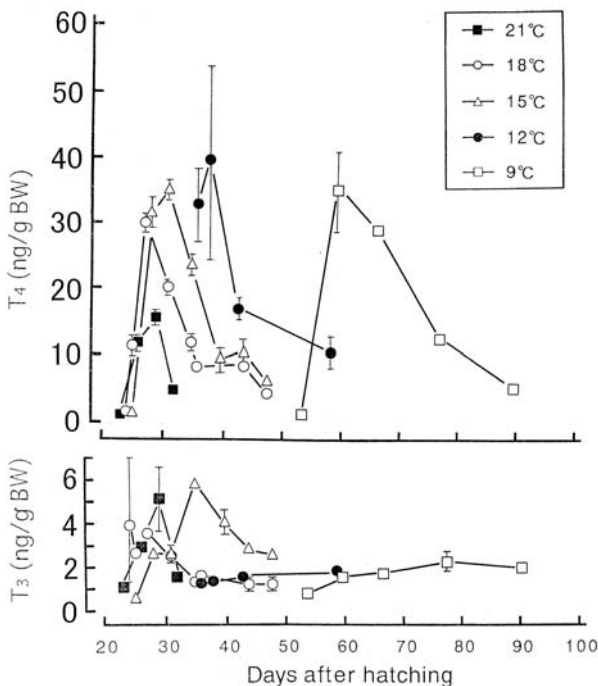


Fig. 4-4. Changes in thyroxine (T₄) and 3,5,3'-triiodothyronine (T₃) concentrations in tissue based on developmental stages in brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini* reared at different temperatures. Maximum T₄ level at 12℃ was significantly higher than that at 21℃ ($P < 0.05$). Vertical lines represent mean \pm standard errors of three pooled samples.

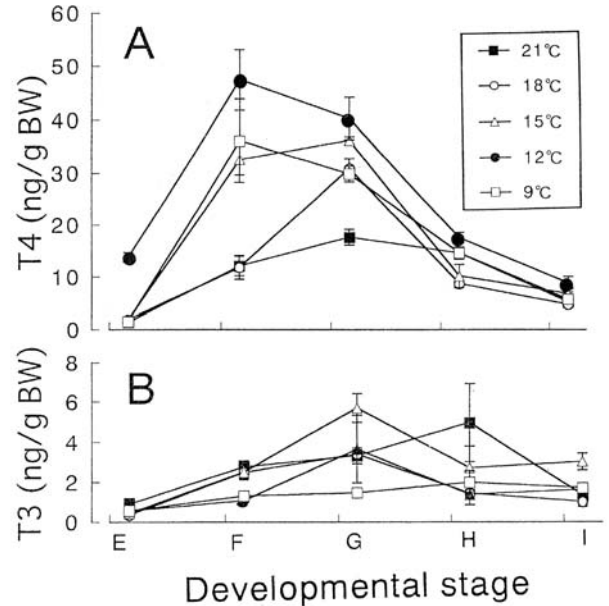


Fig. 4-5. Changes in thyroxine (T₄) and 3,5,3'-triiodothyronine (T₃) concentrations in tissue during metamorphic phase of spotted halibut *Verasper variegatus* reared at different temperatures. Maximum T₄ level at 12℃ was significantly higher than that at 21℃ ($P < 0.05$). Vertical lines represent mean \pm standard errors of three pooled samples..

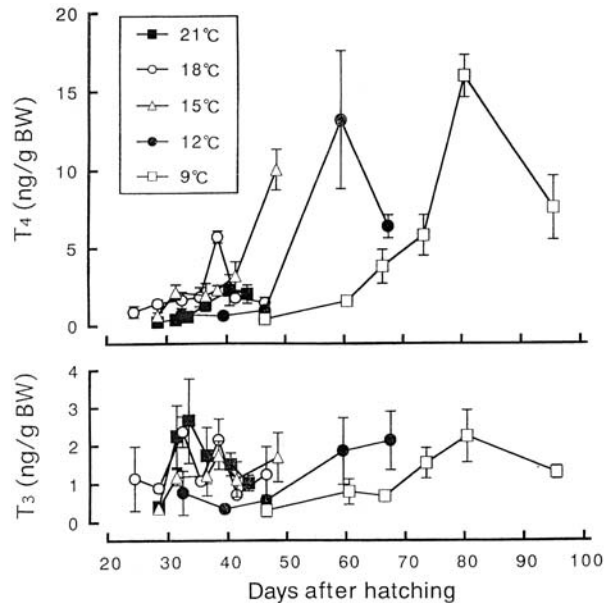
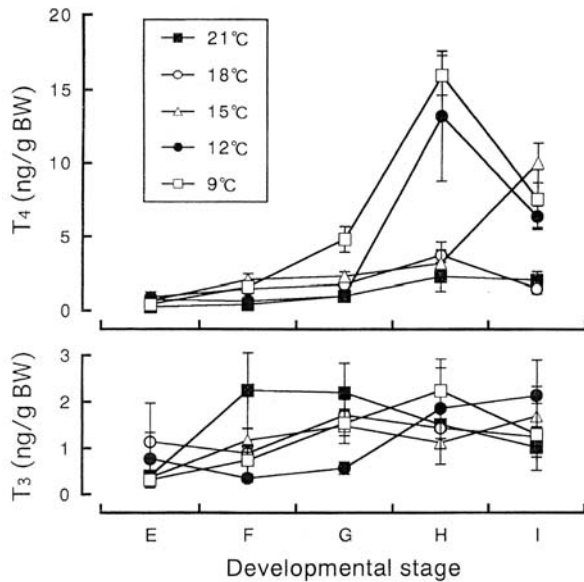


Fig. 4-6. Changes in thyroxine (T₄) and 3,5,3'-triiodothyronine (T₃) concentrations in tissue based on developmental stages in spotted halibut *Verasper variegatus* reared at different temperatures. Maximum T₄ level at 12°C was significantly higher than that at 21°C ($P < 0.05$). Vertical lines represent mean \pm standard errors of three pooled samples.



における T₄濃度の最高値は、それぞれ、21°Cで2.3ng/g BW, 18°Cで5.7ng/g BW, 15°Cで10.0ng/g BW, 12°Cで13.2ng/g BW, および9°Cで15.9ng/g BW と高い水温ほど低い傾向があった。多重比較を行った結果、9°Cと21°Cの間で有意な差が認められた。

体組織中の T₃は T₄に比べて低い濃度で推移したが、そのピークは高い水温ほど早い傾向が見られた。T₃濃度の最高値はそれぞれ、21°Cで2.7 ng/g BW (ふ化後32日), 18°Cで2.4 ng/g BW (31日), 15°Cで1.7 ng/g BW (37日), 12°Cで2.1 ng/g BW (66日), 9°Cで2.2ng/g BW (79日)となった。それぞれの値の間には有意な差は認められなかった。

マガレイと同様に、T₄濃度の増減と発育ステージには明らかな傾向が認められ、最高値は15°C (ステージ I: 変態完了期)を除いてステージ H (変態終期)に確認された (Fig. 4-6)。T₃は T₄に比べ低い濃度で推移し、その最高値の出現も一定の傾向は認められなかった。

考察

前章でも述べたが、カレイ科魚類の発育過程は高い

水温ほど促進された (Figs. 3-8, 3-9)。今回の試験においても、マガレイとホシガレイの変態期は高い水温ほど早期に認められた。また、両種とも変態期間は低い水温では長く、高い水温で短かった。

マガレイおよびホシガレイにおける体組織中の T₄は、水温が高いほど濃度の最高値は低く、また早期に出現した。このような飼育水温と発育が T₄濃度の変動に及ぼす影響はヒラメ (Tanangonan *et al.*, 1989)でも観察されており、マガレイやホシガレイと同様、T₄濃度の最高値と変態期は高い水温ほど早く見られている。しかし、設定した水温が15°Cと22°Cのみであったためか、T₄濃度の最高値には水温間で有意な差は認められていない。

甲状腺ホルモンはヒラメ (Inui and Miwa, 1985) や summer flounder (Schreiber and Specker, 1998) の変態を制御していることが報告されている。本研究では、同じ水温で飼育したにもかかわらず、マガレイがホシガレイよりも早期にかつ短い日数で変態が完了した。また、T₄の最高値はマガレイではふ化後27~60日に見られたのに対し、ホシガレイでは37~79日と全ての水温において遅かった。このように、両種において変態時期と T₄濃度の最高値の出現時期には関連が窺われ、マガレイとホシガレイにおいても甲状腺ホルモンが変態を制御している可能性が強く示唆された。

いずれの水温でも T₄濃度の最高値はマガレイでは変態初期か中期に、ホシガレイでは、変態終期もしくは完了期に認められた。また、その値はマガレイでは16~40ng/g BWであったのに対しホシガレイでは2~16ng/g BWと明らかに低かった。一方、ヒラメでは異なる水温で飼育しても T₄濃度の最高値は変態完了期に認められ、およそ15 ng/g BWとホシガレイの T₄濃度とほぼ同じであった (Tanangonan *et al.*, 1989; Tagawa *et al.*, 1990)。マガレイはカレイ科魚類の中では小さな10mm以下のサイズで、水深25~40mとやや沿岸から離れた水域において着底する (有瀧・與世田, 1994)。これに対し、ホシガレイやヒラメは波打ち際近くのごく沿岸域を着底場とし、着底サイズも15mm前後とマガレイより大きい (内田, 1933; 今林, 1980; 南, 1982)。異体類の変態は、着底場や着底サイズなど生活戦略的な要素と深く関わっており (Minami and Tanaka, 1992)、変態に深く関与する甲状腺ホルモンの動態もこれら生態的な特性と関連している可能性が高い。

カレイ科魚類における白化や両面有色等は、変態時の左右不相称化の異常、すなわち変態の異常であることを先に述べたが、変態そのものが甲状腺ホルモンによって制御されている以上、これらの現象にも同ホル

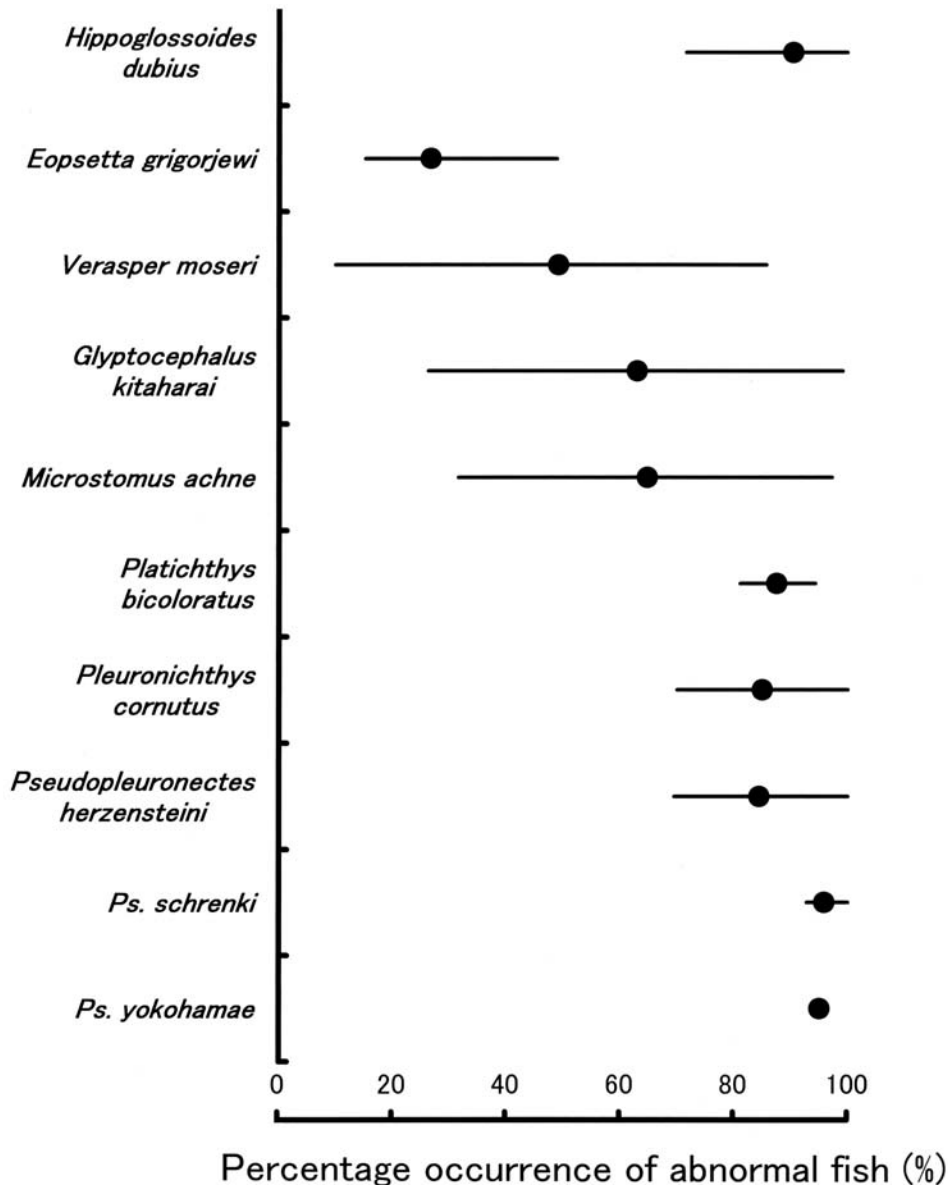
モンが関与していると予想される。本章の試験においてマガレイおよびホシガレイの T4濃度の最高値は、水温の上昇とともに早く認められ、両種の両面有色魚の出現率も高い水温で増加した。一方、マガレイとホシガレイの白化魚が多く出現した12℃では、T4濃度は他の水温よりも高い傾向を示した。本研究では、飼育魚の発育を天然魚に近似させることで、正常魚が多く出現する、即ち正常な変態が起こると推察した。今回、各水温の T3の動態は2魚種とも全体に低いレベルで推移し、水温との関係が明瞭でなかったが、T4は両種とも高水温ほど最大値が低くなる傾向が認められた。

また、組織中の T4濃度は仔魚の発育進行に伴って有意に変動したが、高水温ほど早期に認められた。甲状腺ホルモンが、飼育魚の変態後の形態の決定に関与しているとする、白化や両面有色の出現動態は、これら組織内の濃度もしくは、ピークの時期に大きく影響されている可能性が高い。

第5章 総合考察；変態異常の防除と発現の機序

これまでに本研究では、カレイ科魚類の変態異常が、変態に伴った左右不相称分化の異常であること、およ

Fig. 5. Percentage occurrence of abnormal fish in 10 species of hatchery-reared Pluronectidae. Horizontal bar represents range. (after Japan Sea-Farming Association, 1983-1990).



びその決定時期が変態直前に存在することを明らかにした。また、上記変態異常の発現が仔魚期の発育や甲状腺ホルモンの動態に深く関わり、その種に固有の発育速度と異なった速度で発育した場合に多発すると推察した。ここでは、これまでの結果を総合的にとりまとめ、カレイ科魚類における変態異常の防除法やその発現機序の一端について言及する。

カレイ科魚類における変態異常発現の防除

カレイ科魚類の変態異常に関して序章および第一章において概説したが、Fig. 5に昭和58年から平成2年に日裁協で飼育したカレイ科魚類10種における変態異常魚の出現率をまとめた(社)日本栽培漁業協会, 1983-1990)。ムシガレイとマツカワで27%および50%と比較的低い変態異常の出現率を示した以外は、いずれも50%以上であった。また図から明らかのように、80%以上のきわめて高い変態異常の出現率を示す種が半数を占めていた。このようなカレイ科魚類の変態異常は、種苗生産技術の進展を阻む大きな原因となっており、上記10種のうち平成14年度に技術開発が行われているのはマツカワのみである(社)日本栽培漁業協会, 2003)。また、現在までに全国の種苗生産機関で栽培対象種として取り上げられたカレイ科魚類は11種である(序章参照)。しかし、平成14年度には5種に減少しており(水産庁・(社)日本栽培漁業協会, 2003)、その5種でさえも変態異常の多発は今なお大きな問題として検討され続けている(北海道, 青森県, 岩手県, 宮城県, 福島県, 千葉県, 大阪府, 2003)。

本研究でマガレイ, ホシガレイ, ババガレイをそれぞれ数段階の水温で飼育した結果、水温ごとの正常魚や白化魚, 両面有色魚の出現パターンが種ごとに大きく異なることを明らかにした(Figs. 3-5~3-7)。また、著者らはマガレイにおいてアルテミアノープリウスの早期給餌と正常魚出現率の増加が連動することを確認しているが、その場合も発育・成長の促進が認められている(有瀧ら, 1996)。ヒラメでは同じ水温で飼育を行っても、疾病の発生や飼育の失敗による成長の遅延があった場合には白化魚の増加が起こることが報告されている(高橋, 1992)。以上のことは異体類における正常魚や変態異常魚の出現が水温の差異そのものではなく、水温の差異に由来した仔魚期の発育の差異に大きく影響されることを改めて示唆している。

今回、マガレイとホシガレイではある一定の速度まで発育を促進させるほど、一方ババガレイでは遅延させるほど正常魚が多く出現した。また、正常魚を出現させる発育の速度は天然海域で各魚種が示す発育速度に近似すると推察された。一方、仔魚期の発育と白化や両面有色等の変態異常発現には、魚種特有のパター

ンが存在した。すなわち両面有色魚は3魚種全てで天然魚より成長が早い場合に、白化魚はマガレイとホシガレイでは天然魚より発育が遅い場合に、ババガレイでは正常魚と両面有色魚が多く出現する中間の成長速度で、それぞれ出現のピークが認められた。マコガレイでも両面有色魚は正常魚が多く出現するよりも高い水温で、逆に白化魚は低い水温で多く出現することが明らかにされている(陸谷, 1988)。

以上のことから推察すると、両面有色魚の出現が多い場合には水温操作等により成長を抑制、逆に白化魚が多い場合には魚種により異なるが成長を抑制(ババガレイ)あるいは促進(マガレイ, マコガレイ, ホシガレイ)することにより、多くのカレイ科魚類の変態異常を防除することが可能であろう。一方、どの魚種においても正常魚の発現が多かった成長速度が天然仔魚の発育速度とよく近似した。即ち、カレイ科魚類の変態異常を防除するためには、対象種の天然での初期生態、特に変態までの期間を正確に把握し、それに準じて飼育を行うことが最も重要となろう。これまでの知見から異体類の変態サイズと変態までの期間には一定の傾向が認められる。一般に、沖合生息種ではサイズは大きく浮遊期も長い。逆に沿岸生息種ではサイズは小さく、浮遊期も相対的に短い(Minami and Tanaka, 1992)。従って、天然海域で変態までの期間が明らかにされていないカレイ科魚類を飼育する場合は、沖合種は水温等により成長を遅延することで、沿岸生息種は促進させることでそれぞれ変態異常の出現を防除できる可能性があると考えられる。

飼育した魚に見られる形態異常は、本研究で扱ったカレイ科魚類の変態異常の他にサケ *Oncorhynchus keta* やニジマス *O. mykiss*, コイ *Cyprinus carpio*, ソウギヨ *Ctenopharyngodon idellus* (竹内, 1991), アユ *Plecoglossus altivelis* (駒田, 1974; 竹内, 1991), ニシン *Clupea pallasii* (山本, 2001) マダイ (福原, 1977; 隆島, 1978; 宗清ら, 1985; 後藤, 1986), クロダイ (松岡, 2000), イシダイ *Oplegnathus fasciatus* (清水・藤田, 1985), ヒラメ (Dedi *et al.*, 1997; 福永, 1998; Haga *et al.*, 1999), マガレイ (早乙女・有瀧, 1988) などさまざまな魚種で報告されている。これらの形態異常は、A) 椎骨を含めた骨異常(駒田, 1974; Dedi *et al.*, 1997; 福原, 1977; 隆島, 1978; 清水・藤田, 1985; 早乙女・有瀧, 1988; 竹内, 1991; Haga *et al.*, 1999; 山本, 2001) と、B) 胸鰭(宗清ら, 1985) や鼻孔隔皮(後藤, 1986; 松岡, 2000), 無眼側の体色(福永, 1998; 加治・福永, 1999) 等の外部形態異常の2つに大別が可能である。骨異常は、初期餌料の栄養欠乏および過剰(竹内, 1991) や鰾の未発達(北島ら,

1977)が原因とされており、防除対策もほぼ確立している。一方外部形態の異常は、魚体に与える影響が軽微(宗清ら, 1985)であることや出現率が極めて高い(宗清ら, 1985; 岩本ら, 1998; 山崎, 1998)ため放流魚の標識として利用されている側面もあるが、防除方法や発現の機序に関しては未解決の部分が多い。しかし近年では、マダイの鼻孔隔皮欠損とヒラメの無眼側体色異常については、水温の上昇や餌料の量的な改善によって発育・成長を促進することで防除効果が確認されている(山田, 1997; 茨城県水産試験場他, 2003)。マダイは、仔魚から稚魚への移行期(変態期)に体色や体型など外部形態(Fukuhara, 1992)や消化器官(田中, 1975)、生活様式(Kinoshita and Tanaka, 1990)に大きな変化が認められ、鼻孔隔皮もこの時期に形成される。また、ヒラメの正常魚では右体側(無眼側)の幼型黒色素は変態期に消失するが、無眼側の体色異常はその消失過程が正常に進行しなかった結果である(青海, 1997)。このように考えてくると、マダイの鼻孔隔皮欠損やヒラメの無眼側体色異常も変態の異常である可能性が高い。さらに、両種とも飼育条件下では仔稚魚の発育・成長が天然魚に比較して大きく劣ることも明らかにされている(Seikai *et al.*, 1986; 田中, 1993)。すなわち、前述の発育・成長の促進によるマダイやヒラメの形態異常防除は本研究のカレイ科魚類における変態異常防除と本質的には同様の方法論と位置づけることができる。多くの魚種では飼育魚の成長は天然魚に比較して劣るため、飼育水温や餌料改善で成長を促進することにより、正常魚の出現を増加させることが可能になると推測する。今後、カレイ科魚類の変態異常だけでなく、飼育魚類の形態異常全般に関して“変態”や“発育”という観点から飼育技術を再度検討することも重要となろう。

現段階でカレイ科魚類の発育を制御する方法としては、水温の操作が最も簡便である。しかし、本研究において、マガレイやホシガレイの正常魚を多く出現させた水温の18~21℃では、両種とも生残率が明らかに低下した(Fig. 3-1)。一方、両種の仔稚魚の天然海域における生息水温は10℃以下(内田, 1933; 富永ら, 1991)であり、マガレイを水温24℃で飼育するとごく初期に全滅する。即ち、両種の正常魚出現にとっての最適飼育水温は生息限界水温に近く、飼育困難な水温でもある。

また、ババガレイでは水温が低いほど正常魚の出現率は増加したが、試みた最も低い飼育水温の9℃でも正常魚の出現率は60%しかなく、マガレイやホシガレイに比べ低かった。本種では、飼育水温をさらに下げることにより、正常率が高くなる可能性もある(Fig.

3-7)。しかし、18℃前後で培養するワムシや約25℃でふ化させるアルテミアノープリウスの活力が低下するため、仔魚の摂餌不良や死亡の原因となる(有瀧ら, 1996)ことも考慮する必要がある。

先に、マガレイ(有瀧ら, 1996)やヒラメ(茨城県水産試験場他, 2003)では給餌量や給餌方法の検討により発育・成長が促進されることを紹介したが、この他にも飼育照度の調整(有瀧; 未発表)や生物餌料のタウリン強化(朴ら, 2001)などがホシガレイやヒラメで試みられている。これらの方法でも発育は促進されるが生残率の低下は認められていない。今後は、まず水温操作以外の方法で仔魚の発育を促進する技術を開発し、次にそれを用いて変態異常の防除が可能であるかを確認する必要がある。

第二章で、マガレイおよびホシガレイでは変態直前のステージE~Fには変態後の形態が確定していることを明らかにした。このことから、これまでに述べてきた変態異常の防除対策は、ステージE~Fまでに施す必要がある。しかし本研究では、仔魚期のどの発育期が変態後の形態決定に最も重要であるかは明らかにできていない。形態異常の防除手法を効果的に実施するためにも、今後はさらに詳細な知見を収集しこの点を明かにすることが重要である。

変態異常の発現の機序と残された課題

異体類の起源は古く、およそ4500~5000万年前の地層(第三紀始新世層)から現生種とほぼ同様の形態を持つ化石が発掘されており(落合, 1966; 沖山, 1984)、本グループの特徴である左右不相称は非常に古い歴史的背景を持ち、継続されてきたことが伺える(沖山, 1984)。これら異体類の変態に関して、ヒラメ(Inui and Miwa, 1985; Tanagonan *et al.*, 1989; Yoo *et al.*, 2000a)やsummer flounder(Schreiber and Specker, 1998)、ホシガレイ(堀田ら, 2001a; 本研究)では、甲状腺ホルモンが中心的な制御を行っていることが解明された。現在、著者らはホシガレイとヌマガレイの仔魚を用いて濃度と時期を変えたT4の浸漬試験を行っており、濃度よりもT4添加のタイミングが変態後の形態に影響を与えることを明らかにしつつある(田川ら, 未発表)。ヒラメでは仔魚を異なったタイミングでT4に浸漬した実験から、ステージE~F(脊索末端の屈曲開始から完了期)でのT4処理が最も高い白化魚出現率を示すことが明らかになっている(Yoo *et al.*, 2000b)。おそらく異体類における変態異常には、それぞれの魚種が持つ種特異的な発育速度とそれに伴う甲状腺ホルモン分泌のタイミングが深く関わっていると予想される。即ち、変態異常の機構解明は正常変態そのものの機構解明に通じると考えられる。今後、変態

期における甲状腺ホルモン分泌の動態と変態完了後の形態との関わりについてさらに精査する必要がある。また、このような検討は異体類の変態を外的要因と内的要因の関わりから理解する上でも重要なアプローチとなる。

これまでカレイ科魚類の変態異常に関する一連の研究結果を整理してきた。変態異常は変態期における左右不相称分化の異常とも位置づけられるが、近年では分子生物学的手法を用いて変態期におこる異体類の左右不相称性の発現を遺伝子レベルで解析することが試みられている (Yamano *et al.*, 1994; Yamano *et al.*, 1995; Hashimoto *et al.*, 2002)。先に述べたように、変態異常は甲状腺ホルモンの動態と密接に関係する可能性が高い。甲状腺ホルモンは細胞内の受容体と結合し遺伝子発現の活性化、不活性化を制御するが、ヒラメでは受容体遺伝子の発現動態が明らかにされている (Yamano *et al.*, 1994; Yamano *et al.*, 1995; 山野, 1997)。また、ヒラメの胚発生期に生ずる左右性決定遺伝子の解析 (Hashimoto *et al.*, 2002) をもとに、変態期の左右性決定機構の検討も始められている (鈴木, 2003)。Seikai *et al.* (1993) が行ったヒラメの受精卵を用いた細胞培養実験から、変態時に有眼側に発現する稚魚型黒色素胞は甲状腺ホルモンの影響なしに出現する可能性がある。また、前述のヒラメ仔稚魚を甲状腺ホルモンに浸漬する実験では、白化魚の出現が促進された (Yoo *et al.*, 2000b)。これらの結果は、T4が有眼側化ではなく、無眼側化を誘導していることを強く示唆している。カレイ科魚類の変態では、両側有眼側化 (両面有色) あるいは無眼側化 (白化) および正常化がおこる素地のようなものが魚種によってある特定の発育速度でそれぞれ準備され、甲状腺ホルモンの分泌時期と密接に関連して発現してくると推察される。変態後の形態を発育過程における T4 と受容体の出現や連動する遺伝子発現の消長と関連づけること、さらにこれらの発現部位を詳細に解明すること等により、カレイ科魚類の形態異常や変態の発現機序の本質をより深く知ることが可能になるはずである。遺伝子レベルでの変態機構の解明は、飼育条件下で今なお多発する変態異常の防除技術を一層進展させ、カレイ科魚類を含めた異体類の栽培技術の向上に大きく寄与すると考えられる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、終始懇切なるご指導とご校閲を賜った京都大学フィールド科学教育研究センター教授 田中 克博士 (現名誉教授) に深甚なる感

謝の意を表します。また、本論文のご校閲を頂き、貴重なご意見を賜った同大学フィールド科学教育研究センター教授 山下 洋、同助教授 田川正朋両博士 (現同准教授) に厚くお礼申し上げます。

研究の端緒からご指導を賜り、研究を進めていく上で有益なご助言を頂いた独立行政法人 水産総合研究センター日本海区水産研究所部長 南 卓志博士 (現福山大学教授)、福井県立大学海洋資源生物学科教授 青海忠久博士、高知大学海洋生物教育研究センター教授 木下 泉博士、元日本栽培漁業協会常務理事 須田 明博士に衷心よりお礼申し上げます。

マツカワ飼育魚の標本を快く提供して下さった北海道立栽培漁業総合センター 萱場隆昭氏 (現地方独立行政法人 北海道立総合研究機構水産研究本部釧路水産試験場主査)、クロガシラガレイ飼育魚の標本を快く提供して下さった北海道別海漁協ニシン種苗センター 所長 加畑裕康氏に心から感謝の意を表します。ホシガレイの飼育試験では、京都大学農学研究科 堀田又治 (現 Mizuno)、和田敏裕 (現福島県水産試験場相馬支場副主任研究員) 両氏に様々なご協力を賜りました。重ねてお礼申し上げます。

長期間にわたり研究の機会と種々の便宜を与えて頂いた元日本栽培漁業協会理事長 今村弘二氏をはじめ歴代の役員の方々に深謝する。また、元独立行政法人 水産総合研究センター理事 古澤徹 (現社全国豊かな海づくり推進協会技術顧問)、今村茂生両氏には進まぬ研究のため大変ご迷惑をお掛けしたにも関わらず、終始示唆に富んだご指導、ご助言を賜った。ここに記して謝意を表したい。独立行政法人 水産総合研究センター五島栽培漁業センター場長 虫明敬一博士 (現西海区水産研究所まぐろ増養殖研究センター長)、同八重山栽培漁業センター場長 興世田兼三博士 (同業務推進部長)、同主任研究官 濱崎活幸博士 (現東京海洋大学准教授) には、当初より暖かい激励と有益なご意見を頂いた。謹んで感謝の意を表する。

本研究の実行及び取り纏めには、独立行政法人 水産総合研究センター能登島栽培漁業センター (現日本海区水産研究所能登島庁舎) 及び同宮古栽培漁業センター (現東北区水産研究所宮古庁舎) の場長をはじめ職員諸氏には絶大なる協力を頂いた。心よりお礼申し上げます。

引用文献

Amaoka K., 1964: First record of sinistrality in *Poecilopsetta plinthus* (Jordan and Starks), a Pleuronectid fish of Japan. *Bull. Misaki Mar.*

- Biolo. Inst. Kyoto Univ.*, 7, 9-17.
- 有瀧真人, 與世田兼三, 1994: 新潟県沿岸域におけるマガレイの着底場および成育場. *日水誌*, 60, 29-34.
- 有瀧真人, 1995: カレイ類の変態と形態異常. *月刊海洋*, 27, 732-739.
- 有瀧真人, 青海忠久, 小林真人, 1996: 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*, 62, 857-864.
- 有瀧真人, 鈴木重則, 渡辺研一, 2000: 飼育したマツカワ仔稚魚の形態発育と成長. *日水誌*, 66, 446-453.
- 有瀧真人, 太田健吾, 堀田又治, 田中 克, 2001: ホシガレイ飼育仔稚魚の形態発育および成長. *日水誌*, 67, 58-66.
- 有瀧真人, 田中 克, 2003: ババガレイ飼育仔稚魚の形態発育および成長. *日水誌*, 69, 602-610.
- 有山啓之, 2000: 大阪湾奥部で採捕されたマコガレイとイシガレイの色素異常個体について. *大阪府水産試験場研究報告*, 11, 49-52.
- バロン, 後藤 昇, 1989: 繁殖スタイルと初期個体発生「魚類の繁殖行動, その様式と戦略をめぐって」(後藤 昇・前川光司編) 東海大学出版, 東京, pp. 1-47.
- Bolker J. A. and Hill C. R., 2000: Pigmentation development in hatchery-reared flatfishes. *J. Fish Biolo.*, 56, 1029-1052.
- Brewster B., 1987: Eye migration and cranial development during flatfish metamorphosis: a reappraisal (Teleostei: Pleuronectiformes). *J. Fish Biolo.*, 31, 805-833.
- Brothers EB., Mathews CP., and Lasker R., 1976: Daily growth increments in otoliths from larval and adult fishes. *Fish. Bull. U. S.*, 74, 1-8.
- Bürgin T., 1986: The syncranial morphology of the bastard sole *Microchirus theophila* (Risso, 1810) (Pleuronectiformes, Soleidae). *Neth. J. Zool.*, 36, 117-161.
- Campana SE., 1984: Microstructural growth patterns in the otoliths of larval and juvenile starry flounder *Platichthys stellatus*. *Can. J. Zool.*, 62, 1507-1512.
- Chambers R. C. and Leggett W. C., 1987: Size and age at metamorphosis in marine fishes: an analysis of laboratory-reared winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) with a review of variation in other species. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44, 1936-1947.
- Chambers R. C. and Leggett W. C., 1992: Possible causes and consequences of variation in age and size at metamorphosis in flatfishes (Pleuronectiformes): an analysis at the individual, population, and species levels. *Neth. J. Sea Res.*, 29, 7-24.
- Coope J. A. and Chapleau F., 1998: Monophyly and intrarelationships of the family Pleuronectidae (Pleuronectiformes), with a revised classification. *Fish. Bull.*, 96, 686-726.
- Dawson C. E., 1962: Notes on anomalous American Heterosomata with descriptions of five new records. *Copeia*, 1, 138-146.
- Dawson C. E., 1967: Three new records of partial albinism in American Heterosomata. *Am. Fish. Soc.*, 96, 400-404.
- Dedi J., Takeuchi T., Seikai T., Watanabe T., and Hosoya K., 1997: Hypervitaminosis A during vertebral morphogenesis in larval Japanese flounder. *Fish. Sci.*, 63, 466-473.
- Dickey-Collas M., 1993: The occurrence of juvenile pigmentation abnormalities in place *Pleuronectes platessa* larvae fed on enriched and un enriched *Artemia salina* nauplii. *J. Fish Biolo.*, 42, 787-795.
- Estévez A. and Kanazawa A., 1996: Fatty acid composition of neural tissues of normally pigmented and unpigmented juveniles of Japanese flounder using rotifer and *Artemia* enriched in n-3 HUFA. *Fish. Sci.*, 62, 88-93.
- 福原 修, 1977: マダイ稚仔魚にみられた骨異常について. *水産増殖*, 25, 42-45.
- Fukuhara O., 1992. Study on the development of functional morphology and behaviour of the larvae of eight commercially valuable teleost fishes. *Contributions to the Fisheries Researches in the Japan Sea Block*, 25, 32-46.
- 福永辰廣, 1998: ヒラメ無眼側体色異常防除技術開発の現状-日裁協プロジェクトチーム試験結果-「平成10年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コース 仔稚魚期の発育シリーズ No. 12」水産庁・(社)日本栽培漁業協会, 東京.
- 福所邦彦, 難波秀博, 山本剛史, 山崎芳恵, 李 明哲, 青海忠久, 渡辺 武, 1987: ヒラメ白化防除のためのマダイ卵の効果的給餌法. *養殖水研報*, 12, 1-7.

- 福所邦彦, 1990 a: 人工種苗ヒラメの白化現象と防除法 (上). 水産の研究, **45**, 42-46.
- 福所邦彦, 1990 b: 人工種苗ヒラメの白化現象と防除法 (中). 水産の研究, **48**, 62-69.
- 福所邦彦, 1991: 人工種苗ヒラメの白化現象と防除法 (下). 水産の研究, **50**, 55-57.
- 後藤政則, 1986: 養殖マダイにみられた鼻孔の形態異常について. 栽培技研, **15**, 87-88.
- Haga Y., Takeuchi T., and Seikai T., 1999: Effect of retinoic acid on larval Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, reared on *Artemia* nauplii. *SUISANZOSHOKU*, **47**, 559-566.
- Haga Y., Takeuchi T., and Seikai T., 2002: Influence of all-trans retinoic acid on pigmentation and skeletal formation in larval Japanese flounder. *Fish. Sci.*, **68**, 560-570.
- Hamasaki K. and Morioka T., 2002: Effects of temperature on egg incubation period, and paralarval survival and growth of common octopus, *Octopus vulgaris* reared in the laboratory. *SUISANZOSHOKU*, **50**, 407-413.
- 花田勝美, 福士 堯, 1973: 種苗生産マコガレイにおける色素異常とメラニン色素. 青森県立中央病院医誌, **10**, 6-11.
- Hashimoto H., Mizuta A., Okada N., Suzuki T., Tagawa M., Tabata K., Yokoyama Y., Sakaguchi M., Tanaka M., and Toyohara H., 2002: Isolation and characterization of Japanese flounder conal line, reversed, which exhibits reversal of metamorphic left-right asymmetry. *Mech. Dev.*, **111**, 17-24.
- 北海道, 青森県, 岩手県, 宮城県, 福島県, 千葉県, 大阪府, 2003: 平成14年度資源増大技術開発事業報告書, 魚類Cグループ.
- 堀田又治, 有瀧真人, 太田健吾, 田川正朋, 田中 克, 2001a: ホシガレイ仔稚魚期における消化系の発達と変態関連ホルモンの動態. 日水誌, **67**, 40-48.
- 堀田又治, 有瀧真人, 田川正朋, 田中 克, 2001b: ホシガレイの初期生活史: 飼育実験による変態・着底過程の解明. 栽培技研, **29**, 59-72.
- Houde E. D., 1971: Developmental abnormalities of the flatfish *Acbirus lineatus* reared in the laboratory. *Fish. Bull.*, **69**, 537-544.
- 茨城県水産試験場, (財)茨城県栽培漁業協会, (財)温水養魚開発協会, 2003: 平成11~14年度ヒラメ黒化防除技術開発試験, 報告書
- 今林博道, 1980: 体長組成から見たヒラメ稚仔の成育場における着底機構の推定. 日水誌, **46**, 419-426.
- 井上政昭, 1988: 幼生飼育 イセエビ「エビ・カニ類の種苗生産」(平野礼次郎編) 恒星社厚生閣, 東京, pp.119-133.
- Inui Y. and Miwa S., 1985: Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae. *Gen. Comp. Endo.*, **60**, 450-454.
- Inui Y., Miwa S., Yamano K., and Hirano T., 1994: Hormonal control of flounder metamorphosis. in "Perspectives in comparative endocrinology" (ed. by Davey K. G., Peter, R. E., Tobe, S. S.), National Research Council of Canada, Ottawa, pp. 408-411.
- 岩本明雄, 大河内裕之, 津崎龍雄, 福永辰広, 北田修一, 1998: 魚市場の全数調査に基づく宮古湾のヒラメ種苗放流効果の推定. 日水誌, **64**, 830-840.
- 岩井 保, 1985: 魚類「水産脊椎動物学Ⅱ」, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 336.
- 香川県歴史博物館友の会博物図譜刊行会, 2001: 高松松平家所蔵 衆鱗図, 第一帖.
- 加藤史彦, 沖山宗雄, 田島迪生, 1974: 日本海産マコガレイ属2種(マコガレイおよびマガレイ)の外部形態の比較と識別. 日水研報告, **25**, 63-87.
- 河村功一, 細谷和海, 1991: 改良二重染色法による魚類透明骨格標本の作製. 養殖研報, **20**, 11-18.
- 加治俊二, 福永辰廣, 1999: ヒラメ種苗生産の現状と体色異常魚の価格等に関するアンケート結果について. 栽培技研, **27**, 67-102.
- Kendall A. W., 1984: Early life history stages of fishes and their characters. in "Ontogeny and systematics of fishes" (ed. Moser H. G., Richards W. J., Cohen D. M., Fahay M. P., Kendall A. W., Richardson: S. L.), No.1, American Society of Ichthyologists and Herpetologists Special Publication, New York, pp. 11-23.
- Kinoshita I. and Tanaka M., 1990: Differentiated spatial distribution of larvae and juveniles of the two Sparids, red and black sea bream, in Shijiki bay. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1807-1813.
- 木下 泉, 1993: 砂浜海岸砕波帯に出現するヘダイ亜科仔稚魚の生態学的研究. 高知大水研報, **13**, 21-99.
- 北島 力, 岩本 浩, 藤田矢郎, 1977: 人工採苗マダイにおける鰾の未発達と脊柱屈曲の関係. 長崎水試研報, **3**, 23-32.
- 北島 力, 林田豪介, 下崎真澄, 渡辺 武, 1985: 人

- 工採苗ヒラメの体色異常出現に対する微粒子飼料の抑制効果. 長崎水研報, 11, 29-35.
- 北島 力, 林田豪介, 安元 進, 1987: 人工採苗メイトガレイの体色異常. 長崎県水産試験場研究報告, 13, 17-23.
- 駒田各知, 1974: 変形アユの骨格系異常に関する研究. 魚病研究, 8, 127-135.
- Kyle H. M., 1921: The asymmetry, metamorphosis and origin of flat-fishes. *Phil. Trans. Roy. Soc. BCCXI*, 75-129.
- 前田経雄, 2002: 若狭湾西部海域におけるヒラメ仔稚魚の加入機構. 博士論文, 京都大学, 京都.
- 松岡正信, 2000: クロダイの鼻孔隔皮欠損症について. *SUISANZOUHOKU*, 48, 675-676.
- Markle DF., Harris PM., and Toole CL., 1992: Metamorphosis and an overview of early-life-history stages in Dover sole *Microstomus pacificus*. *Fish. Bull.*, 90, 285-301.
- 松原喜代松, 落合 明, 岩井 保, 1979: カレイ目, 「魚類学(上)」, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 353-358.
- 三木教立, 谷口朝宏, 浜川秀夫, 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, 147-155.
- 南 卓志, 1981: ササウシノシタの初期生活史. 日本水誌, 47, 857-862.
- 南 卓志, 1982: ヒラメの初期生活史. 日本水誌, 48, 1581-1588.
- Minami T. and Tanaka M., 1992: Life history cycles in flatfish from the northwestern Pacific, with particular reference to their early life histories. *Neth. J. Sea Re.* 29, 35-48.
- 宗清正廣, 傍島直樹, 船田秀之助, 1985: 胸鰭の形状によるマダイ人工魚と天然魚の識別. 栽培技研, 14, 79-84.
- 睦谷一馬, 1988: 人工飼育におけるマコガレイ仔稚魚の成長と変態について. 水産増殖, 36, 27-32.
- 長倉義智, 有瀧真人, 1990: マガレイの形態異常魚の種苗性について. 日本海ブロック試験研究集録, 19, 37-43.
- 中村弘二, 飯田 遙, 1986a: ヒラメの白化とリボフラビン含量との相関について. 日本水誌, 52, 275-279.
- Nakamura K., Iida H. and Nakano H., 1986b: Riboflavin in the skin of albinic flatfish *Liopsetta obscura*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 52, 2207.
- 中西 孝, 1988: 幼生飼育 タラバガニ, 「エビ・カニ類の種苗生産」(平野礼次郎編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 134-145.
- Næss T. and Lie Ø., 1998: A sensitive period during first feeding for the determination of pigmentation pattern in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus L.*, juveniles: the role of diet. *Aquaculture research*, 29, 925-934.
- Norman JR., 1934: Albinism, Ambicoloration and Reversal: A systematic monograph of the flatfishes (HETEROSOMATA). The trustees of the British Museum, London, pp. 22-29.
- 置栖孟, 遊佐多津雄, 1979: 成長に伴う歯数変化によるマガレイ *Limanda yokohamae* (Günther) とマガレイ *L. herzensteini* Jordan et Snyder の識別について. 東北水研研究報告, 40, 27-36.
- 沖山宗雄, 富 和一, 1970: 側面逆位で両面有色のアカガレイ. 魚類学雑誌, 17, 84-85.
- 沖山宗雄, 1974: ヒラメの初期生活史に関する研究 - II. 稚魚期の形態および近縁種との比較. 日本海区水産研究所報告, 5, 9-17.
- 沖山宗雄, 1984: 稚魚分類学入門⑩カレイ型変態. 海洋と生物, 31, 89-96.
- 落合 明, 1966: 日本産シタビラメ魚類の形態ならびに生態に関する研究. 京都大学みさき臨海研究所, 3, 1-95.
- Pannella G., 1971: Fish otolith: Daily growth layers and periodical patterns. *Science*, 173, 1124-1127.
- Roberts R. j., Young H., and Milne J. A., 1971: Studies of skin of plaice (*Pleuronectes platessa L.*). *J. Fish Biolo.*, 4, 87-98.
- Sakamoto K., 1984: Interrelationships of the family Pleuronectidae (Pisces: Pleuronectiformes). *Memo. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 31, 95-215.
- 朴 光植, 竹内俊郎, 青海忠久, 横山雅仁, 2001: 飼料中のタウリンがヒラメ稚魚の成長および魚体内のタウリン濃度におよぼす影響. 日本水誌, 67, 238-243.
- 早乙女浩一, 有瀧真人, 1988: マガレイ人工種苗の体色異常と形態異常. 栽培技研, 17, 9-17.
- Schreiber AM and Specker JL., 1998: Metamorphosis in the summer flounder (*Paralichthys dentatus*): Stage-specific developmental response to altered thyroid status. *Gen. Comp. Endo.*, 111, 156-166.
- 青海忠久, 1979a: 人工採苗ヒラメの飼育条件と体色異常個体の出現頻度. 長崎水研報, 5, 9-17.
- 青海忠久, 1979b: 人工採苗ヒラメの体色異常に伴う脊椎骨および鱗の異常. 長崎水研報, 5, 19-25.
- 青海忠久, 1980: 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. 魚類学雑誌, **27**, 249-255.
- 青海忠久, 篠田正俊, 1981: アルテミア給餌期間を異にした人工採苗ヒラメの体色異常出現率の変異. 京都海洋センター研究報告, **5**, 29-37.
- Seikai T., 1985 a: influence of feeding periods of Brazilian *Artemia* during larval development of hatchery-reared flounder *Paralichthys olivaceus* on the appearance of albinism. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 521-527.
- Seikai T., 1985 b: Reduction in occurrence frequency of albinism in juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* hatchery-reared on wild zooplankton. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 1261-1267.
- 青海忠久, 1985c: 人工採苗マコガレイの体色異常の出現に及ぼす飼育密度および水槽の色の影響. 水産増殖, **33**, 119-128.
- Seikai T., Tanangonan J. B., and Tanaka M., 1986: Temperature influence on larval growth and metamorphosis of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in the laboratory. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **52**, 977-982.
- Seikai T., Watanabe T., and Shimozaki M., 1987 a: Influence of three geographically different strains of *Artemia* nauplii on occurrence of albinism in hatchery-reared flounder *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 195-200.
- Seikai T., Matsumoto J., Shimozaki M., Oikawa A., and Akiyama T., 1987 b: 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.* **1**, 143-151.
- Seikai T., Shimozaki M., and Watanabe T., 1987 c: Estimation of larval stage determining the appearance of albinism in hatchery-reared juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 1107-1114.
- 青海忠久, 1990: 異体類人工種苗の体色異常の発現機構に関する研究. 健苗育成技術開発成果の概要 平成元年度. 水産庁研究部研究課, 東京, p. 8.
- 青海忠久, 1991: 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, **39**, 173-180.
- Seikai T., 1992: Process of pigment cell differentiation in skin on the left and right sides of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, during metamorphosis. *Jap. J. Ichthyol.*, **39**, 85-92.
- Seikai T., Hirose E., and Matusmoto J., 1993: Dual appearances of pigment cells from in vitro cultured embryonic cells of Japanese flounder: an implication for a differentiation-associated clock. *Pigment Cell Res.*, **6**, 423-431.
- 青海忠久, 1997: 体色異常発現機構, 「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, pp. 63-73.
- (社)日本栽培漁業協会, 1983: 日本栽培漁業協会事業年報・昭和58年度. (社)日本栽培漁業協会, 東京.
- (社)日本栽培漁業協会, 1984: 日本栽培漁業協会事業年報・昭和59年度. (社)日本栽培漁業協会, 東京.
- (社)日本栽培漁業協会, 1985: 日本栽培漁業協会事業年報・昭和60年度. (社)日本栽培漁業協会, 東京.
- (社)日本栽培漁業協会, 1986: 日本栽培漁業協会事業年報・昭和61年度. (社)日本栽培漁業協会, 東京.
- (社)日本栽培漁業協会, 1987: 日本栽培漁業協会事業年報・昭和62年度. (社)日本栽培漁業協会, 東京.
- (社)日本栽培漁業協会, 1988: 日本栽培漁業協会事業年報・昭和63年度. (社)日本栽培漁業協会, 東京.
- (社)日本栽培漁業協会, 1989: 日本栽培漁業協会事業年報・平成元年度. (社)日本栽培漁業協会, 東京.
- (社)日本栽培漁業協会, 1990: 日本栽培漁業協会事業年報・平成2年度. (社)日本栽培漁業協会, 東京.
- (社)日本栽培漁業協会, 2003: 日本栽培漁業協会事業年報・平成15年度. (社)日本栽培漁業協会, 東京.
- 清水弘文, 藤田矢郎, 1985: 人工採苗インダイの骨格異常. 水産増殖, **33**, 149-156.
- 首藤宏幸, 池本麗子, 加藤史彦, 1988: 志々湾におけるヒラメ放流種苗の減耗要因. マリーナランチング計画, ヒラメ・カレイプロGRESSレポート, **3**, 167-176.
- 杉山元彦, 中野 広, 矢野 豊, 福田雅明, 村上直人, 1985: 異体類の健苗育成に関する研究-I. 白化等の異常個体出現率におよぼす注水量の影響について. 北水研報告, **50**, 63-69.
- 水産庁・(社)日本栽培漁業協会, 2003: 平成13年度栽培漁業種苗生産, 入手・放流実績(全国). (社)日本栽培漁業協会, 東京, pp. 105.
- 鈴木 徹, 2003: 遺伝子の発現解析による形質の解明～種苗生産技術への応用～「平成14年度栽培漁業技術中央研修会テキスト集」. (社)日本栽培漁業協会, 東京.
- Tagawa M. and Hirano T., 1989: Changes in tissue

- and blood concentrations of thyroid hormones in developing chum salmon. *Gen. Comp. Endo.*, **76**, 437-443.
- Tagawa M., Miwa S., and Inui Y., 1990: Changes in thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis of flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Zool. Sci.*, **7**, 93-96.
- 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, 体色異常防除試験結果報告(1986~1989年). (社)日本栽培漁業協会, 東京, pp. 58.
- 隆島史夫, 1978: 人工採苗マダいの椎骨形成異常について. 日水誌, **44**, 435-443.
- 竹内俊郎, 1991: 魚類における栄養素の欠乏症と要求量, 「中央研修会テキスト, 仔稚魚期の発達シリーズ」. (社)日本栽培漁業協会, 東京.
- Tanagonan J.B., Tagawa M., and Tanaka M., 1989: Changes in tissue thyroxine level of metamorphosing Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* reared at different temperatures. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 485-490.
- 田中 克, 1975: 消化器官, 「稚魚の摂餌と発達」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 7-23.
- 田中 克, 1986: 稚仔魚の生態, 「マダいの資源培養技術」(田中克・松宮義晴編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 59-74.
- 田中 克, 1993: 飼育魚と天然魚の比較, 「放流魚の健苗性と育成技術」(北島力編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 19-30.
- 田中 克, 1997: 変態の生態的意義, 「ヒラメの生物学と資源培養」(南 孝志・田中 克編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 52-62.
- 富永 修, 梨田一也, 前田辰昭, 高橋豊実, 加藤和範. 1991: 新潟県北部沿岸域におけるマガレイ成魚群の生活周期と分布. 日水誌, **57**, 2023-2031.
- Toole CL., Markle DF., and Harris PM., 1993: Relationships between otolith microstructure, microchemistry, and early life history events in Dover sole, *Microstomus pacificus*. *Fish. Bull. U.S.*, **91**, 732-753.
- Tsuji S. and Aoyama T., 1982: Daily growth increments observed in otoliths of the larvae of Japanese red sea bream *Pagrus major*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 1559-1562.
- Tsuji S. and Aoyama T., 1984: Daily growth increments in otoliths of Japanese anchovy larvae *Engraulis japonica*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 1105-1108.
- 内田恵太郎, 1933: 本邦産異体類の変態期前後II. ホシガレイ. 動雑, **5**, 268-277.
- 内田恵太郎, 1963. 魚類の変態, 「脊椎動物発生学」(久米又三編), 培風社, 東京, pp. 115-122.
- Veen J. F. De., 1969: Abnormal pigmentation as possible tool in the study of the populations of the plaice (*Plurionectes platessa L.*). *J. Cons. Int. Explor. Mer.*, **32**, 344-384.
- 山田作太郎, 北田修一, 1997: 「生物資源統計学」, 成山堂書店, 東京, pp. 119-121.
- 山田徹生, 1997: 種苗生産技術の開発・マダイ. 平成7年度日本栽培漁業協会事業年報. 128-129.
- 山本義久, 2001: 種苗生産-形態異常, 「ニシンの種苗生産技術, 栽培漁業シリーズ No. 7」, (社)日本栽培漁業協会, 東京, pp. 52-56.
- Yamano K., Arak K., Sekikawa K., and Inui Y., 1994: Cloning of thyroid hormone receptor genes expressed in metamorphosing flounder. *Dev. Gen.*, **15**, 378-382.
- Yamano K. and Inui Y., 1995: cDNA cloning of thyroid hormone receptor β for the Japanese flounder. *Gen. Comp. Endo.*, **99**, 197-203.
- 山野恵祐, 1997: 変態機構, 「ヒラメの生物学と資源培養」(南 孝志・田中 克編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 74-82.
- 山崎明人, 1998: マダイにおける胸鰭変形および鼻孔隔皮欠損による人工種苗放流魚と天然魚識別の有効性. 栽培技研, **26**, 61-66.
- 安永義暢, 1972: ヒラメ稚仔消化器官の発達について. 東海水研研究報告, **69**, 75-89.
- 吉里勝利, 1990: 変態の生物学, 「変態の細胞生物学」, 東京大学出版, 東京, pp. 1-11.
- Yoo J. H., Takeuchi T., and Seikai T., 2000a: Sensitivity of the metamorphic events and morphogenesis of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* during larval development to thyroxine. *Fis. Sci.* **66**, 846-850.
- Yoo J. H., Takeuchi T., Tagawa M., and Seikai T., 2000b: Effect of thyroid hormones on stage-specific pigmentation of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Zool. Sci.*, **17**, 1101-1106.
- Youson J. F., 1988: First metamorphosis. in "Fish physiology" (ed. by Hoar W. S. and Randall D. J.), Vol. 11B, Academic Press, New York, pp. 135-196.