

ヒラメ(Paralichthys olivaceus)稚魚の両体側体色発現に及ぼすチオウレアの影響について

誌名	養殖研究所研究報告 = Bulletin of National Research Institute of Aquaculture
ISSN	03895858
著者	杉山, 元彦 矢野, 豊
巻/号	16号
掲載ページ	p. 109-112
発行年月	1989年11月

ヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) 稚魚の両体側体色発現に及ぼす
チオウレアの影響について

杉山 元彦・矢野 豊

(1989年9月5日受理)

Effect of Thiourea on the Abnormal Pigmentation
in Flounder (*Paralichthys olivaceus*) Larvae

Motohiko Sugiyama*¹⁾ and Yutaka Yano*²⁾

This paper deals with the effect of thiourea, $SC(NH_2)_2$, on the pigmentation of flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae during metamorphosis. Treatment with 30 ppm thiourea increased the incidence of both the fish with albinism of eye-side trunk and appearance of those with abnormal heavy pigmentation of non eye-side trunk. The phenomena may be caused by the inhibiting effects of thiourea on the tyrosinase activity and/or the thyroid function.

Key words: flounder · pigmentation · thiourea

人工的に生産したヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) 等の異体類の種苗には、有眼側体表の色素が正常に発現しない、いわゆる白化個体のほか、無眼側の体表に着色する裏面着色個体が高率で含まれることが多い。白化個体出現の原因については、これまでに多くの研究があり、餌料の栄養的な欠陥説 (例えば、三木ら 1988) が有力視されている。また、裏面着色現象については長波長の紫外線をイシガレイ (*Kareius bicolatus*) の稚魚に照射することにより着色個体の出現率が增加すること (松本・青海 1986) や、ヒラメ仔魚が孵化直後のマダイ仔魚を捕食することにより裏面着色個体出現率の低下が見られる*³⁾ ことなどが知られている。

しかし、正常な体色発現を阻害する物質が飼育水中の種々の生物により生産され、その物質の水槽水中での蓄積が、変態や体色に異常をきたした個体出現の一因となっている可能性も残されている (杉山ら 1985)。

そこで今回、著者らは金魚の正常な体色発現を阻害することが知られているチオウレア ($SC(NH_2)_2$) (本間 1957) を用いて、この阻害物質がヒラメ稚魚の体色発現にどのような影響を与えるかを調べた。

実験材料として(株)日本栽培漁業協会宮古事業場で採卵した2ロットのヒラメ卵から孵化した仔魚を用いた。それぞれのロットごとに30lのパンライト水槽(飼育水量、15l)を3個用意し、その一つには、通常のヒラメ種苗生産現場の注水率に近い3l/hrの割合でろ過海水を注水した(S実

*¹⁾ 養殖研究所 (National Research Institute of Aquaculture, Nansei, Mie 516-01, Japan)

*²⁾ 北海道区水産研究所 (Hokkaido Regional Fisheries Research Laboratory, Kushiro, Hokkaido 085, Japan)

*³⁾ 福所邦彦・山崎圭只・岡内正典・青海忠久 (1989) ヒラメ無眼側着色防除のためのマダイ卵給餌効果. 平成元年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p. 48.

験区)。また、もう一つの水槽にはろ過海水を 3 l/hr の割合で注水するとともに、仔魚を収容してから大部分の個体が着底したと認められるまでの33日間、チオウレアを飼育水中の濃度が 30 ppm となるように定量ポンプを用いて添加した (T実験区)。残りの水槽には 15 l/hr の割合でろ過海水を注水した (H実験区)。これらの水槽に孵化後11日目前後の仔魚を500尾ずつ収容した。なお、飼育水温はいずれの水槽も $17 \pm 1^\circ\text{C}$ に設定した。また、餌料として孵化後2日目前後からいわゆる海産クロレラ (*Nannochloropsis* sp.) で培養したワムシを与え、18日目頃から天津産アルテミアの幼生を併用した。

実験開始後、53日目に生残した全個体を取りあげ、水槽毎に体長 (SL, mm) を測定するとともに、有眼側、及び無限側体表の色素発現状況を発現タイプ別に調べた。なお、有眼側のタイプ分けは水産庁の健苗育成開発事業で採用されている白化個体類別基準を一部改変したもの (杉山ら 1985) に準じて行った。タイプ1は正常個体、タイプ9は目やヒレを除き体表にはほとんど着色が見られない重度の白化個体である。また、無限側 (裏面着色) については以下の4タイプに類別した。A: 無限側体表に色素胞がまばらに見られる程度で肉眼的な着色は認められない。B: Aに比べて色素胞の密度がやや高い。C: ヒレ基部に色素胞密度が高く肉眼的にも着色が認められる部位がある。D: ヒレ基部だけでなく体幹部にも着色が認められる。

実験終了時点でのヒラメ稚魚の各実験区の平均生残率はS実験区の17.8%に比べて、T実験区では16.3%とやや低く、H実験区では18.9%とわずかに高かった。また、同時点での平均体長はH実験区では23 mm であり、他の実験区に比べて3 mm 程度大きかった。

Fig. 1 に各実験区における有眼側体表のタイプ別色素異常個体の出現率を2ロットの平均値で示した。正常個体 (タイプ1) とごく軽度の白化個体 (タイプ4-1) の合計値は注水率の高いH実験区では70%であったのに対し、種苗生産現場で通常行われている注水率のS実験区では18%と低く、さらに、チオウレアを添加したT実験区では9%にすぎなかった。

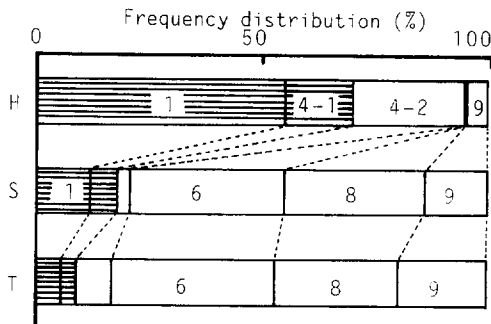


Fig. 1 Effects of thiourea and rate of water supply on the frequency of albinism of the eye-side trunk of flounder.

Numbers from 1~9 represent graded types of albinism (type 1; normal→type 9; almost total albinism).

H: no treatment; water supply, 15 l/hr.

S: no treatment; water supply, 3 l/hr.

T: thiourea (30 ppm); water supply, 3 l/hr.

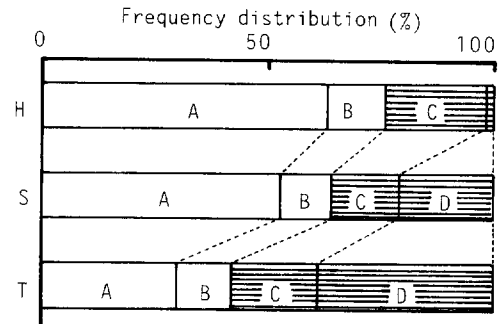


Fig. 2 Effects of thiourea and rate of water supply on the frequency of abnormal pigmentation of the non eye-side trunk of flounder.

Letters from A~D represent graded types of pigmentation (type A; normal→type D; pigmented heavily). Other letters are the same with Fig. 1.

また、Fig. 2 に示したように肉眼的にも無眼側体表に着色したと認められるタイプCとタイプDの合計出現率は2ロットの平均でH実験区が25%、S実験区が37%、T実験区は60%であった。

さらに、個体ごとに両体側の体色発現タイプをみると、有眼側がタイプ1でかつ無眼側がタイプAという両体側とも正常な個体の出現率は、H実験区が33%、S実験区が6%、T実験区は2%であり、逆にタイプ9でかつタイプDの重度の体色異常個体の出現率はH実験区が0.5%、S実験区が4%、T実験区は10%であった。

以上の結果は、飼育水中に溶存するチオウレアがヒラメ稚魚の有眼側の体色発現を阻害するだけでなく、逆に無眼側の着色を促進し、また、注水率を大きくすることによってこれらの異常を低減しうることを示しているものと考えられる。

チオウレアの体色発現に対する作用機序は不明な部分も多いが、現在のところ、その主たるものとしては次の二つが考えられる。

まず、ヒラメの主要な色素であるメラニンの合成酵素（チロシナーゼ）の活性阻害効果（富田・清寺 1982）である。一般にメラニンを合成するのはメラノフォアと呼ばれる色素胞で、この色素胞はメラノプラストと呼ばれる細胞から分化する。また、メラノプラストはチロシナーゼ合成能を獲得することにより不可逆的にメラノフォアに分化すると考えられている（松本 1982）。一方、チロシナーゼ活性阻害物質のひとつであるフェニルチオウレア（ $C_6H_5NHCSNH_2$ ）溶液中でメダカ（*Oryzias latipes*）の胚を培養すると本来発現してくるはずのチロシナーゼ活性がまったく見られないことも知られている（Tomita and Hishida 1961）。このことは色素胞が形成される時点で阻害物質が作用すると、チロシナーゼの合成能も抑制されることを示しているものと思われる。これらのことから、メラノプラストがチロシナーゼ合成を開始する段階でチオウレア等の阻害物質が作用すると、チロシナーゼの合成能を獲得できず、ひいてはメラニン合成能を持つメラノフォアの形成も抑制されることが考えられる。一方、著者らは300 ppmのチオウレア溶液中で孵化後70日前後のヒラメ稚魚を2週間飼育した際、着色部位に多少の退色が認められたものの、通常海水に戻せば体色が回復することを観察している（未発表）。このことは色素生産機能をすでに獲得した色素胞はチオウレアの影響を受けるとチロシナーゼ活性が低下し、メラニン合成能は減退するものの、チロシナーゼ合成能までは失わないことを示しているものと考えられる。

二つ目は甲状腺機能の阻害効果（安増・南山 1977）である。仔魚期のほとんどのヒラメには幼体型と呼ばれる細胞突起をもつ大型の色素胞が両体側に分布している。この幼体型の色素胞は正常個体の場合、変態期に両体側とも崩壊し、有眼側ではこれに並行して成体型の色素胞が増加する（松本・青海 1986）が、この現象もまた変態現象のひとつと考えられる。脊椎動物の変態は甲状腺ホルモンによって促進され（Ganong 1984）、ヒラメの場合でも同様とされている（Inui and Miwa 1985）。したがって、チオウレアで甲状腺機能が抑制されると上記の色素胞の変遷は抑制されることになる。

ヒラメの場合、成体型の色素胞の分化が始まるのはマダイ卵給餌実験の結果（福所ら 1987）等から孵化後20日以降と考えられる。したがって、今回の実験では成体型の色素胞が形成される以前に、飼育水中にチオウレアを添加したため、甲状腺の機能が抑制され、有眼側体表ではメラニン合成能をもつ色素胞の形成に対するチオウレアの抑制効果も加わって、変態時におこるはずの成体型メラノフォアの形成あるいは増加が抑えられた結果、いわゆる白化が起こりやすくなり、一方、無眼側ではすでにメラニン合成能を獲得している幼体型色素胞が崩壊しないまま変態後まで残り、このことが裏面着色個体の増加につながったのではないかと推察される。

一方、注水率の低い水槽でクロガシラガレイ (*Limanda schrenki*) の仔稚魚を飼育すると逆位個体が高率で出現することから、飼育水中に仔稚魚の正常な変態を阻害する物質が蓄積する可能性も指摘されており (杉山ら 1985)、また、注水率を高くしたH実験区に比べてS実験区では白化個体や裏面着色個体の出現率が高かったことから、種苗生産現場で通常行われている程度の注水率では水槽水中にヒラメ仔魚の体色発現に対しチオウレアと同様の作用をもつ何らかの物質が蓄積しているものと推察される。

しかし、甲状腺機能抑制を引き起こす原因としては他にも多々あると考えられ、また、変態後、ヒラメ稚魚の成長にともなって、有眼側のみならず無眼側の幼体型の色素胞も成体型に置き換えられるとの報告 (青森県水産増殖センター・青森県水産試験場 1984) もあり、変態後の色素胞形成も含めて、ヒラメ体表の色素胞の分化機構に関してはさらに詳細に究明する必要がある。

本実験を実施するにあたり、材料の提供等、種々のご便宜を賜った(株)日本栽培漁業協会宮古事業場、および同厚岸事業場の各位に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 青森県水産増殖センター・青森県水産試験場 1984. 無眼側躯体部における色素発現. 昭和58年度放流技術開発事業報告書 (ヒラメ班) (岩手県栽培漁業センターほか, 編) pp. 6-12.
- 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. 養殖研報 12, 1-7.
- Ganong, W. F. 1984. 甲状腺. 医科生理学展望 (松田幸次郎ほか, 訳) pp. 283-293, 丸善, 東京.
- 本間義治 1975. 硬骨魚類における甲状腺の役割に関する二・三の問題. 佐渡博物学会誌 1, 67-70.
- Inui, Y. and S. Miwa 1985. Thyroid hormon induces metamorphosis of flounder larvae. Gen. Comp. Endocrinol. 60 (3), 450-454.
- 松本二郎 1982. 色素細胞の腫瘍—その生物学的側面. 色素細胞—この特異な集団 (及川 淳・井出宏之, 編) pp. 131-154, 講談社, 東京.
- 松本二郎・青海忠久 1986. ヒラメ・カレイの養殖と色素異常. 遺伝 40(6), 41-59.
- 三木教立・谷口朝宏・浜川秀夫 1988. ヒラメの白化出現に及ぼす脂溶性ビタミン類投与ワムシの効果 (予報). 水産増殖 36(2), 91-96.
- 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—1. 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.
- Tomita, H. and T. Hishida 1961. On the phenoloxidase of embryonic and larval stages of the medaka (*Oryzias latipes*). Embryogia(Nagoya) 5, 423-439.
- 富田 靖・清寺 真 1982. モノフェノールモノオキシゲナーゼ. 臨床酵素ハンドブック (馬場茂明ほか, 編) pp. 652-655, 講談社, 東京.
- 安増郁夫・南山 栄 1977. 両生類の変態. 変態 (日本動物学会, 編) pp. 177-222, 学会出版センター, 東京.